

수산물 원산지 식별기술 개발

Development of Origin and Species Identification Techniques for Fishery Products

2010. 7

한국해양연구원

농림수산식품부

BS
PM
55
32
0
22
04
3

수산물 원산지 식별기술 개발

2
0
1
0
·
7

한국농림수산식품부

제 출 문

농림수산물기술기획평가원장 귀하

본 보고서를 농림수산물기술기획평가원 2007년 ~ 2009년도 수산특정연구개발사업인 “수산물 원산지 식별기술 개발 (과제책임자: 이윤호 박사)”에 대한 최종 보고서로 제출합니다.

2010. 7.

한국해양연구원 원장 강정극

주관연구기관: 한국해양연구원

위탁연구기관: 한양대학교, (주)지노책

주관연구책임자: 이 윤 호

참여 연구원

[한국해양연구원] 김충곤, 정다금, Kazi Ahsan Habib, 명정구, 김민석,
김성, 이강현, 김고은, 이유철, 강미혜, 오지나

[한양대학교] 서혜명, 김우리, 차영길

[(주)지노책] 황승용, 정진욱, 정인혁, 김지훈, 김예림

[국립수산물품질검사원] 황창남

[국립수산물과학원] 안혜숙, 안두해, 김영혜

목 차

목차	i
그림 목차	iii
표 목차	vi
요 약 문	ix
제 1 장 서 론	1
제 1 절 연구개발의 필요성	3
1. 연구의 경제·사회 기술적 필요성	3
제 2 절 연구개발 목표 및 내용	6
1. 연구개발의 목표	6
2. 연차별 연구개발 세부목표 및 내용	6
3. 연구 추진계획 및 수행 방법	7
제 2 장 국내외 기술개발 현황	11
제 1 절 국내 연구동향	13
제 2 절 해외 연구동향	14
제 3 절 현재까지의 연구개발 현황	16
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	17
제 1 절 참돔, 갈치, 오징어류의 형태 및 종판별 염기서열 분석	19
1. 서론	19
2. 재료 및 방법	20
3. 결과 및 토의	35
제 2 절 갈치, 오징어류 종판별 DNA칩 제작 및 평가	97
1. 서론	97
2. 재료 및 방법	97
3. 결과 및 토의	106

제 3 절 참돔 원산지 식별을 위한 단백질 마커 개발	123
1. 서론	123
2. 재료 및 방법	123
3. 결과 및 토의	125
제 4 절 참돔 원산지 식별을 위한 마이크로새틀라이트 마커 개발	133
1. 서론	133
2. 재료 및 방법	133
3. 결과 및 토의	135
제 5 절 시중 유통 수산물의 종과 원산지 표기 진위 판별 예	139
1. 참돔회의 종 표기 진위 판별	139
2. 홍어 수산물의 종과 원산지 표기 진위 판별	140
3. 고래 고기 수산물의 종 표기 진위 판별	142
제 6 절 수입수산물 종판별과 원산지 구분제도 정책방향 제시	144
1. 서론	144
2. 시행 중인 수산물 원산지 표시 정책	144
3. 원산지 표시 위반 사례와 문제점	146
4. 원산지 표시제 문제점의 해결방안	150
제 4 장 연구개발 목표 달성도 및 대외기여도	153
제 1 절 연구개발 목표의 달성도	155
제 2 절 관련 분야 기술발전의 기여도	156
제 5 장 연구개발 결과의 활용계획	157
제 6 장 참고문헌	161

그림 목 차

Fig. 1. 한국산 참돔 시료 사진	21
Fig. 2. 일본산 참돔 시료 사진	22
Fig. 3. 중국산 참돔 시료 사진	23
Fig. 4. 제주도산 갈치 시료 사진	24
Fig. 5. 거제도산 낚시갈치 시료 사진	24
Fig. 6. 군산산 낚시갈치, 멍갈치 시료 사진	25
Fig. 7. 돌산도산 갈치 시료 사진	25
Fig. 8. 거문도산 갈치 시료 사진	26
Fig. 9. 일본산 갈치 시료 사진	26
Fig. 10. 중국산 갈치 시료 사진	27
Fig. 11. 인도산 갈치 시료 사진	27
Fig. 12. 인도네시아산 갈치 시료 사진	28
Fig. 13. 초콜릿 오징어 시료 사진	29
Fig. 14. 일반 오징어 시료 사진	29
Fig. 15. 남대서양산 오징어 시료 사진	30
Fig. 16. 조미 오징어 시료 사진	30
Fig. 17. 라면스프 내 오징어 건더기 시료 사진	31
Fig. 18. 미토콘드리아 내 유전자 위치 정보	33
Fig. 19. 염기서열 결정 및 비교 분석 도구	35
Fig. 20. COI 유전자 염기서열에 기반한 갈치의 분자계통도	76
Fig. 21. COI 유전자 염기서열에 기반한 오징어류의 분자계통도	95
Fig. 22. 라면스프 내 오징어 건더기의 COI 유전자 기반 원산지 식별 결과: NCBI 데이터베이스 검색 분석	96
Fig. 23. 분자마커를 포함한 해양생물종 정보 데이터베이스 KOBIS	96
Fig. 24. DNA칩 제작 및 실험 과정	99
Fig. 25. 분자계통 분석 및 종 특이적 프로브의 선별	100
Fig. 26. 갈치 COI 유전자 증폭 결과	101
Fig. 27. 오징어 COI 유전자 증폭 결과	102

Fig. 28. 오징어-갈치 DNA칩 구성도 및 프로브 위치	104
Fig. 29. DNA칩 기반 군산산 갈치의 종판별 결과와 형광발현도	106
Fig. 30. DNA칩 기반 제주도산 갈치의 종판별 결과와 형광발현도	107
Fig. 31. DNA칩 기반 일본산 갈치의 종판별 결과와 형광발현도	108
Fig. 32. DNA칩 기반 중국산 갈치의 종판별 결과와 형광발현도	109
Fig. 33. DNA칩 기반 인도산 갈치의 종판별 결과와 형광발현도	110
Fig. 34. DNA칩 기반 인도네시아산 갈치의 종판별 결과와 형광발현도	111
Fig. 35. DNA칩 기반 멕시코산 오징어의 종판별 결과와 형광발현도	112
Fig. 36. DNA칩 기반 페루산 오징어의 종판별 결과와 형광발현도	113
Fig. 37. DNA칩 기반 외산 오징어의 종판별 결과와 형광발현도	114
Fig. 38. DNA칩 기반 원양산 오징어의 종판별 결과와 형광발현도	114
Fig. 39. DNA칩 기반 국산 오징어의 종판별 결과와 형광발현도	115
Fig. 40. DNA칩 기반 시중 유통 갈치의 종판별 결과와 형광발현도	116
Fig. 41. DNA칩 기반 시중 유통 조미 찢은 오징어의 종판별 결과와 형광발현도	117
Fig. 42. DNA칩 기반 시중 유통 가공 오징어의 종판별 결과 및 유전자 염기서열 분석 결과	119
Fig. 43. DNA칩 기반 혼합 갈치 시료의 종판별 결과와 형광발현도	120
Fig. 44. DNA칩 기반 혼합 오징어 시료의 종판별 결과와 형광발현도	121
Fig. 45. 혼합 오징어 시료의 시퀀싱 결과 크로마토그램	121
Fig. 46. 갈치 종판별 DNA칩 구성도 및 프로브 위치	122
Fig. 47. 오징어 종판별 DNA칩 구성도 및 프로브 위치	122
Fig. 48. 원산지 따른 참돔 근육시료의 단백질 발현양상 비교	125
Fig. 49. 한국 양식산 참돔 근육시료에 관한 MALDI-TOF 분석결과	127
Fig. 50. 한국 자연산 (KN#2), 한국 양식산 (K#4), 중국 양식산 (C#7)간 참돔 근육시료에 관한 MALDI-TOF 분석	127
Fig. 51. 한국 자연산 (KN#4) 참돔 간시료에 관한 MALDI-TOF 분석결과	128
Fig. 52. 한국 양식산 (K#3) 참돔 근육시료 단백질 spot#5의 상응 단백질 서열	128

Fig. 53. 한국 양식산 (K#4) 참돔 근육시료 단백질 spot#1의 상응 단백질 서열	129
Fig. 54. 한국 자연산 (KN#2) 참돔 근육시료 단백질 spot#10의 상응 단백질 서열	129
Fig. 55. 한국 자연산 (KN#2) 참돔 근육시료 단백질 spot#8의 상응 단백질 서열	130
Fig. 56. 중국 양식산 (C#7) 참돔 근육시료 단백질 spot#13의 상응 단백질 서열	130
Fig. 57. 한국 자연산 (KN#4) 참돔 간 시료 단백질 spot #1의 상응 단백질 서열	131
Fig. 58. 원산지별 참돔 근육시료에서 muscle-specific enolase 단백질 발현 양상 비교: Western Blot	132
Fig. 59. 참고자료에서 추가한 일본, 중국 참돔 시료의 채집 위치	134
Fig. 60. 참돔 <i>Pma3</i> 마이크로새틀라이트의 집단별 주요 allele 비교	137
Fig. 61. 참돔 <i>Pma5</i> 마이크로새틀라이트의 집단별 주요 allele 비교	138
Fig. 62. KBS 소비자 고발에 소개된 DNA 바코드를 이용한 종 및 원산지 판별 위반 사례 적발 예	143
Fig. 63. 수산물유통정보시스템 사이트	146
Fig. 64. 수산물유통정보시스템에 동일한 영문표기의 참조기와 부세	147
Fig. 65. 수산물유통정보시스템에 일본, 중국, 인도네시아, 인도산 갈치가 동일한 종명으로 잘 못 표기됨	148
Fig. 66. 국내산 홍어의 산지가 러시아, 미국, 아르헨티나, 우루과이, 칠레, 캐나다를 포함하는 것으로 잘 못 표시됨 (FIFIS)	149

표 목 차

Table 1. 연차별 연구개발 세부목표 및 내용	7
Table 2. 대상생물을 기준으로 한 연구 추진계획	7
Table 3. 분석된 참돔 시료 정보	20
Table 4. 분석된 갈치 시료 정보	23
Table 5. 분석된 오징어 시료 정보	29
Table 6. 한국산 참돔의 계수형질	36
Table 7. 일본산 참돔의 계수형질	36
Table 8. 참돔의 COI 유전자 염기서열 분석 결과	49
Table 9. 참돔의 COI 유전자 염기서열 내 변이지역	50
Table 10. 참돔의 COIII-ND3--ND4L-ND4 지역의 염기서열 분석 결과	51
Table 11. 채집된 갈치의 계측 형질 및 계수 형질	52
Table 12. COI 유전자가 분석된 갈치 시료의 ID와 종판별 결과	52
Table 13. 갈치의 COI 유전자 염기서열 분석 결과	74
Table 14. 갈치의 COI 유전자 염기서열 내 변이지역	75
Table 15. 갈치의 16S rDNA 유전자 염기서열 분석 결과	81
Table 16. 갈치의 16S rDNA 유전자 염기서열 변이 지역	82
Table 17. COI 유전자가 분석된 오징어 시료의 ID와 종판별 결과	83
Table 18. 오징어류의 COI 유전자 염기서열 분석 결과	93
Table 19. 오징어류의 COI 유전자 염기서열 변이 지역	94
Table 20. 갈치 시료의 PCR 반응 조건	100
Table 21. 갈치 시료의 PCR 반응액 조성	101
Table 22. 오징어 시료의 PCR 반응 조건	101
Table 23. 오징어 시료의 PCR 증폭 반응액 조성	102
Table 24. 갈치와 오징어 시료의 PCR 증폭에 사용된 Primer 세트	102
Table 25. 갈치와 오징어류의 종판별 DNA칩에 심어진 프로브 리스트	103
Table 26. DNA칩 테스트에 사용된 시료 리스트	105
Table 27. 원산지 별 단백질이 특정하게 발현되어 선택된 spot 수	126
Table 28. MALDI-TOF와 DB로 확인된 펩타이드와 DB검색 결과	131

Table 29. 마이크로새틀라이트를 이용한 원산지 판별에 사용된 참돔 시료	134
Table 30. 마이크로새틀라이트 분석에 사용된 프라이머 정보	135
Table 31. <i>Pma3</i> 와 <i>Pma5</i> 에서 보이는 참돔 집단의 유전적 다양성	136
Table 32. 집단별 마이크로새틀라이트 <i>Pma3</i> 와 <i>Pma5</i> 에 나타난 주요 allele의 빈도	137
Table 33. 집단의 유전적 구조 분석 (<i>Fst</i> 를 통해 집단간 유전적 연관성 비교)	138
Table 34. DNA바코드 활용 참돔회의 진위 판별 사례	140
Table 35. DNA바코드 활용 홍어 종과 원산지 표기 진위 판별 예	142
Table 36. DNA바코드 활용 고래 고기 종 판별 사례	143
Table 37. 국내 유통 가공품중 원산지 표시대상 목록	145
Table 38. 연구개발 목표의 달성도	155

요 약 문

I. 제 목

- 수산물 원산지 식별기술 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 연구개발의 필요성
 - 수입자유화에 따라 수산물 수입이 최근 급속도로 증가하여 연간 100만 톤에 달함
 - 늘어나는 수산물의 양에 비해 검사방법은 기존에 사용되어 온 형태에 근거한 육안에 의한 식별 방법을 현재까지 사용 중임
 - 국가 간 수산물 교역량이 증가하면서 종과 원산지를 신속하고 정확하게 구분할 수 있는 객관적 표준척도 확립의 필요성이 증대함
 - 가공 처리된 수산물의 경우, 형태에 근거한 식별이 불가능하여 DNA 정보에 의한 분자동정 시스템의 적용이 절실함
 - 특히, 갈치류와 오징어류는 가공품 또는 토막의 형태로 유통되는 물량이 많아 형태에 근거한 육안검사법으로는 종과 원산지 식별에 한계가 있음
 - 유통과정의 수산물에 종명과 원산지 기재가 불분명한 경우가 많음
- 연구개발의 목적
 - 본 연구에서는 참돔, 갈치, 오징어를 대상으로 형태형질 분석과 함께 DNA와 단백질정보에 의한 종동정 기술을 개발하고 DNA칩을 이용한 대량 판별기술을 개발함
 - 분석된 수산물의 유전자 마커를 유통관리에 활용할 수 있는 수입수산물 원산지 및 종판별 정책에 대한 방향과 제도를 제시함

III. 연구개발의 내용 및 범위

1. 연구기간

- 2007년 7월 18일 ~ 2010년 7월 17일 (3년)

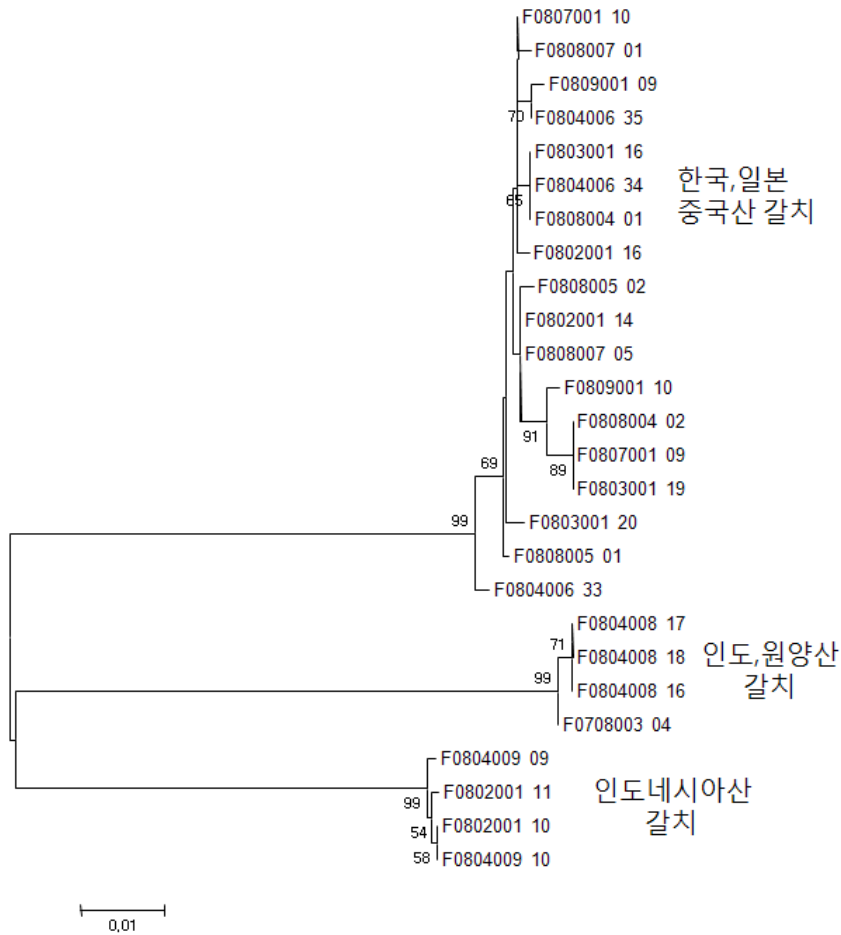
2. 연구개발의 내용 및 범위

- 한국, 중국, 일본, 인도, 인도네시아산 갈치류의 종판별 분자마커 분석, 원산지 구분 및 종판별 DNA칩 개발
- 한국, 멕시코, 페루, 남대서양의 조미 찢은 오징어 (가공품)의 종판별 분자마커 분석, 원산지 구분 및 종판별 DNA칩 개발
- 한국, 중국, 일본산 참돔 집단을 구분하는 분자마커 개발
- 분석된 수산물의 유전자 마커 DB를 구축하여 유통관리시스템에 활용
- 수입수산물 종판별과 원산지 구분 제도 정책방향 제시

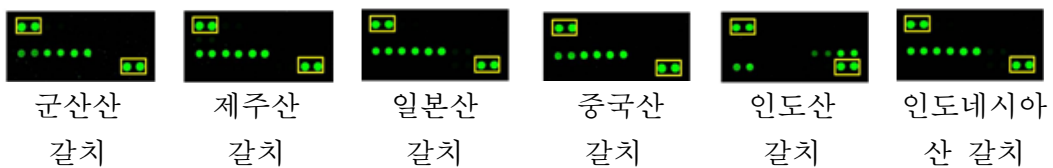
IV. 연구개발결과

1. 갈치류의 종과 원산지 식별

- 한국, 중국, 일본, 인도, 인도네시아산 갈치류의 분자마커를 분석하여 종판별의 객관적 기준을 확보하고, 이를 이용하여 종 및 원산지를 구분하고 종판별용 DNA칩을 개발함
- 미토콘드리아 DNA내 COI 유전자의 염기서열에서 한국-중국-일본산 갈치(*Trichiurus japonicus*), 인도네시아산 갈치(*T. lepturus*), 인도산 갈치(*Trichiurus sp.*)가 5%이상 서로 달랐으며, 이를 이용한 종판별이 가능하였음: DNA 염기서열의 유사성에 따라 작성한 분자계통도에서 한국-중국-일본산 갈치, 인도산 갈치 (수입품에 원양으로 표시된 갈치 포함), 인도네시아산 갈치가 독립적인 그룹으로 나뉨
- DNA 염기서열에 근거하여 DNA칩을 만들고 이를 활용하여 갈치의 종판별을 실시함: 신속 정확한 종판별 가능성을 제시함



<미토콘드리아 COI 유전자 염기서열에 따른 갈치류의 종판별이 가능함을 나타내는 분자계통도: 한국-중국-일본산 갈치(*Trichiurus japonicus*), 인도네시아산 갈치(*T. lepturus*), 인도산 갈치(*Trichiurus* sp.)>

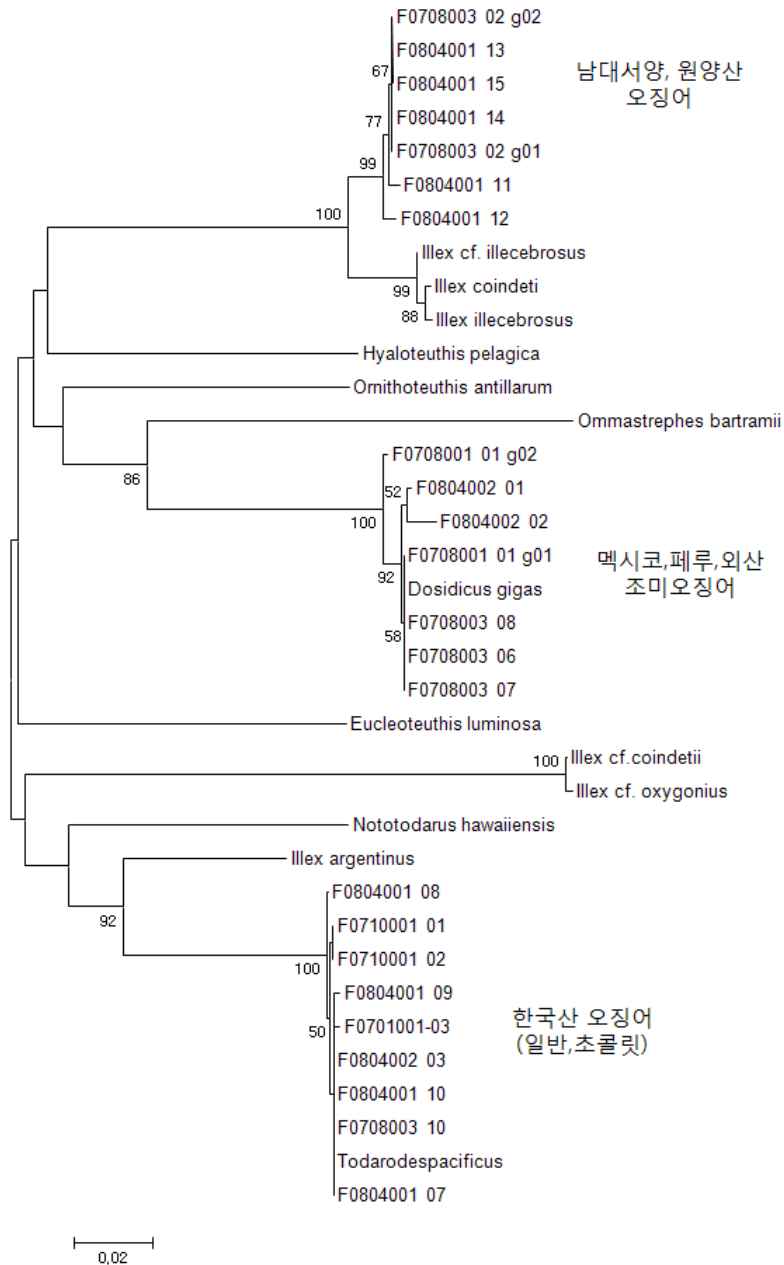


<DNA칩을 이용한 갈치류의 종판별 결과>

2. 오징어류의 종과 원산지 식별

- 한국, 멕시코, 페루, 남대서양의 조미 찢은 오징어 (가공품)의 분자마커를 분석하여 종판별의 객관적 기준을 확보하고, 이를 이용하여 종 및 원산지를 구분하고 종판별용 DNA칩을 개발함
- 미토콘드리아 DNA내 COI 유전자의 염기서열에서 한국산 오징어

(*Todarodes pacificus*), 멕시코-페루산 오징어(*Dosidicus gigas*), 남대서양산 오징어(*Illex* sp.)가 10%이상 서로 달랐으며, 이를 이용한 종판별이 가능하였음: DNA 염기서열의 유사성에 따라 작성한 분자계통도에서 한국산 오징어, 멕시코-페루산 오징어, 남대서양산 오징어(수입품에 원양으로 표시된 오징어 포함)가 독립적인 그룹으로 나뉘



<미토콘드리아 COI 유전자의 염기서열에 근거하여 오징어류의 종판별이 가능함을 보여주는 분자계통도: 한국산 오징어(*Todarodes pacificus*), 멕시코-페루산 오징어(*Dosidicus gigas*), 남대서양산 오징어(*Illex* sp.)>

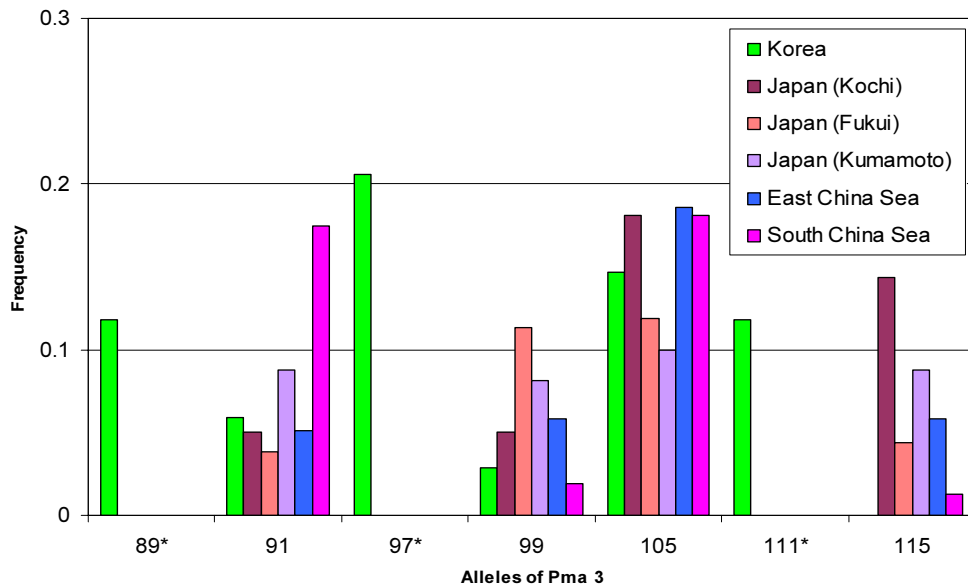
- DNA 염기서열에 근거하여 DNA칩을 만들고 이를 활용하여 오징어의 종판별을 실시함: 신속 정확한 종판별 가능성을 제시함



<DNA칩을 이용한 오징어류의 종판별 결과>

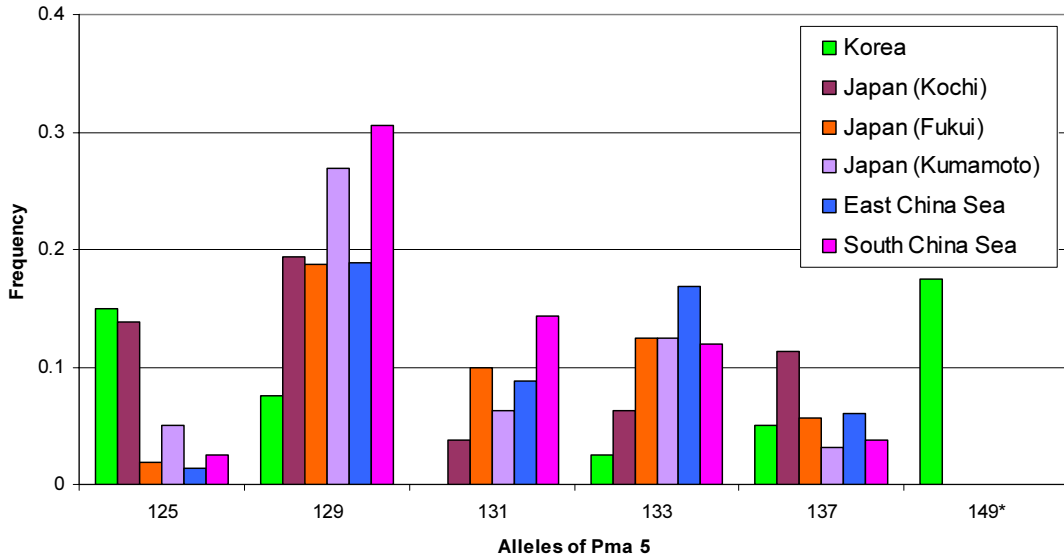
3. 참돔(*Pagrus major*)의 원산지 식별

- 한국, 중국, 일본산 참돔에서 마이크로새틀라이트 분자마커인 *Pma3*와 *Pma5*를 분석하여 대립형질의 분포에서 집단 간 차이가 있음을 밝힘: 집단 구분의 마커로 사용 가능성이 있음
- *Pma3* 마이크로새틀라이트 마커에서 89bp, 97bp, 111bp 크기의 대립형질이 한국 참돔에서만 나타나고 115bp 대립형질은 나타나지 않아, 네 개의 대립형질로써 한국산 참돔 집단이 타 집단과 구분됨; 남중국해산 참돔은 91bp 대립형질의 빈도가 높고, 115bp 대립형질의 빈도가 낮아 타 집단과 구분됨



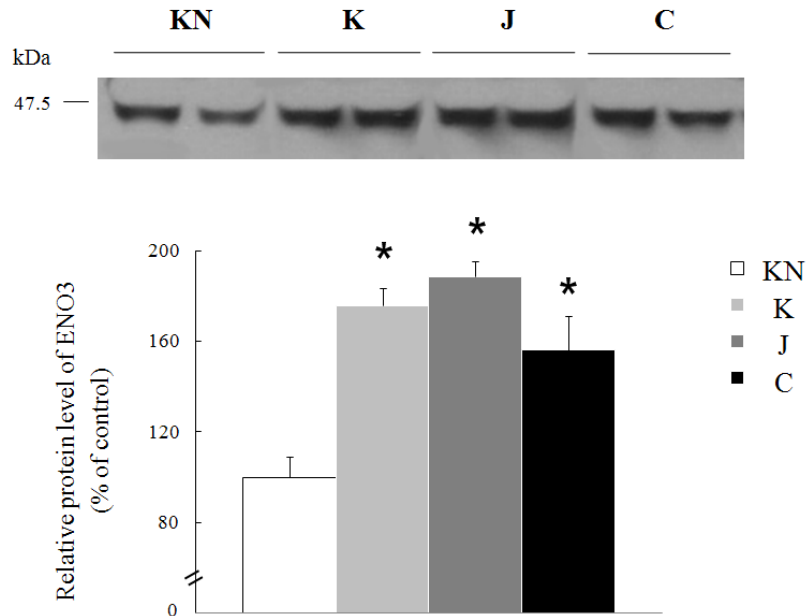
<한국, 중국, 일본산 참돔(*Pagrus major*)의 *Pma3* 마이크로새틀라이트 마커의 주요 대립형질 빈도 비교>

- *Pma5* 마이크로새틀라이트 마커의 경우에는 149bp 크기의 대립형질이 한국 참돔에서만 나타나고 131bp 크기의 대립형질은 나타나지 않아, 두 개의 대립형질로써 한국산 참돔 집단이 타 집단과 구분됨; 남중국해산 참돔은 129bp, 131bp 크기의 대립형질 빈도가 높아 타 집단과 구분됨



<한국, 중국, 일본산 참돔(*Pagrus major*)의 *Pma5* 마이크로새틀라이트의 주요 대립형질 빈도 비교>

- 참돔의 원산지 판별을 위한 단백질 마커를 개발하기 위해 2D-젤을 이용한 단백질 발현패턴의 차이를 분석하여 한국 자연산 참돔 특이적인 enolase3 마커를 발굴함; 항체를 만들어 발현량 차이가 유의함을 밝힘
- 2D-젤 전기영동법을 이용하여 중국산(양식), 일본산(양식), 한국산(양식산과 자연산) 참돔의 각 시료별 단백질 발현패턴을 비교하고 MALDI-TOF 분석으로 특이 발현 단백질의 종류를 확인함: enolase3 단백질이 한국 자연산 참돔에서 적게 발현되었음
- 발굴된 표지 단백질 enolase3에 반응하는 항체를 만들고 Western blot을 실시하여 이 단백질이 한국 자연산 참돔에서 유의하게 적게 발현됨을 확인함
- 단백질의 발현차이를 이용하는 본 방법은 동일종 간 원산지 식별법에 응용될 수 있음



<한국, 일본, 중국 양식산 (K, J, C)과 한국 자연산(KN) 참돔의 근육에서 발현된 enolase 단백질의 발현량 비교: Western Blot>

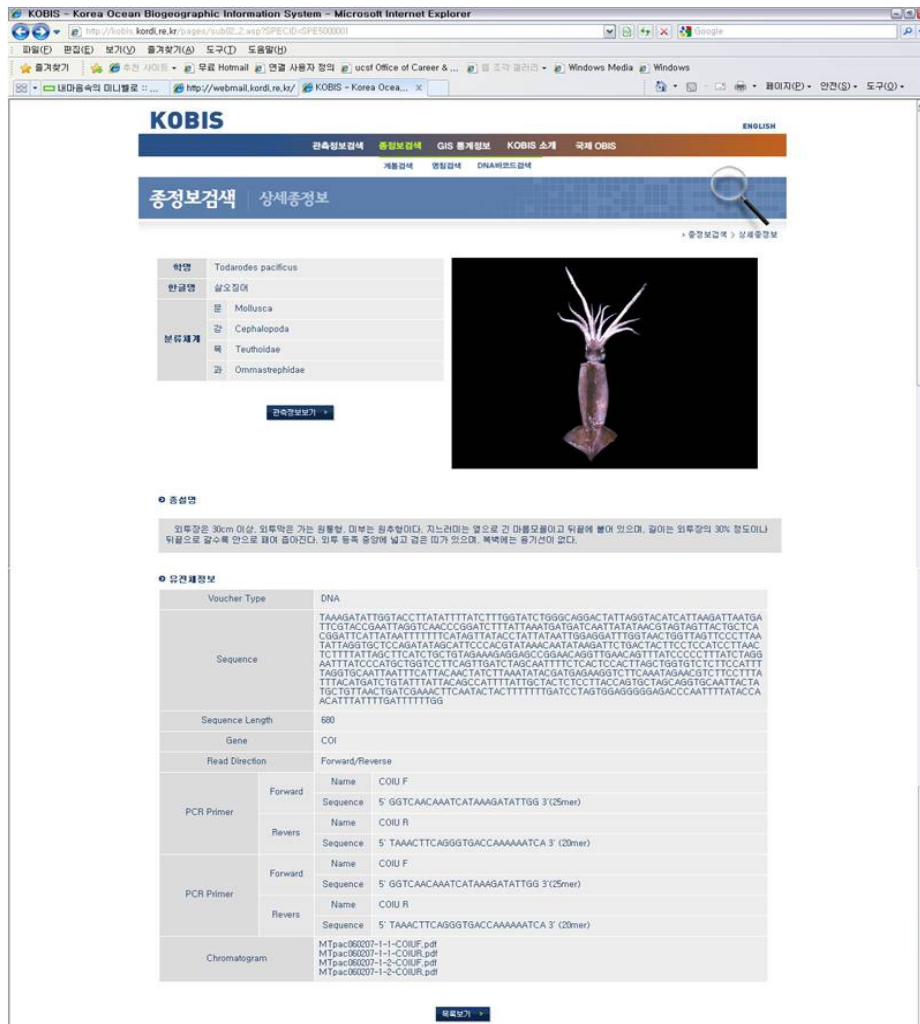
4. 유전자 인식마커의 활용의 예

- 분석된 수산물의 분자마커 및 종 정보를 한국해양생물다양성정보시스템(KOMBIS)과 한국해양생물지리정보시스템(KOBIS) 등록함
- 분자마커 정보를 이용하여 참돔회의 종 표시 진위를 판정함: KBS 소비자고발 프로그램 협조
- 유사한 활용으로서 홍어회와 고래고기 종 표시의 진위도 판정함: KBS 소비자고발 프로그램 협조

5. 수입수산물 종과 원산지 구분제도 정책 방향

- 수입수산물의 안전성과 품질에 대한 보증을 위해 종과 원산지에 대한 명확한 표시가 반드시 필요하며 그 진위를 판정할 수 있는 객관적 기준이 마련되어야 함
- 수입수산물에는 일반 증명, 학명, 원산지 표시를 의무화하며 DNA바코드 표기를 점진적으로 추진할 필요가 있음

- 종 표시의 진위를 판정하는 객관적 기준으로서 DNA나 단백질 분자마커가 유용함; 특히, DNA바코드로 명명된 미토콘드리아 COI 유전자의 염기서열이 점차 국제 표준적으로 인정됨으로 이를 국가 표준마커로 지정하고 수산물 검사에 이용해야 함
- 원산지 표시의 진위 판별은 해당 생물에 대한 명확한 종동정과 그 분포 정보를 활용하여 판단해야 함
- 수입수산물의 유통과정에서 종과 원산지 정보를 표시하는 적절한 수단 은 RFID로서 이를 활용한 수산물유통시스템 구축이 필요함



<분자마커를 포함한 해양생물종의 정보가 담겨있는 데이터베이스 KOBIS>

V. 연구개발결과의 활용계획

- 분석된 COI 유전자 염기서열(DNA바코드)은 갈치와 오징어가 포함된 다양한 수산물의 종과 원산지 판별에 직접 이용되어 수산물 유통질서를 확립하는데 이용됨
- 갈치와 오징어의 DNA칩은 국립수산물품질검사원이 다량의 수출입 갈치와 오징어 수산물을 검사하거나 유통현장에서 수산물의 종과 원산지 표시에 대한 진위를 신속히 판정하는데 활용됨
- 참돔의 마이크로새틀라이트 마커는 같은 종이라 할지라도 한국, 일본, 중국산을 구분할 수 있는 유용한 지시자로 활용 가능함
- 단백질 enolase3의 항체는 자연산 참돔을 양식산과 구분하는 데 적용 가능함
- 수산물의 DNA정보와 원산지 정보를 담은 RFID 전자칩은 수산물 유통체계의 혁신을 가져올 것이며, 유통의 효율화와 수산물에 대한 소비자의 신뢰를 높이는 계기가 될 것임
- 수산물의 유전자 정보와 서식지 지리정보의 통합 DB는 유비쿼터스 시대에 국가 수산물통합관리시스템으로 적합한 모델을 제시함
- 본 연구에서 개발된 분자마커와 DNA칩은 검역이나 유통 현장에서 종 판별 과정에 적용될 수 있으며, RFID를 활용한 수산물의 유통과 유무선 정보 네트워크를 통해 종과 원산지에 대한 정보를 검색할 수 있는 DB와 연계하면 우리나라 수산물 유통, 관리 및 원산지 검증에 대한 첨단 시스템을 확립할 수 있을 것임
- 한편, 본 연구에서 적용한 단백질체학 기술을 이용한 단백질 비교분석 방법은 종의 판별뿐 아니라 환경과 생물상태의 변화 (생체리듬, 질병, 영양상태, 노화 등)에 따른 생물의 세포내 생화학적 변화를 연구하는데 활용될 수 있음

제1장 서론

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 연구의 경제·사회 기술적 필요성

가. 기술적 측면

- 수입자유화에 따라 수산물 수입이 최근 급속도로 증가하여 연간 100만 톤에 달하여 대량의 수산물을 신속히 처리할 수 있는 검사방법을 개발할 필요가 있음
- 그런데, 현재까지 수입 수산물 검사는 생물의 형태에 근거하여 육안으로 식별하는 방법을 사용하고 있어 처리가 느리고 정확성이 떨어지는 문제를 갖고 있음
- 특히, 가공 처리된 수산물 유통량이 많아지면서 형태에 근거한 식별이 불가능한 경우가 자주 발생함
- 따라서, 수산물 검사의 정확성을 높이고 처리 속도를 향상시키며 가공품의 종과 원산지 식별도 가능한 객관적 표준척도의 확립이 시급함: DNA나 단백질과 같은 분자마커는 검사자에 따라 판별 결과가 달라지지 않는 객관적 척도를 제공함
- 원산지 판별은 생물 종명이나 집단을 먼저 판별하고 그 서식지 정보를 기준으로 이루어지므로 종명이나 집단에 대한 정확한 판별이 선결되어야 함
- 갈치류와 오징어류는 가공품 또는 토막 형태로 유통되는 물량이 많아 형태에 근거한 육안검사법으로는 수입물의 종판별이 불가능함
- 참돔은 고가의 양식 어종으로서 종묘가 중국, 일본, 베트남, 뉴질랜드, 모로코 등에서 수입되며 국내산의 수출도 이루어지고 있음; 수출입 참돔 종묘의 정확한 원산지 표기를 위해 집단 판별법의 확립이 시급함
- 본 연구에서 실시하는 종간 혹은 집단간 DNA 염기서열의 차이를 근거로 종을 구분하고 그 종의 서식지 정보를 바탕으로 원산지를 구분하는

방법은 종과 서식지 구분의 객관적 기준을 제공하게 되며, DNA 염기서열에 따라 만들어지는 DNA칩은 대량의 수출입 수산물 검사를 신속하고 정확하게 실시할 수 있는 기술적 바탕을 제공할 것임

나. 경제·산업적 측면

- 우리나라의 수산물 수입량은 연간 100만 톤이 넘으며 검사 건수만도 10만 건에 달하여, 대량의 수입수산물을 신속하게 검사할 수 있는 자동화된 시스템의 도입이 검사비용의 절감을 위해 필요함
- 우리나라의 수산물 수출에서 대중국 수출이 가장 큰 비중을 차지하며 오징어가 연간 3만 톤으로 단일품목으로서는 가장 많음; 중국으로부터 수입량은 수출량의 약 10배에 달하여 수산물교역에서 매년 막대한 무역수지적자가 남; 정확하고 명확한 종과 집단의 판별과 원산지 표시를 통해 수출입 구조를 개선하고 수산물 유통의 투명성을 확보해야 함
- 일본은 여러 어종에 대해 미토콘드리아 DNA control 지역의 단염기다형성에 근거하여 DNA칩을 개발하고 특허등록을 한 상태로 이를 이용할 경우 특허료를 지불해야 함; 새로운 분자마커에 기반한 종과 집단의 판별 방법 개발이 필요하며 경제적 효과가 클 것임
- 한국산, 일본산, 중국산 참돔의 원산지를 판별하는 것은 식별이 거의 불가능한 동일 종 내 집단 간 차이를 구분하는 것으로써 국내 생산자와 소비자의 안전과 권익을 보호하게 될 것으로 기대됨

다. 사회·문화적 측면

- 2004년 MT(marine technology)가 국가의 주요 미래 기술로 선정되었고 해양생물자원에 대한 연구는 MT의 중요요소임
- 국제적으로 모든 생물에 미토콘드리아 COI 유전자의 염기서열을 DNA 바코드로 부여하고 생물자원 관리와 상품 유통을 효율화하려는 DNA 바코드 컨소시엄이 조직되어 생물 지리정보/유전정보의 데이터베이스 구축과 정보제공 서비스가 시작되었음 (http://barcoding.si.edu/index_detail.htm)
- 한편, 소비자는 건강에 대한 관심이 증가하면서 수산물 등 해양생물 유

래 상품의 소재, 기원, 신선도, 품질, 유통과정에 대해 더 많은 정보를 요구함

- 우리나라는 수산물 소비가 많은 국가로서 국내산 뿐 만이 아니라 다량의 외국산 수산물이 국내에 유통되고 있으며, 상당량은 가공된 상태로 유통되며 생물종과 원산지에 대한 정보가 불분명한 경우가 많음: 소비자의 권리와 유통 질서의 투명성 확보를 위해 종명과 원산지 표시의 개선이 필요함

제 2 절 연구개발 목표 및 내용

1. 연구개발의 목표

- 한국, 중국, 일본, 인도, 인도네시아산 갈치류의 종판별 분자마커 분석, 원산지 구분 및 종판별 DNA칩 개발
- 한국, 멕시코, 페루, 남대서양의 조미 찢은 오징어 (가공품)의 종판별 분자마커 분석, 원산지 구분 및 종판별 DNA칩 개발
- 한국, 중국, 일본산 참돔 집단을 구분하는 분자마커 개발
- 분석된 수산물의 유전자 마커 DB를 구축하여 유통관리시스템에 활용
- 수입수산물 종판별과 원산지 구분 제도 정책방향 제시

2. 연차별 연구개발 세부목표 및 내용

수행 년도	세부목표	세부 내용
1차 년도 (2007)	시료의 형태분석과 COI, COIII-ND3-ND4L-ND4 염기서열 분석	- 참돔, 갈치, 오징어류의 국내산 및 수입산의 형태 동정과 COI, COIII-ND3-ND4L-ND4 DNA 염기서열을 분석
	DNA칩 실험을 위한 PCR 실험 조건 확립	- 프라이머 디자인과 DNA칩 이용을 위한 PCR 조건 확립 - DNA칩에 심어질 프로브(probe)의 위치에 따른 프라이머 재디자인 및 검증
	단백질의 분리와 발현 패턴 분석	- 단백질 시료의 분리방법 개발 - 단백질발현의 패턴 비교 (2D-gel) - 특이발현 단백질의 분리
2차 년도 (2008)	시료의 형태분석과 COI, 16SrDNA의 SNP 분석	- 참돔, 갈치, 오징어류 추가시료의 형태 분석과 COI, 16SrDNA(갈치) 유전자 염기서열 분석
	DNA칩 프로브 (probe) 디자인	- 갈치, 오징어류의 DNA칩 프로브 디자인 - 갈치, 오징어 종판별 DNA칩 제작 및 검증, 시장 유통 상품 테스트
	아미노산서열	- 아미노산서열의 확인 (MALDI-TOF) - 데이터베이스 비교분석 (MALDI-TOF)

수행 년도	세부목표	세부 내용
	분석과 단백질 마커 후보 발굴	- 후보물질의 확인 분석
3차 년도 (2009)	참돔의 원산지 식별 분자마커 개발, 중정보 DB 구축과 유통관리 시스템 활용	- 참돔의 집단 구분 microsatellite 마커 발굴 - 단백질 마커의 적용을 위한 항체 개발과 검증 - 종관별 분자마커 DB 구축과 정보서비스: 한국해양연구원의 해양생물다양성 DB 및 해양생물지리정보시스템 활용; 참돔, 갈치, 오징어류의 분자형질 및 생태정보 수록
	DNA칩 제작 및 시중 유통 상품 검정	- 어종 판별용 DNA칩 제작 (오징어칩, 갈치 칩)과 각 DNA 프로브의 검정/보완 - 시중 유통 상품의 원산지 표시 진위 검정: 분자마커와 DNA칩을 이용한 유통 상품의 종관별 시도와 효율성 검증, 프로브 개선
	원산지 판별 정책 제시	- 우리나라 수입수산물의 원산지 식별에 유전자 및 분자마커에 기반한 검사방법의 도입과 활용 방안 제시

Table 1. 연차별 연구개발 세부목표 및 내용

3. 연구 추진계획 및 수행 방법

가. 분야별 연구 추진계획

대상생물 (원산지)	2007년(1차년도) → 2008년(2차년도) → 2009년(3차년도)			최종 목표
	참돔 (한국/일본/ 중국산)	- 한국, 일본시료 형태분 석 및 COI 분석 - 원산지 별 단백질 발현 패턴 비교 및 분리	- 중국,한국, 일본 양식산 참돔 추가 COI분석 - 아미노산 서열확인 을 통한 단백질 확인 및 원산 지 구별마커 후보 발굴	
갈치 (한국/일본/ 중국/인도/ 인도네시아산)	- 인도,인도네시아,일본 시료의 COI 및 16SrDNA 분석 - DNACHIP 제작 조건 확 립	- 중국,한국(5지역) 시료 의 COI 및 16SrDNA분석 - DNACHIP 제작을 위한 probe 설계	- DNACHIP 제작 및 현장 시료 검증	
오징어 (페루/남대서 양/한국/ 멕시코산)	- 멕시코, 페루, 국내산 조미오징어 COI gene 분석 - DNACHIP 제작 조건 확립	- 남대서양, 원산지 미표 기 오징어 추가 COI분석 - DNACHIP 제작 및 시료 검증	- DNACHIP 제작 및 현장 시료 검증	

Table 2. 대상생물을 기준으로 한 연구 추진계획

나. 연구 수행방법

1) 참돔, 갈치, 오징어류의 시료확보

- 참돔: 한국, 일본, 중국산 시료를 시장구입, 국립수산물품질검사원 등으로부터 확보함
- 갈치: 한국, 일본, 중국, 인도, 인도네시아산 시료를 대형마트 및 시장, 국립수산물품질검사원, 제주대학교에서 얻음
- 오징어: 가공품인 조미 찢은 오징어의 경우 대형마트, 영화상영관, 재래시장 등에서 구매하였으며, 생물 오징어의 경우 대형마트, 재래시장 등을 통해서 확보함

2) 참돔, 갈치, 오징어류의 형태 분석 및 분자형질 분석

- 형태 분류에 필수적인 계수 형질 및 계측 형질을 측정하여 형태 분석을 수행함
- 국제표준 종판별 분자 마커인 COI 유전자를 이용하여 분자형질을 분석함
 - 해당 생물의 근육 조직에서 Genomic DNA를 추출함
 - 표적 DNA의 증폭을 위한 중합효소 연쇄반응 (Polymerase chain reaction)을 시행함
 - 증폭된 DNA의 정제 (PCR purification)
 - 시퀀싱을 진행하여 염기서열을 확보하였으며 각 생물종의 염기서열을 함께 정렬하여 비교함
 - 염기서열 분석을 통해 종내 변이 및 종간 변이를 살펴보고 분자계통도를 작성함
 - 대상생물의 종 정보 데이터베이스를 작성함
- 참돔의 원산지를 판별하고자 마이크로새트라이트를 이용한 분자형질을 분석함
 - 원산지별 참돔의 근육 조직에서 Genomic DNA 추출
 - 표적 DNA의 증폭을 위한 중합효소 연쇄반응 (Polymerase chain reaction) 시행

- 염기서열 분석기를 통해 마이크로새틀라이트의 정확한 반복서열 크기를 확인
- 원산지 집단별 하디-바인버그 법칙을 이용한 이형접합자 빈도 측정 및 집단별 유전적 차이 확인

3) 갈치 및 오징어 종판별용 DNA칩 제작 및 테스트

- COI 염기서열 정보 수집 및 프로브 디자인
 - 분자형질 분석을 통해 얻은 해당생물의 DNA염기서열과 근연종을 비교 분석하여 종 특이적인 올리고뉴클레오티드를 설계함
- 갈치, 오징어류의 종판별 DNA칩 제작
 - 설계한 종 특이적인 형광 프로브를 제작하여 슬라이드 칩에 고정함
 - DNA칩 안정화 (Reduction)
- DNA칩 테스트
 - 종판별을 원하는 시료의 표적 DNA COI 유전자를 증폭함 (polymerase chain reaction)
 - 증폭된 DNA를 혼성교잡화 반응을 위해 단일 가닥 (single strand DNA)으로 만듦
 - 대상생물의 DNA와 DNA칩에 집적된 프로브의 혼성교잡화 반응을 시킴 (hybridization)
 - DNA칩 상에 나타난 형광 발현 정도를 DNA칩 스캐너를 통해 살펴보고 발현 패턴을 통해 종을 판별함

4) 아미노산 구성 확인을 통한 원산지 구별 단백질 마커 후보물질 발굴

- 단백질 시료 추출
 - 참돔 근육 조직을 균질화하고 파쇄함 (Homogenization & Sonication)
 - 추출한 단백질을 정량함
- 참돔 원산지별 단백질 발현의 패턴 비교
 - 2D-겔 전기영동 (2 dimensional gel electrophoresis: Isoelectric focusing + SDS PAGE)으로 단백질을 전하의 차이와 pH에 따라 분리
 - 은 염색법 (silver staining)을 통해 단백질을 확인

- GS-800 스캐너에서 얻은 이미지로 PD-quest 소프트웨어를 이용하여 분석을 수행하였으며 단백질 spot을 선정
- MALDI-TOF (Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometer)를 이용하여 아미노산 구성을 분석함
- MALDI-TOF 분석결과에서 얻은 펩타이드 정보를 기존 단백질 데이터 베이스와 비교하여 유사한 단백질 후보물질을 발굴

제2장 국내외 기술개발 현황

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내 연구동향

- 우리나라는 수입수산물에 값비싼 국산으로 둔갑되어 판매되는 부정유통을 막고 공정한 거래질서 확립과 어업인 및 소비자를 보호하기 위하여 대외무역법('91), 농수산물 가공 산업육성 및 품질관리에 관한 법('93)이 제정되어 국내에서 유통되는 모든 농수산물 및 그 가공품에는 원산지 표시를 의무화 하도록 함
- 국립수산물과학원은 연근해 어류와 내수면어류에 대해 간단한 생태정보와 분류정보 DB를 구축하고 정보를 제공하고 있으나 종합정보시스템으로 크게 부족함
- 한국해양연구원은 생물지리정보와 유전자에 기초한 분류 정보가 연계된 종합적인 해양생물자원 관리 및 정보서비스 시스템으로서 2007년부터 해양생물다양성정보시스템(KOBMIS)와 해양생물지리정보시스템(KOBIS)를 운영하고 있음
- 한편, 마린바이오21사업의 해양극한생물 분자유전체 연구단은 Marine-BioBase를 구축하고 유전자원의 DB화를 추진하고 있는 바, 이 DB는 EST와 유전체 염기서열을 주요 내용으로 하고 염기서열 정보분석을 중점적으로 지원하는 측면이 강함
- 한편, 본 연구진이 1999년부터 수행한 연구에서 우리나라 연어에 독특한 유전자형이 일부 개체에서 확인되었고, 최근 홍어류에서도 종간 차이를 보이는 분자마커를 확인하고 DNA칩 개발에 성공함
- 어류의 종내 집단 간 구분은 유전적 차이가 크지 않아 쉽게 이루어지지 않는 바, 마이크로새틀라이트와 단백질체 기술을 이용하는 방법이 새롭게 이용되기 시작함
- DNA칩 기술은 암 진단이나 바이러스와 세균의 진단 등 의약 산업에 주로 쓰이는 방법이나 해양생물의 종판별에도 적용되기 시작함
- 우리나라에서는 한국해양연구원과 한양대학교가 어류, 무척추동물의 종판별 유전자칩을 개발하고 있음

- 삼면이 바다로 둘러싸이고 수산물 소비량이 많은 우리나라는 해양현장과 수산물의 유통 현장에서 해양생물의 종명을 신속하게 판별하고, 원산지를 구분할 수 있는 기술의 개발이 필요함
- 해양생물의 종판별을 위한 DNA바코드 분석과 DB구축은 국토해양부에서 발주하고 한국해양연구원이 수행하는 용역과제 '해양생물다양성 보전 연구'와 한국해양연구원이 자체 일반과제로 실시하는 '유비쿼터스 해양 유용/유해생물 관리기술 개발'에서 수행하고 있음
- 본 사업이 시작되기 전까지 수산생물 특히 수입 수산물의 DNA바코드 분석과 DNA칩 개발은 거의 이루어지지 않았음

제 2 절 국외 연구동향

- 세계 각국은 지구 기후변화에 따른 해양생물자원 변동을 분석하고자 해양생물지리정보시스템(Ocean Biogeographic Information Network)을 구축하여 유용/유해생물의 과거와 현재 분포 상황을 비교 분석하고, 미래 분포를 예측하려고 시도함
- 미국과 캐나다는 국제 컨소시엄인 해양생물센서스(Census of Marine Life), 해양생물지리정보시스템(Ocean Biogeographic Information System), 생물DNA바코드컨소시엄(Consortium for the Barcode of Life)등을 주도하면서 IT기술과 BT기술을 해양생물자원 관리에 접목시켜 전 세계 해양생물의 관리체계 기술 개발을 선도하고 있음; 특히, 캐나다는 2012년까지 전 세계 생물 50만종의 DNA바코드 DB를 축적하는 국제컨소시엄을 주도하고 있음
- DNA바코드 컨소시엄에서는 전 세계 생물종의 판별을 위해 표준화된 객관적 척도로서 미토콘드리아 COI 유전자를 정하고, 각 생물의 DNA 바코드 DB를 구축 중임
- 수산물의 종판별에 DNA 염기서열을 이용하려는 시도는 미국, 캐나다, 일본을 중심으로 진행되고 있으며, 미국에서는 패혈증 등 일부 유통과정에서 문제를 일으키는 수산물을 대상으로 직접 적용하고 있음

- 일본은 최근 수입산 참치의 검역과정에서 정확한 생물종을 판별하기 위해 DNA 염기서열을 이용하고 있음
- 한편, DNA칩 기술은 해양현장에서 신속하게 생물종과 집단을 구분할 수 있는 방법을 제공하여, 최근 일본의 경우 연어 계군을 분석할 수 있는 DNA칩을 개발하여 현장에서 계군분석에 적용한 바 있음
- 단백질체학 분석기술은 종이나 집단간 단백질 발현패턴의 차이에 대한 정보 분석에 이용될 수 있어, 병리학, 생물 비교 분석학, 영양학 등의 분야에서 질병 표식인자 연구, 종간비교인자 연구, 영양학적 비교분석 연구 등에 사용됨
- 생물체는 처해진 환경 조건이나 영양 상태에 따라 그 세포 생화학적 대사 단백질들의 세포내 발현 정도가 크게 차이 나는 것으로 보고되어있음 (Kikuchi et al., 1999, Vornanen et al., 2005, Gravel et al., 2009)
- MALDI-TOF (Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight) MS 단백질 프로파일링 기술은 단백질체학 분야에서 특히 정확하고 예민한 기술로서 이를 이용하면 영양상태가 다른 집단 간 발현되는 단백질의 차이를 밝힐 수 있음
- 서로 다른 병원의 미생물종 동정에 Mass Spectrophotometry (MS) 기술을 이용한 분석법이 적용되기도 하며 (Fagerquist et al., 2005, sauer et al., 2008), 곤충 종간에 특이적 단백질의 발현을 단백질체학 연구로 실시한 바 있음 (Roth et al., 2009)
- 참돔 (red sea bream, *Pagrus major*)은 북서태평양, 동대서양, 지중해연안 지역에서 주로 서식하는 어종으로써 상업적인 중요성을 갖는 바, 양식에 성공하여 많은 부분을 양식에 의존하고 있음
- 따라서 상업적 중요성을 가지고 있는 참돔의 원산지 판별, 혹은 자연산과 양식의 판별이 분자마커 기술로써 가능하게 된다면, 산업적 경제학적 의미를 가질 수 있음
- DNA칩 이용기술 측면에서 이동식 분석장비 개발분야의 연구가 국제적으로 활발히 수행되면서 10~20cm 크기의 hybridization unit, 원심분리기, DNA추출 및 PCR machine, DNA칩 reader기 개발이 이루어짐

제 3 절 현재까지의 연구개발 현황

- 연구팀은 본 과제를 시작하기 전에 연어과 어류의 DNA바코드 분석과 종판별 DNA칩 개발, 홍어과 어류의 DNA바코드 분석과 종판별 DNA칩 개발을 수행하였으며, 왕돌초를 비롯한 동해 연안에 서식하는 주요 어류와 무척추동물의 DNA바코드를 분석하고 DNA칩 개발을 시도함: 홍어과 어류 판별 DNA칩, 연어과 어류 판별 DNA칩, 동해 우점 어류 및 무척추 동물의 DNA칩을 개발하여 특허 등록함
- 또한, 다양한 해양 생물종에 대한 DNA바코드 정보 및 출현 정보를 해양생물다양성정보시스템(KOMBIS)와 해양생물지리정보시스템(KOBIS)에 축적하여 해양생물 종판별에 활용하고 있음 (<http://kobis.kordi.re.kr>)

제3장 연구개발수행 내용 및 결과

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 참돔, 갈치, 오징어류의 형태 및 종판별 염기서열 분석

1. 서론

- 수입 자유화에 따라 수산물 수입이 최근 급속도로 증가하여 연간 100만 톤에 달하나 늘어나는 수산물의 양에 비해 검사 방법은 기존의 형태에 근거한 숙련자의 육안에 의한 식별 방법을 현재까지 사용 중에 있어, 수출입 수산물의 검사 방법에 대한 개선의 필요성이 제기됨
- 특히, 가공 처리된 수산물 유통량이 많아 형태에 근거한 식별이 불가능해지면서 DNA정보에 의한 신속하고 객관적인 분자동정 시스템의 개발과 적용이 절실해짐
- 갈치류와 오징어류는 가공품 또는 토막의 형태로 유통되는 물량이 많아 형태에 근거한 육안 검사법으로 종을 판별하는 것이 불가능함
- 본 연구에서는 참돔, 갈치 및 오징어를 대상으로 형태형질을 분석하고 수입수산물에 기록된 종명을 바탕으로 종 동정을 실시하였으며, 국제적으로 쓰이는 분자마커를 이용하기 위해 미토콘드리아 COI 유전자의 염기서열을 분석하였음
- 참돔의 경우 COI 유전자의 염기서열에서 종내 변이 및 한국, 일본, 중국산 집단 내 변이가 적어, COIII-NDIII-ND4L 유전자의 염기서열도 분석함; 이 유전자의 변이도 적어 결국 마이크로새틀라이트 마커와 단백질 마커를 이용한 집단 구분을 시도함 (제3절과 제4절에 제시)
- 분석된 염기서열은 갈치류와 오징어류의 경우 신속한 종판별을 위한 DNA칩 개발에 이용됨

2. 재료 및 방법

가. 시료 채집 및 확보

1) 참돔 (*Pagrus major*)

- 계수형질로서 다음을 측정함: Dorsal fin(D), 등지느러미; Pectriak fin(P), 가슴지느러미; Anal fin(A), 뒷지느러미; Lateral Line(LL), 측선 비늘)
- 채집된 시료의 원산지와 채집 정보는 다음과 같음

종명	구분 (상품명)	개체수	원산지	어획시기	시료 구입처 혹은 제공자
참돔 (<i>Pagrus major</i>)	한국 자연산	6	완도	2008.01	부산자갈치시장
	한국 양식산	16	한국	2007.09	오이도 어시장 (1개체)
				2007.12	수산물품질검사원 (5개체)
				2009.04	여수 싱싱회수산 (10개체)
중국 양식산	11	중국	2007.08	오이도 어시장 (1개체)	
			2009.04	여수 싱싱회수산 (10개체)	
			2007.09	오이도 어시장 (1개체)	
일본 양식산	16	일본	2007.12	수산물품질검사원 (5개체)	
			2009.04	여수 싱싱회수산 (10개체)	

Table 3. 분석된 참돔 시료 정보

- 일본 양식산 참돔이 한국 자연산 참돔과 비슷한 붉은색을 띄며, 한국 양식 참돔이 가장 검은 빛을 띰
- 한국산 참돔 사진 (양식산 16개체와 자연산 6개체)



F0904002_01



F0904002_02



F0904002_03



F0904002_04



F0904002_05



F0904002_06



F0904002_07



F0904002_08



F0904002_09



F0904002_10



F0712001_01



F0712001_02



F0712001_03



F0712001_04



F0712001_05



F0801001_01



F0801001_02



F0801001_03



F0801001_04



F0801001_05



F0801001_06

Fig. 1. 한국산 참돔 시료 사진

○ 일본산 참돔의 사진



F0904003_01



F0904003_02



F0904003_03



F0904003_04



F0904003_05



F0904003_06



F0904003_07



F0904003_08



F0904003_09



F0904003_10



F0712002_01



F0712002_02



F0712002_03



F0712002_04



F0712002_05

Fig. 2. 일본산 참돔 시료 사진

○ 중국산 참돔의 사진



F0904001_01



F0904001_02



F0904001_03



F0904001_04



F0904001_05



F0904001_06



F0904001_07



F0904001_08



F0904001_09



F0904001_10

Fig. 3. 중국산 참돔 시료 사진

2) 갈치

- 계수형질 (등지느러미, 가슴지느러미)과 계측 형질 (전장, 표준체장)을 측정하였음
- 시료 원산지 및 채집 정보

종명	구분(상품명)	개체 수	원산지	어획 시기	시료 구입처 혹은 제공자
갈치	제주산 갈치	6	제주도	2008.07	제주대학교
	돌산도 갈치	5	돌산도	2008.08	여수수산물시장
	거문도 갈치	5	거문도	2008.08	여수수산물시장
	군산 떡갈치	12	군산	2008.08	군산수산물시장 (2개체)
	군산 낚시갈치				군산수산물시장 (10개체)
	거제도 갈치	10	거제도	2008.09	낚시 (김충곤, 정다금)
	일본산 갈치	9	일본	2008.02	시흥시 소래포구 (5개체)
				2008.03	부산 자갈치 시장 (4개체)
	중국산 갈치	9	중국	2008.04	수산물품질검사원 (9개체)
	인도산 갈치	11	인도	2008.04	수산물품질검사원 (11개체)
인도네시아산 갈치	20	인도네시아	2008.02	시흥시 소래포구 (6개체)	
			2008.04	수산물품질검사원 (14개체)	
원양산 갈치	1	원양	2007.08	오이도 어시장 (1개체)	

Table 4. 분석된 갈치 시료 정보

○ 제주도산 갈치

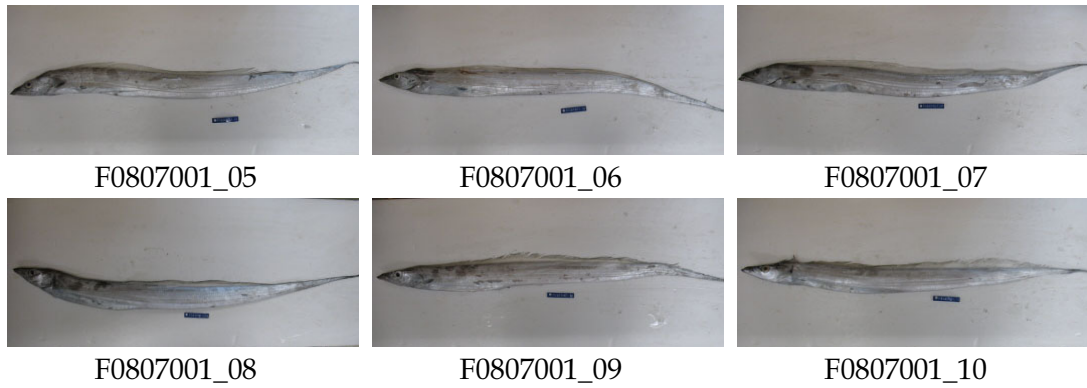


Fig. 4. 제주도산 갈치 시료 사진

○ 거제도산 낚시 갈치

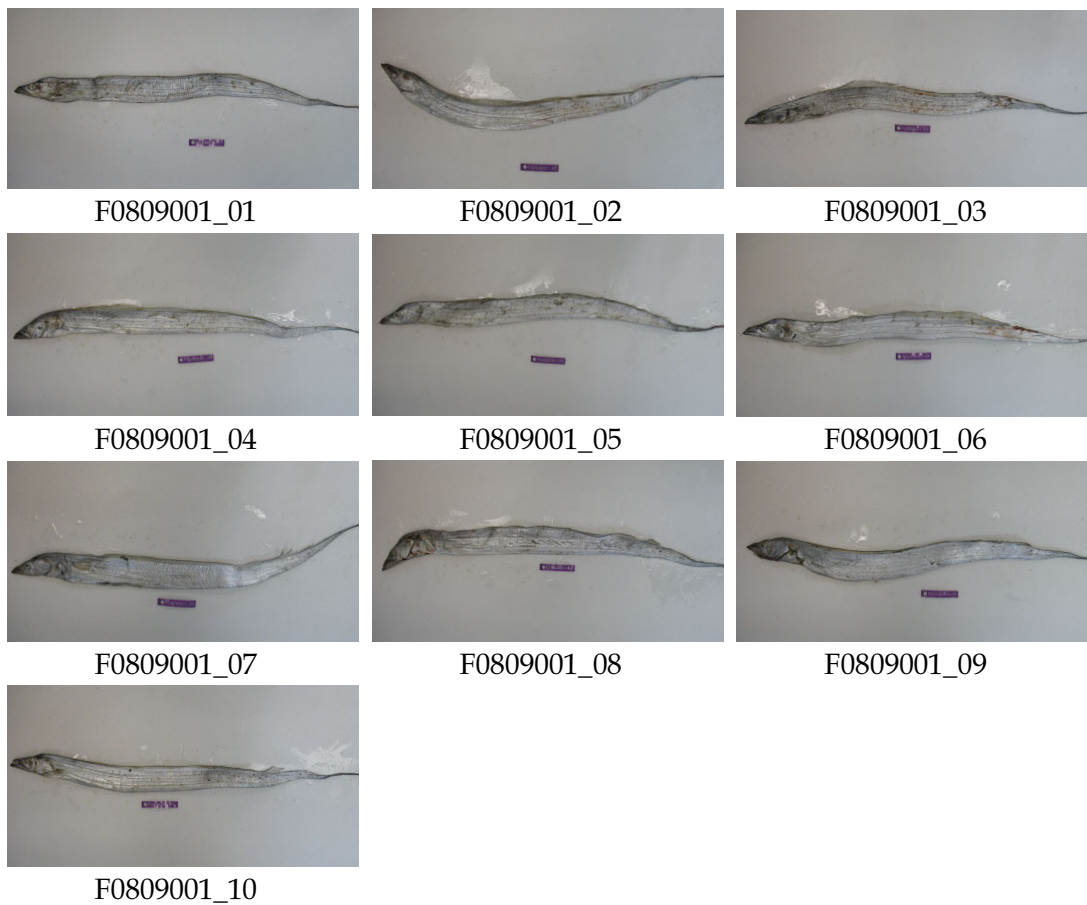


Fig. 5. 거제도산 낚시갈치 시료 사진

○ 군산산 낚시갈치, 군산산 먹갈치

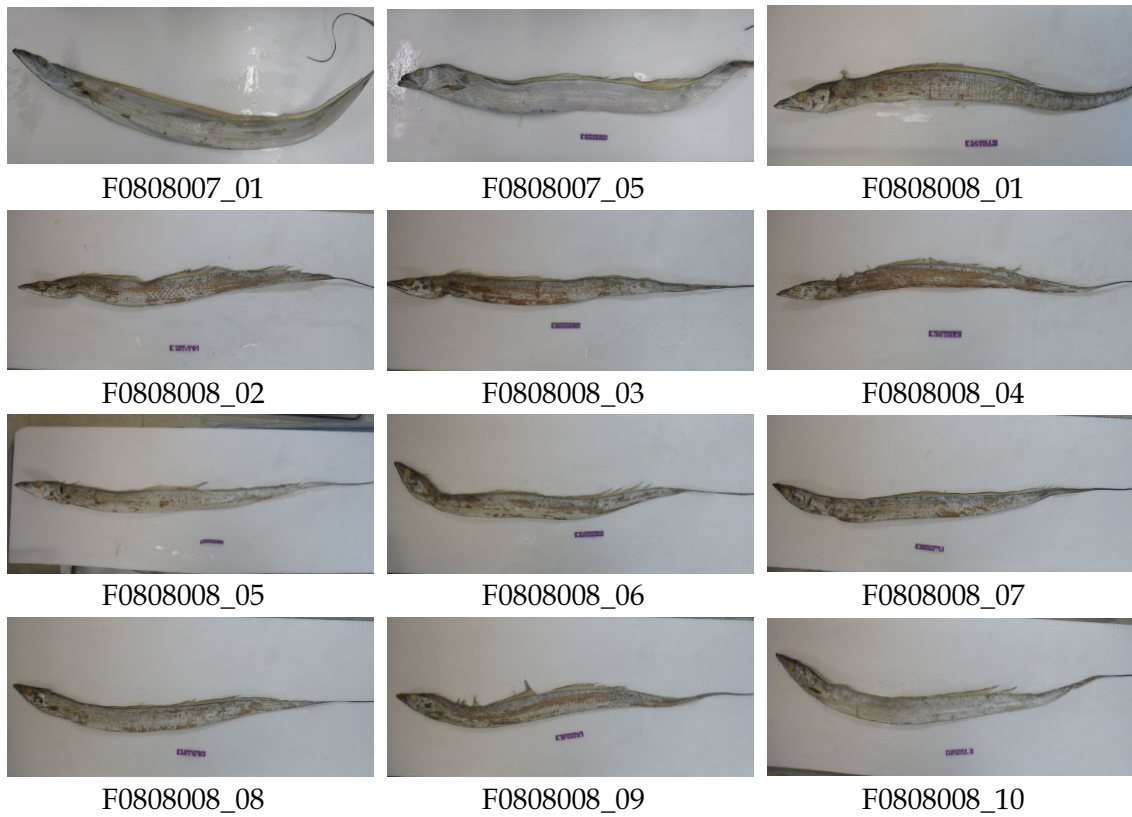


Fig. 6. 군산산 낚시갈치, 먹갈치 시료 사진

○ 돌산도산 갈치

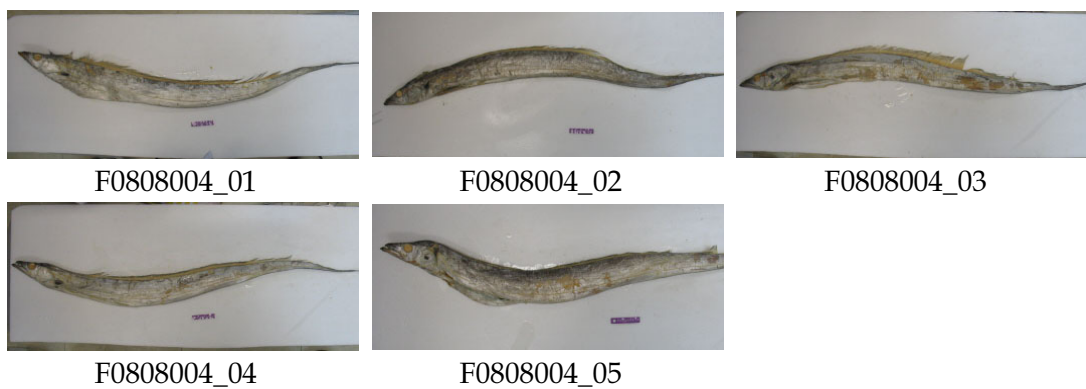


Fig. 7. 돌산도산 갈치 시료 사진

○ 거문도산 갈치

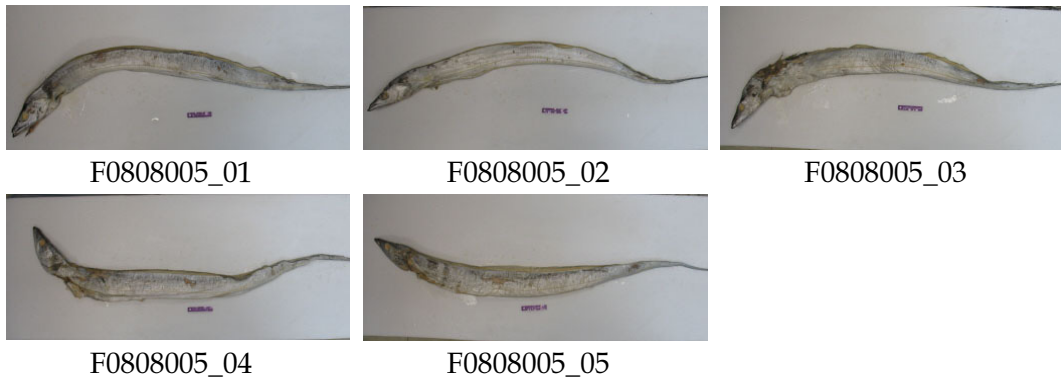


Fig. 8. 거문도산 갈치 시료 사진

○ 일본산 갈치

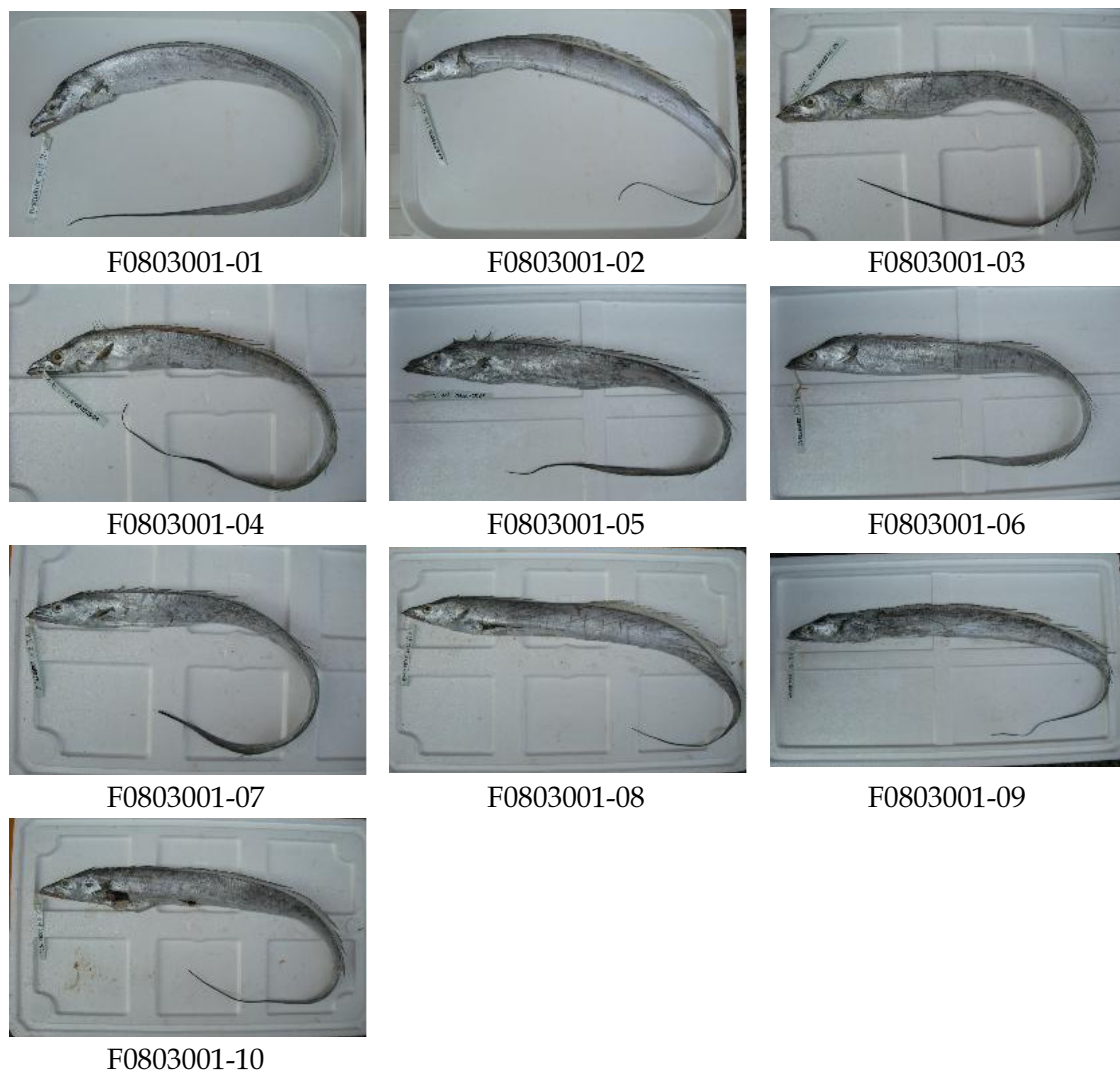


Fig. 9. 일본산 갈치 시료 사진

○ 중국산 갈치

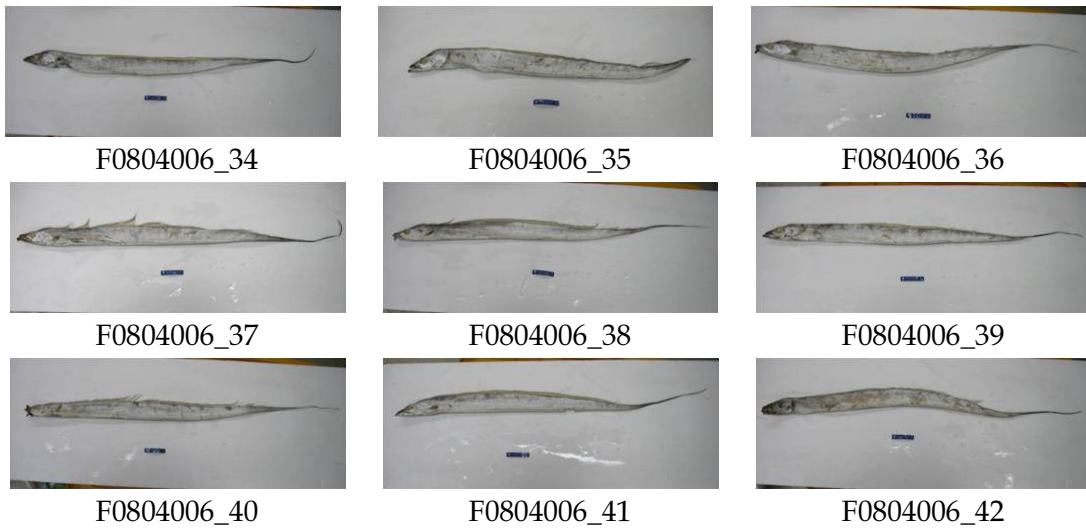


Fig. 10. 중국산 갈치 시료 사진

○ 인도산 갈치

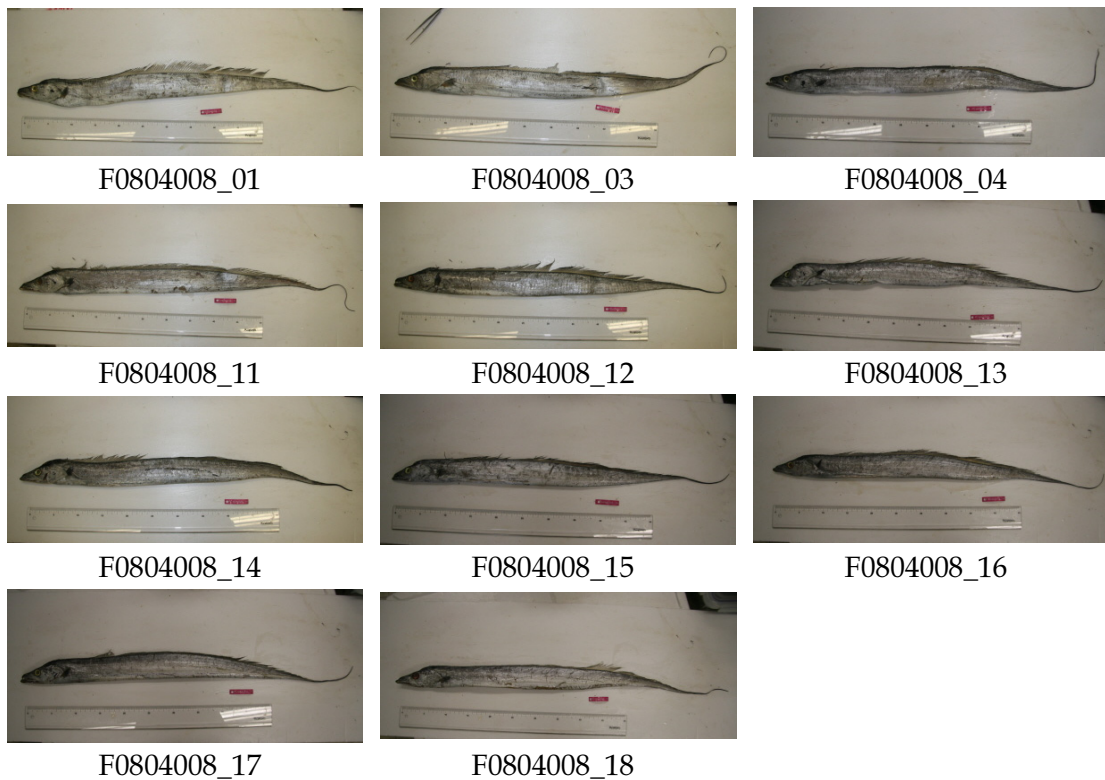


Fig. 11. 인도산 갈치 시료 사진

○ 인도네시아산 갈치

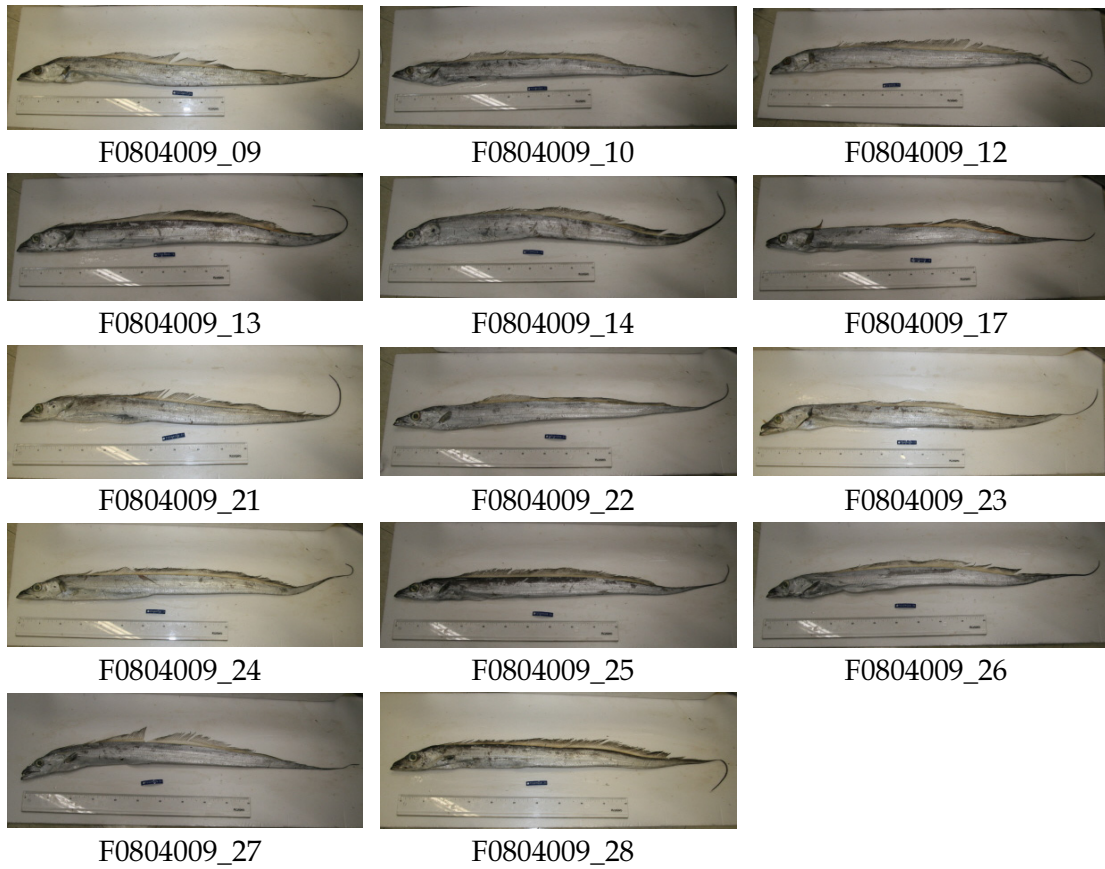


Fig. 12. 인도네시아산 갈치 시료 사진

3) 오징어

- 오징어 시료의 원산지 및 채집 정보

구분(상품명)	개체 수	원산지	어획시기	시료 구입처 혹은 제공자
국내산 오징어	1	국산	2007.01	이마트 (고잔점)
조미 찢은 오징어	1	멕시코	2007.08	CGV (수원역점)
원양산 오징어	1	원양산	2007.08	오이도 어시장
조미 찢은 오징어	1	외산 국내가공	2007.08	오이도 어시장
조미 찢은 오징어	1	외산 중국가공	2007.08	오이도 어시장
버터 오징어	1	페루산	2007.08	이마트 (고잔점)
버터 오징어채	1	국산	2007.08	이마트 (고잔점)

구분(상품명)	개체 수	원산지	어획시기	시료 구입처 혹은 제공자
울릉도 오징어	2	국산	2007.10	김충곤, 남기웅
초콜릿 오징어	2	미표기	2008.04	이마트 (고잔점)
일반 오징어	2	미표기	2008.04	이마트 (고잔점)
남대서양산 오징어	5	남대서양	2008.04	이마트 (고잔점)
조미 찢은 오징어	1	페루	2008.04	수산물품질검사원
조미 찢은 오징어	1	멕시코	2008.04	수산물품질검사원
조미 찢은 오징어	1	한국	2008.04	수산물품질검사원
A사 오징어 건더기스프	5봉지	한국,페루	2010.06	럭키할인마트

Table 5. 분석된 오징어 시료 정보

○ 초콜릿 오징어



F0804001_07



F0804001_08

Fig. 13. 초콜릿 오징어 시료 사진

○ 일반 오징어



F0804001_09



F0804001_10

Fig. 14. 일반 오징어 시료 사진

○ 남대서양산 오징어



F0804001_11



F0804001_12



F0804001_13



F0804001_14



F0804001_15

Fig. 15. 남대서양산 오징어 시료 사진

○ 조미 오징어



Fig. 16. 조미 오징어 시료 사진

○ A사 가공품(라면)스프 오징어 건더기(5봉지 분석: 1팩 기준)

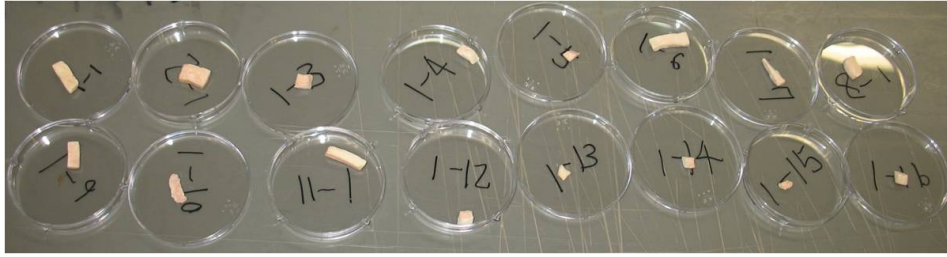


Fig. 17. 라면스프 내 오징어 건더기 시료 사진

나. 대상생물의 COI, 16SrDNA, COIII-ND3-ND4L-ND4 염기서열 분석

1) 게놈 DNA의 추출

- 수산생물을 대상으로 근육 및 꼬리 일부를 채취하여 에탄올에 고정시킨 후 DNA추출 전에 증류수로 잘 씻어 사용하였음. 원산지 판별을 위한 각 생물종의 특이적인 분자마커를 찾기 위해 미토콘드리아 DNA의 특정 유전자(COI, 16SrDNA, COIII-ND3-ND4L-ND4)를 이용함 (Hebert et al 2004). 게놈 DNA의 추출에 DNeasy Tissue kit(QIAGEN)를 사용
- 에탄올에 보관되어 있는 시료의 근육 부분 약 25mg을 취해 Buffer ATL 180ul와 Proteinase K 20ul가 들어 있는 튜브에 넣고 균질화시킴. 55℃에 약 3h~5h 처리하여 단백질을 제거하고 4ul RNaseA 용액 (100mg/ul)을 넣고 실온에서 5분간 처리함. Buffer AL 200ul를 넣고 강하게 혼합하여 섞고 70℃에서 10분간 처리함. 이후 200ul의 (96%-100%)에탄올을 첨가하여 즉시 혼합하고 스피ن 컬럼을 collection tube에 놓은 다음, 혼합된 튜브내의 반응용액을 column에 넣고 8000rpm으로 1분간 원심분리함. Collection tube의 flow-through를 버리고 다시 컬럼과 튜브를 조립하고 Buffer AW1 500ul를 column에 넣고 1분간 8000rpm으로 원심분리한 후, flow-through를 버림. Buffer AW2 500ul를 column에 넣고 14000rpm으로 3분간 원심분리하여 column의 bead에 남아있는 에탄올을 완전히 제거함. 새로운 tube에 스피ن 컬럼을 놓고 나서 미리 70℃로 데운 Buffer AE 200ul를 column에

넣고 실온에서 1분간 방치한 뒤 1분간 8000rpm으로 원심분리하여 시료의 게놈 DNA를 분리함. DNA의 정량과 순도를 spectrophotometry를 이용하여 A260/280를 측정함으로써 분석함.

2) 중합효소 연쇄반응(Polymerase Chain Reaction)

- 표적 DNA의 증폭에 사용될 primer는 수산어종 및 증폭지역에 따라 각기 다르며 primer 서열은 다음과 같음.

- 참돔 (COI gene)

Forward Primer : 5'-TCAGCCATCTTACCTGTGGC-3' (20mer)

Reverse Primer : 5'-GGGTGTCCGAAGAATCAGAA-3' (20mer)

- 갈치 (COI gene)

Forward Primer:5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3'(26mer)

Reverse Primer:5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAACAATCA-3' (26mer)

- 오징어 (COI gene):

Forward Primer: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' (25mer)

Reverse Primer: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'(26mer)

- 갈치 (16S rDNA)

Forward Primer: 5'-GCCTGTTTAACAAAAACAT-3' (19mer)

Reverse Primer : 5'-CGGTCTGAACTCAGATCACGT-3' (21mer)

- 참돔 (COIII-ND3-ND4L-ND4 region)

Forward Primer: 5'-CAYCAYTTYGGNTTYGAAGCHGC-3'(23mer)

Reverse Primer: 5'-AGRGTGDCYTCRAATGHRATRTRAAA-3'(26mer)

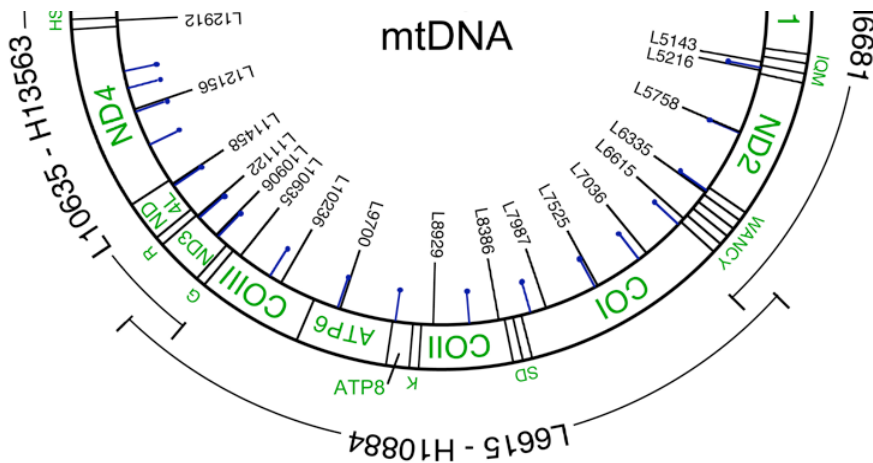


Fig. 18. 미토콘드리아 내 유전자 위치 정보

- 증폭혼합물은 각 해양생물종 시료 1ul와 200uM의 dNTP, 0.5U의 GO Taq (Promega), 1.5mM MgCl₂, 1X GO taq buffer, 0.5pmol의 primer 로 구성되어지며, DNA engine(MJ Research, Inc.)을 사용하여 증폭함
- COI gene의 증폭은 94°C에서 3분간 변성시킨 후 94°C 1분, 42-48°C 1분, 72°C 1분 과정을 35회 반복한 후 72°C에서 7분간 연장 반응 과정을 통하여 표적 DNA를 증폭함
- 16S rDNA의 증폭은 94°C에서 5분간 변성시킨 후 94°C 30초, 55°C 30초, 72°C 1분 과정을 35회 반복하고 72°C에서 5분간 연장 반응함
- COIII-ND3-ND4L 지역의 경우 94°C에서 2분간 반응시킨 후, 95°C에서 1분, 적정 annealing 온도에서 1분, 72°C에서 1분 30초를 35cycle 반복 반응한 후 72°C에서 7분간 연장 반응시켜 증폭함
- 증폭산물은 1.5% agarose gel로써 정확한 크기의 산물 여부를 확인함

3) 증폭된 DNA의 정제

- PCR로 증폭된 DNA의 정제를 위해 QIAquick PCR purification kit(QIAGEN)를 사용함; Buffer PB 250ul에 PCR 산물 50ul를 넣어 섞어주고 이 혼합물을 collection tube에 놓여진 spin column에 넣음
- 14000rpm으로 1분간 원심분리하고 tube에 있는 통과액을 버림; 튜브에 column을 다시 올려놓고 Buffer PE 750ul를 column에 넣음;

14000rpm으로 1분간 원심분리하여 flow-through를 버리고, 다시 tube와 column을 결합하여 14000rpm으로 1분간 원심분리하여 spin column의 아래쪽에 있는 잔여 에탄올을 완전히 제거함

- 통과액을 버린 후 spin column을 새로운 tube에 옮기고 50°C로 데운 Buffer EB 30ul를 column 중앙에 넣음; 실온에서 1분간 놓아둔 후 14000rpm으로 1분간 원심분리하여 정제된 DNA를 회수함

4) 시퀀싱 및 염기서열 정렬

- Applied Biosystems의 ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit를 이용하여 시퀀싱을 진행함; MJ Research의 PTC-225 Peltier Thermal Cycler를 사용하여 PCR 반응을 실행하고 T7 promoter primer, M13 reverse primer를 이용하여 sequence를 읽음
- 반응이 끝나면 에탄올을 이용하여 반응 후 남은 dNTP와 반응물을 분리하며, 정제된 증폭산물은 3차 증류수에 다시 녹여 ABI PRISM 3730XL Analyzer에서 분석함
- 위에서 얻은 염기서열을 개체간, 집단간, 종간에 정렬함

5) 염기서열 분석

- 각 개체의 염기서열은 정방향과 역방향으로 읽은 염기서열을 DNAssist 2.3과 Chromas 프로그램을 이용하여 비교함으로써 최종 결정함
- 분석된 모든 개체의 염기서열을 MEGA3.1 프로그램의 ClustalW를 사용하여 정렬하여 개체 간 염기서열을 서로 비교하고 종내 변이 및 종간 변이를 분석함

6) 대상생물의 종 정보 데이터베이스 구축 및 활용

- 대상 생물의 생태, 서식지 등에 대한 자료를 수집하고 유전자 분석을 통해 얻은 염기서열을 자료로 원산지 및 유전자 마커 데이터베이스를 구축함: DNA sequence 정보, Taxonomy, 서식지 및 생태정보 포함



Version 2.3
 Copyright ©1994-2005 Bioinformatics Consulting
 Registered
 IOBJK1288504-302

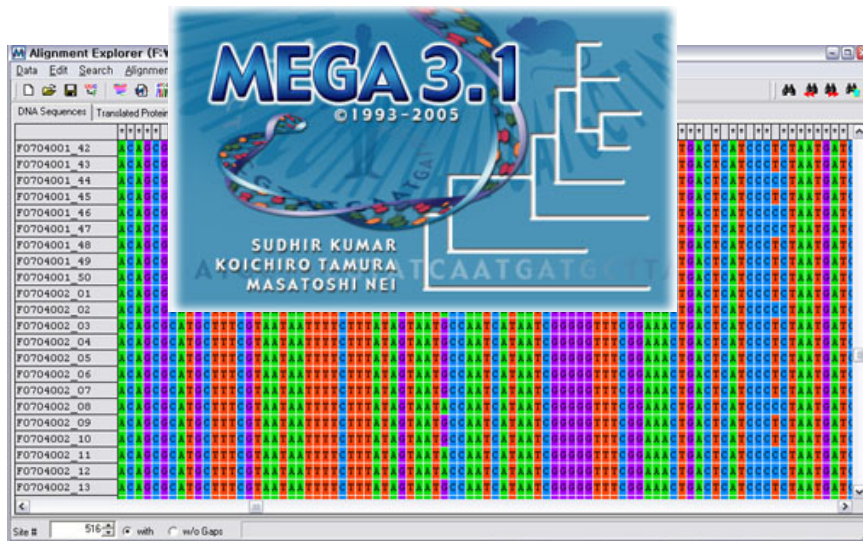


Fig. 19. 염기서열 결정 및 비교 분석 도구

3. 결과 및 토의

가. 참돔의 형태 및 분자형질 분석

○ 형태 형질

- 계수형질로서 등지느러미(D), 가슴지느러미(P), 뒷지느러미(A), 측선비늘(LL)의 수를 세었고, 계측형질은 양식산지에 따라 형질의 차이가 커서 측정하기 않음
- 지느러미의 기조는 어류 분류상 매우 중요한 형태형질로서 극조(spinous ray)와 연조(soft ray)로 구분함: 극조는 가시처럼 되어 있어 마디가 없고 연조는 마디가 있음; 극조 수는 로마숫자로 표기하고 연조 수는 아라비아숫자로 표기함

○ 한국산 참돔의 계수형질

표본 번호	Dorsal rays (D)	Pectoral rays (P)	Anal rays (A)	Lateral line scale (LL)
F07 12001 01	XII, 10	15	III, 8	54
F07 12001 02	XII, 10	15	III, 8	57
F07 12001 03	XII, 10	14	III, 8	55
F07 12001 04	XII, 10	14	III, 8	56
F07 12001 05	XII, 10	15	III, 8	56

Table 6. 한국산 참돔의 계수형질

○ 일본산 참돔의 계수형질

표본 번호	D	P	A	LL
F0712002_01	XII, 10	15	III, 8	54
F0712002_02	XII, 10	15	III, 8	55
F0712002_03	XII, 10	14	III, 8	55
F0712002_04	XII, 10	15	III, 8	58
F0712002_05	XII, 10	15	III, 8	58

Table 7. 일본산 참돔의 계수형질

○ 분자 형질: COI 유전자 염기서열

- 한국, 일본, 중국산 총 49개체의 참돔 시료에서 COI 유전자의 5'쪽 염기서열 697bp가 분석됨
- KC는 한국 양식산, KN은 한국 자연산, CC는 중국 양식산, JC는 일본 양식산을 나타냄

[COI gene]

```

F0712001_01 (KC) AATCACACGC TGATTTTCT CAACCAACCA TAAAGACATC GGCACCCTTT ATCTTGATTT [ 60]
F0709001_01 (KC) ..... [ 60]
F0712001_02 (KC) ..... [ 60]
F0712001_03 (KC) ..... [ 60]
F0712001_04 (KC) ..... [ 60]
F0712001_05 (KC) ..... [ 60]
F0904002_01 (KC) ..... [ 60]
F0904002_02 (KC) ..... [ 60]
F0904002_03 (KC) ..... [ 60]
F0904002_04 (KC) ..... [ 60]
F0904002_05 (KC) ..... [ 60]
F0904002_06 (KC) ..... [ 60]
    
```

F0904002_07 (KC)	[60]
F0904002_08 (KC)	[60]
F0904002_09 (KC)	[60]
F0904002_10 (KC)	[60]
F0801001_01 (KN)	[60]
F0801001_02 (KN)	[60]
F0701001_03 (KN)	[60]
F0701001_04 (KN)	[60]
F0701001_05 (KN)	[60]
F0701001_06 (KN)	[60]
F0708003_01 (CC)	[60]
F0904001_01 (CC)	[60]
F0904001_02 (CC)	[60]
F0904001_03 (CC)	[60]
F0904001_04 (CC)	[60]
F0904001_05 (CC)	[60]
F0904001_06 (CC)	[60]
F0904001_07 (CC)	[60]
F0904001_08 (CC)	[60]
F0904001_09 (CC)	[60]
F0904001_10 (CC)	[60]
F0709001_02 (JC)	[60]
F0712002_01 (JC)	[60]
F0712002_02 (JC)	[60]
F0712002_03 (JC)	[60]
F0712002_04 (JC)	[60]
F0712002_05 (JC)	[60]
F0904003_01 (JC)	[60]
F0904003_02 (JC)	[60]
F0904003_03 (JC)	[60]
F0904003_04 (JC)	[60]
F0904003_05 (JC)	[60]
F0904003_06 (JC)	[60]
F0904003_07 (JC)	[60]
F0904003_08 (JC)	[60]
F0904003_09 (JC)	[60]
F0904003_10 (JC)	[60]
F0712001_01 (KC)	TGGTGCCTTGG GCCGGGATAG TAGGGACTGC CTTAAGCCTG CTCATCCGAG CTGAGCTTAG	[120]
F0709001_01 (KC)	[120]
F0712001_02 (KC)	[120]
F0712001_03 (KC)	[120]
F0712001_04 (KC)	[120]
F0712001_05 (KC)	[120]
F0904002_01 (KC)	[120]
F0904002_02 (KC)	[120]

F0904002_03 (KC)	[120]
F0904002_04 (KC)	[120]
F0904002_05 (KC)	[120]
F0904002_06 (KC)	[120]
F0904002_07 (KC)	[120]
F0904002_08 (KC)	[120]
F0904002_09 (KC)	[120]
F0904002_10 (KC)	[120]
F0801001_01 (KN)	[120]
F0801001_02 (KN)	[120]
F0701001_03 (KN)	[120]
F0701001_04 (KN)	[120]
F0701001_05 (KN)	[120]
F0701001_06 (KN)	[120]
F0708003_01 (CC)	[120]
F0904001_01 (CC)	[120]
F0904001_02 (CC)	[120]
F0904001_03 (CC)	[120]
F0904001_04 (CC)	[120]
F0904001_05 (CC)	[120]
F0904001_06 (CC)	[120]
F0904001_07 (CC)	[120]
F0904001_08 (CC)	[120]
F0904001_09 (CC)	[120]
F0904001_10 (CC)	[120]
F0709001_02 (JC)	[120]
F0712002_01 (JC)	[120]
F0712002_02 (JC)	[120]
F0712002_03 (JC)	[120]
F0712002_04 (JC)	[120]
F0712002_05 (JC)	[120]
F0904003_01 (JC)	[120]
F0904003_02 (JC)	[120]
F0904003_03 (JC)A.....	[120]
F0904003_04 (JC)A.....	[120]
F0904003_05 (JC)A.....	[120]
F0904003_06 (JC)	[120]
F0904003_07 (JC)A.....	[120]
F0904003_08 (JC)A.....	[120]
F0904003_09 (JC)	[120]
F0904003_10 (JC)	[120]
F0712001_01 (KC)	CCAGCCCGGG GCTCTCCTAG GCGACGACCA GATTTATAAT GTAATTGTTA CAGCACACGC	[180]
F0709001_01 (KC)	[180]
F0712001_02 (KC)	[180]
F0712001_03 (KC)	[180]

F0712001_04 (KC)	[180]
F0712001_05 (KC)	[180]
F0904002_01 (KC)	[180]
F0904002_02 (KC)	[180]
F0904002_03 (KC)	[180]
F0904002_04 (KC)	[180]
F0904002_05 (KC)	[180]
F0904002_06 (KC)	[180]
F0904002_07 (KC)	[180]
F0904002_08 (KC)	[180]
F0904002_09 (KC)	[180]
F0904002_10 (KC)	[180]
F0801001_01 (KN)	[180]
F0801001_02 (KN)	[180]
F0701001_03 (KN)	[180]
F0701001_04 (KN)	[180]
F0701001_05 (KN)	[180]
F0701001_06 (KN)	[180]
F0708003_01 (CC)	[180]
F0904001_01 (CC)	[180]
F0904001_02 (CC)	[180]
F0904001_03 (CC)	[180]
F0904001_04 (CC)	[180]
F0904001_05 (CC)	[180]
F0904001_06 (CC)	[180]
F0904001_07 (CC)	[180]
F0904001_08 (CC)	[180]
F0904001_09 (CC)	[180]
F0904001_10 (CC)	[180]
F0709001_02 (JC)	[180]
F0712002_01 (JC)	[180]
F0712002_02 (JC)	[180]
F0712002_03 (JC)	[180]
F0712002_04 (JC)	[180]
F0712002_05 (JC)	[180]
F0904003_01 (JC)	[180]
F0904003_02 (JC)	[180]
F0904003_03 (JC)	[180]
F0904003_04 (JC)	[180]
F0904003_05 (JC)	[180]
F0904003_06 (JC)	[180]
F0904003_07 (JC)	[180]
F0904003_08 (JC)	[180]
F0904003_09 (JC)	[180]
F0904003_10 (JC)	[180]

F0712001_01 (KC) **ATTTGTAATA ATTTTCTTTA TAGTAATGCC AATTATGATT GGGGGCTTTG GAAACTGATT** [240]
 F0709001_01 (KC) [240]
 F0712001_02 (KC) [240]
 F0712001_03 (KC) [240]
 F0712001_04 (KC) [240]
 F0712001_05 (KC) [240]
 F0904002_01 (KC) [240]
 F0904002_02 (KC) [240]
 F0904002_03 (KC) [240]
 F0904002_04 (KC) [240]
 F0904002_05 (KC) [240]
 F0904002_06 (KC) [240]
 F0904002_07 (KC) [240]
 F0904002_08 (KC) [240]
 F0904002_09 (KC) [240]
 F0904002_10 (KC) [240]
 F0801001_01 (KN) [240]
 F0801001_02 (KN) [240]
 F0701001_03 (KN) [240]
 F0701001_04 (KN) [240]
 F0701001_05 (KN) [240]
 F0701001_06 (KN) [240]
 F0708003_01 (CC) [240]
 F0904001_01 (CC) [240]
 F0904001_02 (CC) [240]
 F0904001_03 (CC) [240]
 F0904001_04 (CC) [240]
 F0904001_05 (CC) [240]
 F0904001_06 (CC) [240]
 F0904001_07 (CC) [240]
 F0904001_08 (CC) [240]
 F0904001_09 (CC) [240]
 F0904001_10 (CC) [240]
 F0709001_02 (JC) [240]
 F0712002_01 (JC) [240]
 F0712002_02 (JC) [240]
 F0712002_03 (JC) [240]
 F0712002_04 (JC) [240]
 F0712002_05 (JC) [240]
 F0904003_01 (JC) [240]
 F0904003_02 (JC) [240]
 F0904003_03 (JC) [240]
 F0904003_04 (JC) [240]
 F0904003_05 (JC) [240]
 F0904003_06 (JC) [240]
 F0904003_07 (JC) [240]

F0904003_08 (JC)	[240]
F0904003_09 (JC)	[240]
F0904003_10 (JC)	[240]
F0712001_01 (KC)	AATTCACCTT ATAATTGGTG CCCCTGATAT GGCCTTCCCC CGAATGAACA ACATAAGCTT	[300]
F0709001_01 (KC)	[300]
F0712001_02 (KC)	[300]
F0712001_03 (KC)	[300]
F0712001_04 (KC)	[300]
F0712001_05 (KC)	[300]
F0904002_01 (KC)	[300]
F0904002_02 (KC)	[300]
F0904002_03 (KC)	[300]
F0904002_04 (KC)	[300]
F0904002_05 (KC)	[300]
F0904002_06 (KC)	[300]
F0904002_07 (KC)	[300]
F0904002_08 (KC)	[300]
F0904002_09 (KC)	[300]
F0904002_10 (KC)	[300]
F0801001_01 (KN)	[300]
F0801001_02 (KN)	[300]
F0701001_03 (KN)	[300]
F0701001_04 (KN)	[300]
F0701001_05 (KN)	[300]
F0701001_06 (KN)	[300]
F0708003_01 (CC)	[300]
F0904001_01 (CC)	[300]
F0904001_02 (CC)	[300]
F0904001_03 (CC)	[300]
F0904001_04 (CC)	[300]
F0904001_05 (CC)	[300]
F0904001_06 (CC)	[300]
F0904001_07 (CC)	[300]
F0904001_08 (CC)	[300]
F0904001_09 (CC)	[300]
F0904001_10 (CC)	[300]
F0709001_02 (JC)	[300]
F0712002_01 (JC)	[300]
F0712002_02 (JC)	[300]
F0712002_03 (JC)	[300]
F0712002_04 (JC)	[300]
F0712002_05 (JC)	[300]
F0904003_01 (JC)	[300]
F0904003_02 (JC)	[300]
F0904003_03 (JC)	[300]

F0904003_04 (JC)	[300]
F0904003_05 (JC)	[300]
F0904003_06 (JC)	[300]
F0904003_07 (JC)	[300]
F0904003_08 (JC)	[300]
F0904003_09 (JC)	[300]
F0904003_10 (JC)	[300]
F0712001_01 (KC)	CTGACTACTC CCCCATCTT TCCTTCTTCT ACTCGCTTCC TCCGGGGTTG AAGCCGGGGC	[360]
F0709001_01 (KC)	[360]
F0712001_02 (KC)	[360]
F0712001_03 (KC)	[360]
F0712001_04 (KC)	[360]
F0712001_05 (KC)	[360]
F0904002_01 (KC)	[360]
F0904002_02 (KC)	[360]
F0904002_03 (KC)	[360]
F0904002_04 (KC)	[360]
F0904002_05 (KC)	[360]
F0904002_06 (KC)	[360]
F0904002_07 (KC)	[360]
F0904002_08 (KC)	[360]
F0904002_09 (KC)	[360]
F0904002_10 (KC)	[360]
F0801001_01 (KN)	[360]
F0801001_02 (KN)	[360]
F0701001_03 (KN)	[360]
F0701001_04 (KN)	[360]
F0701001_05 (KN) T.....	[360]
F0701001_06 (KN)	[360]
F0708003_01 (CC)	[360]
F0904001_01 (CC)	[360]
F0904001_02 (CC)	[360]
F0904001_03 (CC)	[360]
F0904001_04 (CC)	[360]
F0904001_05 (CC)	[360]
F0904001_06 (CC)	[360]
F0904001_07 (CC)	[360]
F0904001_08 (CC)	[360]
F0904001_09 (CC)	[360]
F0904001_10 (CC)	[360]
F0709001_02 (JC)	[360]
F0712002_01 (JC)	[360]
F0712002_02 (JC)	[360]
F0712002_03 (JC)	[360]
F0712002_04 (JC)	[360]

F0712002_05 (JC)	[360]
F0904003_01 (JC)	[360]
F0904003_02 (JC)	[360]
F0904003_03 (JC)	[360]
F0904003_04 (JC)	[360]
F0904003_05 (JC)	[360]
F0904003_06 (JC)	[360]
F0904003_07 (JC)	[360]
F0904003_08 (JC)	[360]
F0904003_09 (JC)	[360]
F0904003_10 (JC)	[360]
F0712001_01 (KC)	TGGCACTGGG TGAACAGTTT ATCCACCACT GCGGGTAAT CTGCCCATG CAGGAGCATC	[420]
F0709001_01 (KC)	[420]
F0712001_02 (KC)	[420]
F0712001_03 (KC)	[420]
F0712001_04 (KC)	[420]
F0712001_05 (KC)	[420]
F0904002_01 (KC)	[420]
F0904002_02 (KC)	[420]
F0904002_03 (KC)	[420]
F0904002_04 (KC)	[420]
F0904002_05 (KC)	[420]
F0904002_06 (KC)	[420]
F0904002_07 (KC)	[420]
F0904002_08 (KC)	[420]
F0904002_09 (KC)	[420]
F0904002_10 (KC)	[420]
F0801001_01 (KN)	[420]
F0801001_02 (KN)	[420]
F0701001_03 (KN)	[420]
F0701001_04 (KN)	[420]
F0701001_05 (KN)	[420]
F0701001_06 (KN)	[420]
F0708003_01 (CC)	[420]
F0904001_01 (CC)	[420]
F0904001_02 (CC)	[420]
F0904001_03 (CC)	[420]
F0904001_04 (CC)	[420]
F0904001_05 (CC)	[420]
F0904001_06 (CC)	[420]
F0904001_07 (CC)	[420]
F0904001_08 (CC)	[420]
F0904001_09 (CC)	[420]
F0904001_10 (CC)	[420]
F0709001_02 (JC)	[420]

F0712002_01 (JC)	[420]
F0712002_02 (JC)	[420]
F0712002_03 (JC)	[420]
F0712002_04 (JC)	[420]
F0712002_05 (JC)	[420]
F0904003_01 (JC)	[420]
F0904003_02 (JC)	[420]
F0904003_03 (JC)	[420]
F0904003_04 (JC)	[420]
F0904003_05 (JC)	[420]
F0904003_06 (JC)	[420]
F0904003_07 (JC)	[420]
F0904003_08 (JC)	[420]
F0904003_09 (JC)	[420]
F0904003_10 (JC)	[420]
F0712001_01 (KC)	AGTCGACCTA ACCATCTTTT CTCTTCACTT AGCGGGTATT TCATCAATTC TTGGTGCAAT	[480]
F0709001_01 (KC)	[480]
F0712001_02 (KC)	[480]
F0712001_03 (KC)	[480]
F0712001_04 (KC)	[480]
F0712001_05 (KC)	[480]
F0904002_01 (KC)	[480]
F0904002_02 (KC)	[480]
F0904002_03 (KC)	[480]
F0904002_04 (KC)	[480]
F0904002_05 (KC)	[480]
F0904002_06 (KC)	[480]
F0904002_07 (KC)	[480]
F0904002_08 (KC)	[480]
F0904002_09 (KC)	[480]
F0904002_10 (KC)	[480]
F0801001_01 (KN)	[480]
F0801001_02 (KN)	[480]
F0701001_03 (KN)	[480]
F0701001_04 (KN)	[480]
F0701001_05 (KN)	[480]
F0701001_06 (KN)	[480]
F0708003_01 (CC)	[480]
F0904001_01 (CC)	[480]
F0904001_02 (CC)	[480]
F0904001_03 (CC)	[480]
F0904001_04 (CC)	[480]
F0904001_05 (CC)	[480]
F0904001_06 (CC)	[480]
F0904001_07 (CC)	[480]

F0904001_08 (CC)	[480]
F0904001_09 (CC)	[480]
F0904001_10 (CC)	[480]
F0709001_02 (JC)	[480]
F0712002_01 (JC)	[480]
F0712002_02 (JC)	[480]
F0712002_03 (JC)	[480]
F0712002_04 (JC)	[480]
F0712002_05 (JC)	[480]
F0904003_01 (JC)	[480]
F0904003_02 (JC)	[480]
F0904003_03 (JC)	[480]
F0904003_04 (JC)	[480]
F0904003_05 (JC)	[480]
F0904003_06 (JC)	[480]
F0904003_07 (JC)	[480]
F0904003_08 (JC)	[480]
F0904003_09 (JC)	[480]
F0904003_10 (JC)	[480]
F0712001_01 (KC)	TAACTTTATT ACTACCATCA TCAATATGAA ACCCCCTGCT ATTTCCAGT ATCAGACCCC	[540]
F0709001_01 (KC)	[540]
F0712001_02 (KC)	[540]
F0712001_03 (KC)	[540]
F0712001_04 (KC)	[540]
F0712001_05 (KC)	[540]
F0904002_01 (KC)	[540]
F0904002_02 (KC)	[540]
F0904002_03 (KC)	[540]
F0904002_04 (KC)	[540]
F0904002_05 (KC)	[540]
F0904002_06 (KC)	[540]
F0904002_07 (KC)	[540]
F0904002_08 (KC)	[540]
F0904002_09 (KC)	[540]
F0904002_10 (KC)	[540]
F0801001_01 (KN)	[540]
F0801001_02 (KN)	[540]
F0701001_03 (KN)	[540]
F0701001_04 (KN)	[540]
F0701001_05 (KN)	[540]
F0701001_06 (KN)	[540]
F0708003_01 (CC)	[540]
F0904001_01 (CC)	[540]
F0904001_02 (CC)	[540]
F0904001_03 (CC)	[540]

F0904001_04 (CC)	[540]
F0904001_05 (CC)	[540]
F0904001_06 (CC)	[540]
F0904001_07 (CC)	[540]
F0904001_08 (CC)	[540]
F0904001_09 (CC)	[540]
F0904001_10 (CC)	[540]
F0709001_02 (JC)	[540]
F0712002_01 (JC)	[540]
F0712002_02 (JC)	[540]
F0712002_03 (JC)	[540]
F0712002_04 (JC)	[540]
F0712002_05 (JC)	[540]
F0904003_01 (JC)	[540]
F0904003_02 (JC)	[540]
F0904003_03 (JC)	[540]
F0904003_04 (JC)	[540]
F0904003_05 (JC)	[540]
F0904003_06 (JC)	[540]
F0904003_07 (JC)	[540]
F0904003_08 (JC)	[540]
F0904003_09 (JC)	[540]
F0904003_10 (JC)	[540]
F0712001_01 (KC)	CTTGTTTCGTT TGGGCCGTTT TTATTACCGC TGTCTTCTT CTTTTATCCC TGCCAGTTCT	[600]
F0709001_01 (KC)C.....	[600]
F0712001_02 (KC)	[600]
F0712001_03 (KC)	...A.....	[600]
F0712001_04 (KC)	[600]
F0712001_05 (KC)	[600]
F0904002_01 (KC)	[600]
F0904002_02 (KC)	...A.....	[600]
F0904002_03 (KC)	[600]
F0904002_04 (KC)	...A.....	[600]
F0904002_05 (KC)	[600]
F0904002_06 (KC)	...A.....	[600]
F0904002_07 (KC)	[600]
F0904002_08 (KC)	...A.....	[600]
F0904002_09 (KC)	...A.....	[600]
F0904002_10 (KC)	[600]
F0801001_01 (KN)	[600]
F0801001_02 (KN)	[600]
F0701001_03 (KN)	.C.....	[600]
F0701001_04 (KN)	[600]
F0701001_05 (KN)T.....	[600]
F0701001_06 (KN)C.....	[600]

F0708003_01 (CC)	[600]
F0904001_01 (CC)	...A.....	[600]
F0904001_02 (CC)	[600]
F0904001_03 (CC)	[600]
F0904001_04 (CC)	...A.....	[600]
F0904001_05 (CC)	...A.....	[600]
F0904001_06 (CC)	...A.....	[600]
F0904001_07 (CC)	...A.....	[600]
F0904001_08 (CC)	...A.....	[600]
F0904001_09 (CC)	...A.....	[600]
F0904001_10 (CC)	...A.....	[600]
F0709001_02 (JC)	[600]
F0712002_01 (JC)	[600]
F0712002_02 (JC)	[600]
F0712002_03 (JC)	[600]
F0712002_04 (JC)	[600]
F0712002_05 (JC)	[600]
F0904003_01 (JC)	[600]
F0904003_02 (JC)	[600]
F0904003_03 (JC)	[600]
F0904003_04 (JC)	[600]
F0904003_05 (JC)	[600]
F0904003_06 (JC)	[600]
F0904003_07 (JC)	[600]
F0904003_08 (JC)	[600]
F0904003_09 (JC)	[600]
F0904003_10 (JC)C.....	[600]
F0712001_01 (KC)	TGCTGCAGGG ATTACAATGC TCCTAACCGA TCGTAATCTA AACACTACCT TCTTTGACCC	[660]
F0709001_01 (KC)	[660]
F0712001_02 (KC)	[660]
F0712001_03 (KC)	[660]
F0712001_04 (KC)	[660]
F0712001_05 (KC)	[660]
F0904002_01 (KC)	[660]
F0904002_02 (KC)	[660]
F0904002_03 (KC)	[660]
F0904002_04 (KC)	[660]
F0904002_05 (KC)	[660]
F0904002_06 (KC)	[660]
F0904002_07 (KC)	[660]
F0904002_08 (KC)	[660]
F0904002_09 (KC)	[660]
F0904002_10 (KC)	[660]
F0801001_01 (KN)	[660]
F0801001_02 (KN)	[660]

F0701001_03 (KN)	[660]
F0701001_04 (KN)	[660]
F0701001_05 (KN)	[660]
F0701001_06 (KN)	[660]
F0708003_01 (CC)	[660]
F0904001_01 (CC)	[660]
F0904001_02 (CC)	[660]
F0904001_03 (CC)	[660]
F0904001_04 (CC)	[660]
F0904001_05 (CC)	[660]
F0904001_06 (CC)	[660]
F0904001_07 (CC)	[660]
F0904001_08 (CC)	[660]
F0904001_09 (CC)	[660]
F0904001_10 (CC)	[660]
F0709001_02 (JC)	[660]
F0712002_01 (JC)	[660]
F0712002_02 (JC)	[660]
F0712002_03 (JC)	[660]
F0712002_04 (JC)	[660]
F0712002_05 (JC)	[660]
F0904003_01 (JC)	[660]
F0904003_02 (JC)	[660]
F0904003_03 (JC)	[660]
F0904003_04 (JC)	[660]
F0904003_05 (JC)	[660]
F0904003_06 (JC)	[660]
F0904003_07 (JC)	[660]
F0904003_08 (JC)	[660]
F0904003_09 (JC)	[660]
F0904003_10 (JC)	[660]

F0712001_01 (KC)	AGCTGGAGGA GGAGACCCAA TTCTTTATCA ACACTTG	[697]
F0709001_01 (KC)		[697]
F0712001_02 (KC)		[697]
F0712001_03 (KC)		[697]
F0712001_04 (KC)		[697]
F0712001_05 (KC)		[697]
F0904002_01 (KC)		[697]
F0904002_02 (KC)		[697]
F0904002_03 (KC)		[697]
F0904002_04 (KC)		[697]
F0904002_05 (KC)		[697]
F0904002_06 (KC)		[697]
F0904002_07 (KC)		[697]
F0904002_08 (KC)		[697]

F0904002_09 (KC)	[697]
F0904002_10 (KC)	[697]
F0801001_01 (KN)	[697]
F0801001_02 (KN)	[697]
F0701001_03 (KN)	[697]
F0701001_04 (KN)	[697]
F0701001_05 (KN)	[697]
F0701001_06 (KN)	[697]
F0708003_01 (CC)	[697]
F0904001_01 (CC)	[697]
F0904001_02 (CC)	[697]
F0904001_03 (CC)	[697]
F0904001_04 (CC)	[697]
F0904001_05 (CC)	[697]
F0904001_06 (CC)	[697]
F0904001_07 (CC)	[697]
F0904001_08 (CC)	[697]
F0904001_09 (CC)	[697]
F0904001_10 (CC)	[697]
F0709001_02 (JC)	[697]
F0712002_01 (JC)	[697]
F0712002_02 (JC)	[697]
F0712002_03 (JC)	[697]
F0712002_04 (JC)	[697]
F0712002_05 (JC)	[697]
F0904003_01 (JC)	[697]
F0904003_02 (JC)	[697]
F0904003_03 (JC)	[697]
F0904003_04 (JC)	[697]
F0904003_05 (JC)	[697]
F0904003_06 (JC)	[697]
F0904003_07 (JC)	[697]
F0904003_08 (JC)	[697]
F0904003_09 (JC)	[697]
F0904003_10 (JC)	[697]

Table 8. 참돔의 COI 유전자 염기서열 분석 결과

- 개체 간 염기서열 비교에서 변이는 총 697bp 중 6개 위치에서 나타남
- 한국 자연산 참돔(KN)에서 상대적으로 다양한 종내 변이가 나타남; 그런데, 한국, 중국, 일본 집단을 구분하는 집단 간 변이는 뚜렷하지 않아 COI 유전자가 집단별 원산지 판별 분자마커로서는 유용하지 않

음을 보여줌; 다만, 일본 양식산의 경우 수 개체에서 특정 SNP를 보임
 - 각 집단에 특이적인 SNP는 70번째 염기 위치에서 일본(JC) 5개체가 G->A 치환을 보이며 544번째 위치에서 한국(KC) 6개체와 중국(CC) 8개체가 G->A 치환을 보임

F0712001_01(KC)	GGTGTTC	35555
F0709001_01(KC)C	73457
F0712001_02(KC)A	082404
F0712001_03(KC)A	
F0712001_04(KC)A	
F0712001_05(KC)A	
F0904002_01(KC)A	
F0904002_02(KC)A	
F0904002_03(KC)A	
F0904002_04(KC)A	
F0904002_05(KC)A	
F0904002_06(KC)A	
F0904002_07(KC)A	
F0904002_08(KC)A	
F0904002_09(KC)A	
F0904002_10(KC)A	
F0801001_01(KN)C	
F0701001_02(KN)C	
F0701001_03(KN)C	
F0701001_04(KN)C	
F0701001_05(KN)C	
F0701001_06(KN)C	
F0709003_01(CC)A	
F0904001_01(CC)A	
F0904001_02(CC)A	
F0904001_03(CC)A	
F0904001_04(CC)A	
F0904001_05(CC)A	
F0904001_06(CC)A	
F0904001_07(CC)A	
F0904001_08(CC)A	
F0904001_09(CC)A	
F0904001_10(CC)A	
F0709001_02(JC)A	
F0712002_01(JC)A	
F0712002_02(JC)A	
F0712002_03(JC)A	
F0712002_04(JC)A	
F0712002_05(JC)A	
F0904003_01(JC)A	
F0904003_02(JC)A	
F0904003_03(JC)A	
F0904003_04(JC)A	
F0904003_05(JC)A	
F0904003_06(JC)A	
F0904003_07(JC)A	
F0904003_08(JC)A	
F0904003_09(JC)A	
F0904003_10(JC)C	

Table 9. 참돔의 COI 유전자 염기서열 내 변이지역

- 분자 형질: COIII-ND3-ND4L-ND4 유전자 염기서열
 - 한국 양식산 5개체와 일본 양식산 5개체에서 COIII-ND3-ND4L-ND4 유전자의 염기서열 약 1.2kb를 분석하였음
 - 개체간의 차이가 발견되지 않아 개체 혹은 집단을 구별하는 마커로 사용하기에 유용하지 않은 것으로 나타남

[COIII-ND3-ND4L-ND4 gene]

- LOCUS COIII 부분: GTACATCTCAATCTACTGATGAGGCTCATA

- LOCUS ND3 부분

```

1 ATGAACCTGGTTACAACAATTCTCATTATTACCGCTATCCTCTCCATTATCCTAGCTATC
61 GTCTCCTTCTGACTTCCACAAATAAGCCCCGATTATGAAAAACTTTCCCCCTATGAATGC
121 GGCTTTGACCCGCTTGGATCAGCCCGACTCCCCTTCTCCCTTCGATTTTTCTCGTAGCA
181 ATTCTTTTCTTCTTTTTCGACCTAGAAATCGCCCTCCTCCTTCCACTCCCCTGAGGGGAC
241 CAACTGCCCTCCCCCTGCTAACCCTACTCTGAGCCTTCGCTGTTCTAGTCCTTCTTACC
301 CTAGGCCTTATTTACGAGTGGCTCCAAGGAGGACTCGAGTGGACTCGAGTGAGCCGAAT
  
```

- LOCUS ND4L 부분

```

1 ATGACCCCTGTTCACTTTACCTTCTCCTCCGCCTTTATGTTGGGCTTAACAGGCTTAGCG
61 CTCCACCGAACCCATCTTTTGTCTGCCCTTCTCTGCTTAGAAGGAATAATACTGTCCCTA
121 TTTATCGCTCTGTCCGGTATGAGCCCTTCAACTAAGCACAGTTAGCTTTTTCAGCTCCCC
  
```


181 CTCCTTCTCTTAGCATTCTCAGCTTGTGAGGCAAGTGCAGGATTAGCTCTACTAGTAGCT
241 ACTGCGCGCACTCACGGCTCTGATCACCTACAAAGCTTAAACCTCCTACAGTGCTAA

- LOCUS ND4 부분

1 GTGCTAAAAATCCTTCTCCCCACTCTTATGCTGGTCCCAACAATCTGGCAGCCCCCGCC
61 AAATGATTGTGACCTACAACCTTTCTCCACAGCTTCATTATTGCCCTAATCAGCCTTACC
121 TGATTAATTAACCTCTCAGAAGTCGGCTGATCCTCCCTCGGCCCTACCTGGCTACCGAC
181 CCCCTTTCTCCCCCTGCTAGTTTTAACCTGCTGACTCCTCCCCTTATAATTTTAGCC
241 AGTCAAACCATACCTCCACAGATCCAATTAACCGACAACGAATGTATATCACCCCTCCTC
301 ACATCCCTGCAATT

Table 10. 참돔의 COIII-ND3--ND4L-ND4 지역의 염기서열 분석 결과

나. 갈치의 형태 및 분자형질 분석

○ 형태 형질

- 갈치는 꼬리지느러미가 없이 몸체의 뒤쪽이 실처럼 가는 것이 특징임; 측선이 가슴지느러미 후단에서 급격히 아래쪽으로 향하고 그 뒤로는 배쪽을 따라 평행함; 윗턱 앞니가 안쪽으로 구부러져 있고 항문 앞까지 등지느러미 수가 39~42개임 (Nakabo, 2002)
- 수입산 갈치의 계측형질(전장, total length; 표준체장, anal length)와 계수형질(dorsal rays, pectoral rays)

표본 번호	Total length (cm)	Anal length (cm)	Dorsal rays (before anus)	Pectoral rays
F0803001-01	84.7	27.2	39	12
F0803001-02	80.6	25.6	41	11
F0803001-03	94.6	31.2	39	11
F0803001-04	83.5	30.5	41	11
F0803001-05	95.5	32.8	39	11
F0803001-06	92.2	31.1	39	11
F0803001-07	92.3	30.5	40	11
F0803001-08	93.8	33.4	42	11
F0803001-09	97.9	32.7	39	11
F0803001-10	98.5	33.6	39	12

Table 11. 채집된 갈치의 계측형질 및 계수형질

○ 분자 형질: COI 유전자 염기서열

- 총 88개체 시료에서 COI 유전자의 5'쪽 염기서열 652bp가 분석됨
- 원산지별 시료 ID와 분석된 염기서열은 Table 12와 13과 같음

시료명 series	원산지 표기	종명
F0708003	원양	<i>Trichiurus sp.</i>
F0802001~11	인도네시아	<i>Trichiurus lepturus</i>
F0802001~18	일본	<i>Trichiurus japonicus</i>
F0803001	일본	<i>Trichiurus japonicus</i>
F0804006	중국	<i>Trichiurus japonicus</i>
F0804008	인도	<i>Trichiurus sp.</i>
F0804009	인도네시아	<i>Trichiurus lepturus</i>
F0807001	제주도	<i>Trichiurus japonicus</i>
F0808004	돌산도	<i>Trichiurus japonicus</i>
F0808005	거문도	<i>Trichiurus japonicus</i>
F0808007~8	군산	<i>Trichiurus japonicus</i>
F0809001	거제도	<i>Trichiurus japonicus</i>

Table 12. COI 유전자가 분석된 갈치 시료의 ID와 종판별 결과

[COI gene]

F0708003_04 CCTCTACTTA GTATTTGGTG CATGAGCCGG AATGGTCGGC ACAGCCTTAA GCCTTCTTAT [60]
F0802001_04 A..... [60]
F0802001_06 A..... [60]
F0802001_08 A..... [60]
F0802001_09 A..... [60]
F0802001_10 A..... [60]
F0802001_11 A..... [60]
F0807001_05 C..... A.. [60]
F0807001_06 C..... A.. [60]
F0807001_07 C..... [60]
F0807001_08 C..... A.. [60]
F0807001_09 C..... A.. [60]
F0807001_10 C..... A.. [60]
F0802001_12 C..... [60]
F0802001_13 C..... [60]
F0802001_14 C..... A.. [60]
F0802001_16 C..... A.. [60]
F0802001_18 C..... A.. [60]
F0803001_14 C..... A.. [60]
F0803001_16 C..... [60]
F0803001_19 C..... A.. [60]
F0803001_20 C..... A.. [60]
F0804008_01 [60]
F0804008_03 [60]
F0804008_04 [60]
F0804008_11 [60]
F0804008_12 [60]
F0804008_13 [60]
F0804008_14 [60]
F0804008_15 [60]
F0804008_16 [60]
F0804008_17 [60]
F0804008_18 [60]
F0809001_01 C..... A.. [60]
F0809001_02 C..... A.. [60]
F0809001_03 C..... A.. [60]
F0809001_04 C..... A.. [60]
F0809001_05 C..... A.. [60]
F0809001_06 C..... [60]
F0809001_07 C..... A.. [60]
F0809001_08 C..... A.. [60]
F0809001_09 ?..... C..... A.. [60]
F0809001_10 C..... A.. [60]

F0804009_09	A	[60]
F0804009_10	A	[60]
F0804009_12	A	[60]
F0804009_13	A	[60]
F0804009_14	A	[60]
F0804009_17	A	[60]
F0804009_21	A	[60]
F0804009_22	A	[60]
F0804009_23	A	[60]
F0804009_24	A	[60]
F0804009_25	A	[60]
F0804009_26	A	[60]
F0804009_27	A	[60]
F0804009_28	A	[60]
F0804006_33	C	A [60]
F0804006_34	C	[60]
F0804006_35	C	A [60]
F0804006_36	C	A [60]
F0804006_37	C	[60]
F0804006_39	C	A [60]
F0804006_40	C	A [60]
F0804006_41	C	A [60]
F0804006_42	C	A [60]
F0808007_01	C	A [60]
F0808007_05	C	A [60]
F0808008_01	C	[60]
F0808008_02	C	A [60]
F0808008_03	C	A [60]
F0808008_04	C	A [60]
F0808008_05	C	A [60]
F0808008_06	C	[60]
F0808008_07	C	A [60]
F0808008_08	C	A [60]
F0808008_09	C	A [60]
F0808008_10	C	A [60]
F0808004_01	C	[60]
F0808004_02	C	A [60]
F0808004_03	C	[60]
F0808004_04	C	[60]
F0808004_05	C	A [60]
F0808005_01	C	A [60]
F0808005_02	C	A [60]
F0808005_03	C	A [60]
F0808005_04	C	A [60]
F0808005_05	C	A [60]

F0708003_04 CCGAGCAGAA CTAAGCCAGC CAGGCTCCCT CCTGGGCGAT GATCAAATCT ACAATGTTAT [120]
F0802001_04 ...C....GA.C....T. .T..... [120]
F0802001_06 ...C....GA.C....T. .T..... [120]
F0802001_08 ...C....GA.C....T. .T..... [120]
F0802001_09 ...C....GA.C....T. .T..... [120]
F0802001_10 ...C....GA.C....T. .T..... [120]
F0802001_11 ...C....GA.T...C....T. .T..... [120]
F0807001_05T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0807001_06T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0807001_07T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0807001_08T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0807001_09T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0807001_10T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0802001_12T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0802001_13T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0802001_14T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0802001_16T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0802001_18T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0803001_14T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0803001_16T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0803001_19T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0803001_20G...T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0804008_01G.....A..... [120]
F0804008_03G.....A..... [120]
F0804008_04G..... [120]
F0804008_11 [120]
F0804008_12C..... [120]
F0804008_13 [120]
F0804008_14 [120]
F0804008_15 [120]
F0804008_16 [120]
F0804008_17 [120]
F0804008_18 [120]
F0809001_01T.A.?A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0809001_02T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0809001_03T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0809001_04T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0809001_05T.A.A.G...C....T. .T....C.. [120]
F0809001_06T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0809001_07T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0809001_08T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0809001_09T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0809001_10T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
F0804009_09 ...C....GA.C....T. .T..... [120]
F0804009_10 ...C....GA.C....T. .T..... [120]
F0804009_12 ...C....GA.C....T. .T..... [120]

F0804009_13 ...C....GA.C....T. .T..... [120]
 F0804009_14 ...C....GA.C....T. .T..... [120]
 F0804009_17 ...C....GA.T...C....T. .T..... [120]
 F0804009_21 ...C....GA.C....T. .T..... [120]
 F0804009_22 ...C....GA.C....T. .T..... [120]
 F0804009_23 ...C....GA.C....T. .T..... [120]
 F0804009_24 ...C....GA.T...C....T. .T..... [120]
 F0804009_25 ...C....GA.C....T. .T..... [120]
 F0804009_26 ...C....GA.T...C....T. .T..... [120]
 F0804009_27 ...C....GA.T...C....T. .T..... [120]
 F0804009_28 ...C....GA.T...C....T. .T..... [120]
 F0804006_33T.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0804006_34T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0804006_35T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0804006_36T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0804006_37T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0804006_39T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0804006_40T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0804006_41T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0804006_42T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808007_01T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808007_05T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808008_01T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808008_02T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808008_03T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808008_04T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808008_05T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808008_06T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808008_07T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808008_08T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808008_09T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808008_10T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808004_01T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808004_02T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808004_03T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808004_04T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808004_05T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808005_01T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808005_02T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808005_03T.....A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808005_04T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]
 F0808005_05T.A.A.A...C....T. .T....C.. [120]

 F0708003_04 TGTACAGCC CATGCCTTCG TAATGATTTT CTTTATAGTA ATGCCAATTA TGATTGGAGG [180]
 F0802001_04 C..C..... .G..A..... .A....C..... [180]
 F0802001_06 C..C..... .G..A..... .A....C..... [180]

F0802001_08	C..C.....	.G..A.....	.A.....C.....	[180]
F0802001_09	C..C.....	.G..A.....	.A.....C.....	[180]
F0802001_10	C..C.....	.G..A.....	.A.....C.....	[180]
F0802001_11	C..C.....	.G..A.....	.A.....C.....	[180]
F0807001_05	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0807001_06	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0807001_07	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0807001_08	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0807001_09	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0807001_10	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0802001_12	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0802001_13	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0802001_14	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0802001_16	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0802001_18	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0803001_14	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0803001_16	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0803001_19	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0803001_20	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0804008_01	[180]
F0804008_03	[180]
F0804008_04	[180]
F0804008_11	[180]
F0804008_12	[180]
F0804008_13	[180]
F0804008_14	[180]
F0804008_15	[180]
F0804008_16	[180]
F0804008_17	[180]
F0804008_18	[180]
F0809001_01	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0809001_02	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0809001_03	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0809001_04	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0809001_05	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0809001_06	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0809001_07	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0809001_08	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0809001_09	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0809001_10	C.....	.A..C.....	.C.....	[180]
F0804009_09	C..C.....	.G..A.....	.A.....C.....	[180]
F0804009_10	C..C.....	.G..A.....	.A.....C.....	[180]
F0804009_12	C..C.....	.G..A.....	.A.....C.....	[180]
F0804009_13	C..C.....	.G..A.....	.A.....C.....	[180]
F0804009_14	C..C.....	.G..A.....	.A.....C.....	[180]
F0804009_17	C..C.....	.G..A.....	.A.....C.....	[180]

F0804009_21 C..C..... .G..A..... .A.....C..... [180]
 F0804009_22 C..C..... .G..A..... .A.....C..... [180]
 F0804009_23 C..C..... .G..A..... .A.....C..... [180]
 F0804009_24 C..C..... .G..A..... .A.....C..... [180]
 F0804009_25 C..C..... .G..A..... .A.....C..... [180]
 F0804009_26 C..C..... .G..A..... .A.....C..... [180]
 F0804009_27 C..C..... .G..A..... .A.....C..... [180]
 F0804009_28 C..C..... .G..A..... .A.....C..... [180]
 F0804006_33 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0804006_34 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0804006_35 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0804006_36 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0804006_37 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0804006_39 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0804006_40 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0804006_41 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0804006_42 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808007_01 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808007_05 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808008_01 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808008_02 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808008_03 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808008_04 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808008_05 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808008_06 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808008_07 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808008_08 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808008_09 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808008_10 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808004_01 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808004_02 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808004_03 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808004_04 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808004_05 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808005_01 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808005_02 C..C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808005_03 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808005_04 C..... .A..C..... .C..... [180]
 F0808005_05 C..... .A..C..... .C..... [180]

 F0708003_04 ATTTCGGAAC TGACTCATCC CCCTAATAAT TGGAGCCCC GATATAGCCT TCCCACGAAT [240]
 F0802001_04 G..... .T..T.G..G.. .G.....T..C..G..A.T..... [240]
 F0802001_06 G..... .T..T.G..G.. .G.....T..C..G..A.T..... [240]
 F0802001_08 G..... .T..T.G..G.. .G.....T..C..G..A.T..... [240]
 F0802001_09 G..... .T..T.G..G.. .G.....T..C..G..A.T..... [240]
 F0802001_10 G..... .T..T.G..G.. .G.....T..C..G..A.T..... [240]

F0802001_11 G.....T.T....G.G...G...T.C.G.A....T.... [240]
 F0807001_05 ...T.....G.T.....G...G.....C.G....C.... [240]
 F0807001_06 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0807001_07 ...T.....G.T.....G...G.....C.G....C.... [240]
 F0807001_08 ...T.....G.T.....G...G.....C.G....C.... [240]
 F0807001_09 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0807001_10 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0802001_12 ...T.....G.T.....G...G.....C.G....C.... [240]
 F0802001_13 ...T.....G.T.....G...G.....C.G....C.... [240]
 F0802001_14 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0802001_16 ...T.....G.T.....G...G.....C.G....C.... [240]
 F0802001_18 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0803001_14 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0803001_16 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0803001_19 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0803001_20 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0804008_01G..... [240]
 F0804008_03C..... [240]
 F0804008_04G..... [240]
 F0804008_11G..... [240]
 F0804008_12 [240]
 F0804008_13G..... [240]
 F0804008_14 [240]
 F0804008_15 [240]
 F0804008_16G..... [240]
 F0804008_17G..... [240]
 F0804008_18G..... [240]
 F0809001_01 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0809001_02 ...T.....G.T.....G...G.....C.G....C.... [240]
 F0809001_03 ...T.....G.T.....G...G.....C.G....C.... [240]
 F0809001_04 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0809001_05 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0809001_06 ...T.....G.T.....G...G.....C.G....C.... [240]
 F0809001_07 ...T.....G.T.....G...G.....C.G....C.... [240]
 F0809001_08 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0809001_09 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0809001_10 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0804009_09 G.....T.T....G.G...G...T.C.G.A..... [240]
 F0804009_10 G.....T.T....G.G...G...T.C.G.A....T.... [240]
 F0804009_12 G.....T.T....G.G...G...T.C.G.A....T.... [240]
 F0804009_13 G.....T.T....G.G...G...T.C.G.A....T.... [240]
 F0804009_14 G.....T.T....G.G...G...T.C.G.A....T.... [240]
 F0804009_17 G.....T.T....G.G...G...T.C.G.A....T.... [240]
 F0804009_21 G.....T.T....G.G...G...T.C.G.A....T.... [240]
 F0804009_22 G.....T.T....G.G...G...T.C.G.A....T.... [240]
 F0804009_23 G.....T.T....G.G...G...T.C.G.A....T.... [240]

F0804009_24 G.....T.T....G.G...G...T.C.G.A....T.... [240]
 F0804009_25 G.....T.T....G.G...G...T.C.G.A..... [240]
 F0804009_26 G.....T.T....G.G...G...T.C.G.A....T.... [240]
 F0804009_27 G.....T.T....G.G...G...T.C.G.A....T.... [240]
 F0804009_28 G.....T.T....G.G...G...T.C.G.A....T.... [240]
 F0804006_33 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0804006_34 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0804006_35 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0804006_36 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0804006_37 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0804006_39 ...T.....G.T.....G..G.....C.G....C.... [240]
 F0804006_40 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0804006_41 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0804006_42 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808007_01 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808007_05 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808008_01 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808008_02 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808008_03 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808008_04 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808008_05 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808008_06 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808008_07 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808008_08 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808008_09 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808008_10 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808004_01 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808004_02 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808004_03 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808004_04 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808004_05 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808005_01 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808005_02 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808005_03 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808005_04 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]
 F0808005_05 ...T.....G.T.....G..C.G.....C.G....C.... [240]

 F0708003_04 GAACAATATA AGCTTCTGAC TCCTACCCCC CTCGTTTCCTT CTCCTACTGG CTTCTTCCGG [300]
 F0802001_04 ...T.C... ..G..T.....T.T....C....T.A..C..... [300]
 F0802001_06 ...T.C... ..G..T.....T.T....C....T.A..C..... [300]
 F0802001_08 ...T.C... ..G..T.....T.T....C....T.A..C..... [300]
 F0802001_09 ...T.C... ..G..T.....T.T....C....T.A..C..... [300]
 F0802001_10 ...T.C... ..G..T.....T.T....C....T.A..C..... [300]
 F0802001_11 ...T.C... ..G..T.....T.T....C....T.A..C..... [300]
 F0807001_05 A..T....G.....T.....C.T.C..T.C.A..C..C...C [300]
 F0807001_06 A..T....G.....T.....C.T.C..T.C.A..C..C...C [300]

F0807001_07 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0807001_08 A..T.....GC..T..C..T..C..C..C..C....C [300]
 F0807001_09 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0807001_10 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0802001_12 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0802001_13 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0802001_14 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0802001_16 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0802001_18 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0803001_14 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0803001_16 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0803001_19 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0803001_20 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0804008_01 [300]
 F0804008_03 [300]
 F0804008_04 [300]
 F0804008_11 [300]
 F0804008_12 [300]
 F0804008_13 [300]
 F0804008_14 [300]
 F0804008_15 A..... [300]
 F0804008_16 [300]
 F0804008_17 [300]
 F0804008_18 [300]
 F0809001_01 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0809001_02 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0809001_03 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0809001_04 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0809001_05 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0809001_06 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0809001_07 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0809001_08 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0809001_09 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0809001_10 A..T.....GT.....C..T..C..T..C..A..C..C....C [300]
 F0804009_09 ...T..C... ..G..T.....T..T....C.....T..A..C..... [300]
 F0804009_10 ...T..C... ..G..T.....T..T....C.....T..A..C..... [300]
 F0804009_12 ...T..C... ..G..T.....T..T....C.....T..A..C..... [300]
 F0804009_13 ...T..C... ..G..T.....T..T....C.....T..A..C..... [300]
 F0804009_14 ...T..C... ..G..T.....T..T....C.....T..A..C..... [300]
 F0804009_17 ...T..C... ..G..T.....T..T....C.....T..A..C..... [300]
 F0804009_21 ...T..C... ..G..T.....T..T....C.....T..A..C..... [300]
 F0804009_22 ...T..C... ..G..T.....T..T....C.....T..A..C..... [300]
 F0804009_23 ...T..C... ..G..T.....T..T....C.....T..A..C..... [300]
 F0804009_24 ...T..C... ..G..T.....T..T....C.....T..A..C..... [300]
 F0804009_25 ...T..C... ..G..T.....T..T....C.....T..A..C..... [300]
 F0804009_26 ...T..C... ..G..T.....T..T....C.....T..A..C..... [300]

F0804009_27 ...T..C... ..G. .T..... T..T....CT..A. .C..... [300]
 F0804009_28 ...T..C... ..G. .T..... T..T....CT..A. .C..... [300]
 F0804006_33 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0804006_34 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0804006_35 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0804006_36 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0804006_37 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0804006_39 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0804006_40 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0804006_41 A..T....GT..G..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0804006_42 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808007_01 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808007_05 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808008_01 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808008_02 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808008_03 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808008_04 A..T..... ..T..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808008_05 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808008_06 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808008_07 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808008_08 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808008_09 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808008_10 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808004_01 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808004_02 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808004_03 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808004_04 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808004_05 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808005_01 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808005_02 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808005_03 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808005_04 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]
 F0808005_05 A..T....GT..... .C..T..C ..T..C..A. .C..C....C [300]

 F0708003_04 AGTTGAAGCA GGGGCCGGAA CTGGTTGAAC AGTCTACCCC CCACTAGCCG GCAACCTGGC [360]
 F0802001_04C..... ..T..... ..A.. [360]
 F0802001_06C..... ..T..... ..A.. [360]
 F0802001_08C..... ..T..... ..A.. [360]
 F0802001_09C..... ..T..... ..A.. [360]
 F0802001_10C..... ..T..... ..A.. [360]
 F0802001_11C..... ..T..... ..A.. [360]
 F0807001_05G... ..G..T..T... ..T..G..T..A.. [360]
 F0807001_06G... ..G..T..T... ..T..G..T..A.. [360]
 F0807001_07G... ..G..T..T... ..T..G..T..A.. [360]
 F0807001_08G... ..G..T..T... ..T..G..T..A.. [360]
 F0807001_09G... ..G..T..T... ..T..G..T..A.. [360]

F0807001_10G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0802001_12G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0802001_13G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0802001_14G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0802001_16G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0802001_18G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0803001_14G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0803001_16G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0803001_19G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0803001_20G... .. G...T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0804008_01 [360]
 F0804008_03 [360]
 F0804008_04 [360]
 F0804008_11 [360]
 F0804008_12 [360]
 F0804008_13 [360]
 F0804008_14 [360]
 F0804008_15 [360]
 F0804008_16 [360]
 F0804008_17 [360]
 F0804008_18 [360]
 F0809001_01G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0809001_02G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0809001_03G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0809001_04G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0809001_05G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0809001_06G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0809001_07G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0809001_08G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0809001_09G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0809001_10G... .. G..T..T... ..T. .G..T..A.. [360]
 F0804009_09C.....T.....A.. [360]
 F0804009_10C.....T.....A.. [360]
 F0804009_12C.....T.....A.. [360]
 F0804009_13C.....T.....A.. [360]
 F0804009_14C.....T.....A.. [360]
 F0804009_17C.....T.....A.. [360]
 F0804009_21C.....T.....A.. [360]
 F0804009_22C.....T.....A.. [360]
 F0804009_23C.....T.....A.. [360]
 F0804009_24C.....T.....A.. [360]
 F0804009_25C.....T.....A.. [360]
 F0804009_26C.....T.....A.. [360]
 F0804009_27C.....T.....A.. [360]
 F0804009_28C.....T.....A.. [360]
 F0804006_33G...T... ..T. .G..T..A.. [360]

F0804006_34G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0804006_35G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0804006_36G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0804006_37G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0804006_39G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0804006_40G..... G.....T.....T..G..T..A.. [360]
 F0804006_41G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0804006_42G..... G.....T.....T..A..T..A.. [360]
 F0808007_01G..... G..T..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808007_05G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808008_01G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808008_02G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808008_03G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808008_04G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808008_05G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808008_06G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808008_07G..... G.....T.....T..A..T..A.. [360]
 F0808008_08G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808008_09G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808008_10G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808004_01G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808004_02G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808004_03G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808004_04G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808004_05G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808005_01G..... G.....T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808005_02G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808005_03G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808005_04G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]
 F0808005_05G..... G..T..T.....T..G..T..A.. [360]

 F0708003_04 ACACGCGGGC GCATCAGTTG ACTTAACTAT CTTCTCCCTC CATCTGGCAG GAATTTCTTC [420]
 F0802001_04A.....C.....T.....T.A..... [420]
 F0802001_06A.....C.....T.....T.A..... [420]
 F0802001_08A.....C.....T.....T.A..... [420]
 F0802001_09A.....C.....T.....T.A..... [420]
 F0802001_10A.....C.....T.....T.A..... [420]
 F0802001_11A.....C.....T.....T.A..... [420]
 F0807001_05A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0807001_06A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0807001_07A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0807001_08A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0807001_09A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0807001_10A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0802001_12A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0802001_13A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]

F0802001_14A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0802001_16A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0802001_18A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0803001_14A.....C..T..T.....T..CT.....C..... [420]
 F0803001_16A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0803001_19A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0803001_20A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0804008_01 [420]
 F0804008_03 [420]
 F0804008_04 [420]
 F0804008_11 [420]
 F0804008_12 [420]
 F0804008_13 [420]
 F0804008_14 [420]
 F0804008_15 [420]
 F0804008_16 [420]
 F0804008_17 [420]
 F0804008_18 [420]
 F0809001_01A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0809001_02A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0809001_03A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0809001_04A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0809001_05A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0809001_06A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0809001_07A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0809001_08A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0809001_09A.....C..T..T.....CT.A.....C..... [420]
 F0809001_10A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0804009_09A.....C..T.....T.A..... [420]
 F0804009_10A.....C..T.....T.A..... [420]
 F0804009_12A.....C..T.....T.A..... [420]
 F0804009_13A.....C..T.....T.A..... [420]
 F0804009_14A.....C..T.....T.A..... [420]
 F0804009_17A.....C..T.....T.A..... [420]
 F0804009_21A.....C..T.....T.A..... [420]
 F0804009_22A.....C..T.....T.A..... [420]
 F0804009_23A.....C..T.....T.A..... [420]
 F0804009_24A.....C..T.....T.A..... [420]
 F0804009_25A.....C..T.....T.A..... [420]
 F0804009_26A.....C..T.....T.A..... [420]
 F0804009_27A.....C..T.....T.A..... [420]
 F0804009_28A.....C..T.....T.A..... [420]
 F0804006_33A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0804006_34A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0804006_35A.....C..T..T.....CT.A.....C..... [420]
 F0804006_36A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]

F0804006_37A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0804006_39A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0804006_40A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0804006_41A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0804006_42A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808007_01A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808007_05A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808008_01A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808008_02A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808008_03A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808008_04A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808008_05A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808008_06A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808008_07A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808008_08A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808008_09A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808008_10A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808004_01A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808004_02A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808004_03A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808004_04A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808004_05A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808005_01A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808005_02A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808005_03A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808005_04A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]
 F0808005_05A.....C..T..T.....CT.....C..... [420]

F0708003_04 CATCTTAGGC GCCATTAAC TCATTACAAC GATTCTAAAC ATGAAGCCTG CAGCCATTAC [480]
 F0802001_04T.....C....G.....T....C.. [480]
 F0802001_06T.....C....G.....T....C.. [480]
 F0802001_08T.....C....G.....T....C.. [480]
 F0802001_09T.....C....G.....T....C.. [480]
 F0802001_10T.....C....G.....T....C.. [480]
 F0802001_11T.....C....G.....T....C.. [480]
 F0807001_05G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0807001_06G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0807001_07G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0807001_08G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0807001_09G.....T.....C.....A....G..T..C.. [480]
 F0807001_10G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0802001_12G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0802001_13G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0802001_14G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0802001_16G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0802001_18G.....T.....C.....A....G....C.. [480]

F0803001_14G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0803001_16G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0803001_19G.....T.....C.....A....G..T..C.. [480]
 F0803001_20G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0804008_01 [480]
 F0804008_03 [480]
 F0804008_04 [480]
 F0804008_11 [480]
 F0804008_12 [480]
 F0804008_13 [480]
 F0804008_14 [480]
 F0804008_15 [480]
 F0804008_16 [480]
 F0804008_17 [480]
 F0804008_18 [480]
 F0809001_01G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0809001_02G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0809001_03G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0809001_04G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0809001_05G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0809001_06G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0809001_07G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0809001_08G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0809001_09G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0809001_10G.....C.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0804009_09T.....C.....G.....T....C.. [480]
 F0804009_10T.....C.....G.....T....C.. [480]
 F0804009_12T.....C.....G.....T....C.. [480]
 F0804009_13T.....C.....G.....T....C.. [480]
 F0804009_14T.....C.....G.....T....C.. [480]
 F0804009_17T.....C.....G.....T....C.. [480]
 F0804009_21T.....C.....G.....T....C.. [480]
 F0804009_22T.....C.....G.....T....C.. [480]
 F0804009_23T.....C.....G.....T....C.. [480]
 F0804009_24T.....C.....G.....T....C.. [480]
 F0804009_25T.....C.....G.....T....C.. [480]
 F0804009_26T.....C.....G.....T....C.. [480]
 F0804009_27T.....C.....G.....T....C.. [480]
 F0804009_28T.....C.....G.....T....C.. [480]
 F0804006_33G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0804006_34G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0804006_35G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0804006_36G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0804006_37G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0804006_39G.....T.....C.....A....G....C.. [480]
 F0804006_40G.....T.....C.....A....G....C.. [480]

F0804006_41G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0804006_42G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808007_01G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808007_05G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808008_01G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808008_02G.....T.....C.....A.....G..T..C.. [480]
 F0808008_03G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808008_04G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808008_05G.....T.....C.....A.....G..T..C.. [480]
 F0808008_06G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808008_07G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808008_08G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808008_09G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808008_10G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808004_01G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808004_02G.....T.....C.....A.....G..T..C.. [480]
 F0808004_03G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808004_04G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808004_05G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808005_01G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808005_02G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808005_03G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808005_04G.....T.....C.....A.....G.....C.. [480]
 F0808005_05G.....T.....C.....A.....G..T..C.. [480]

F0708003_04 **CCAATTTCAA ACCCCCTTGT TCGTCTGATC AGTCCTAATT ACAGCTGTCC TCCTACTTCT** [540]
 F0802001_04G.....TC.....G.....G.....T..... [540]
 F0802001_06G.....TC.....G.....G.....T..... [540]
 F0802001_08G.....TC.....G.....G.....T..... [540]
 F0802001_09G.....TC.....G.....G.....T..... [540]
 F0802001_10G.....TC.....G.....G.....T..... [540]
 F0802001_11G.....TC.....G.....G.....T..... [540]
 F0807001_05 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0807001_06 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0807001_07 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0807001_08 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0807001_09 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0807001_10 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0802001_12 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0802001_13 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0802001_14 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0802001_16 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0802001_18 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0803001_14 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0803001_16 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0803001_19 ...G.....TC.....T..T..... [540]

F0803001_20	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0804008_01	[540]
F0804008_03	[540]
F0804008_04	[540]
F0804008_11	[540]
F0804008_12	[540]
F0804008_13	[540]
F0804008_14	[540]
F0804008_15	[540]
F0804008_16	[540]
F0804008_17	[540]
F0804008_18	[540]
F0809001_01	..G.....TC.....T..T.....C.....	[540]
F0809001_02	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0809001_03	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0809001_04	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0809001_05	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0809001_06	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0809001_07	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0809001_08	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0809001_09	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0809001_10	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0804009_09G.....TC.....G.....G.....T.....	[540]
F0804009_10G.....TC.....G.....G.....T.....	[540]
F0804009_12G.....TC.....G.....G.....T.....	[540]
F0804009_13G.....TC.....G.....G.....T.....	[540]
F0804009_14G.....TC.....G.....G.....T.....	[540]
F0804009_17G.....TC.....G.....G.....T.....	[540]
F0804009_21G.....TC.....G.....G.....T.....	[540]
F0804009_22G.....TC.....G.....G.....T.....	[540]
F0804009_23G.....TC.....G.....G.....T.....	[540]
F0804009_24G.....TC.....G.....G.....T.....	[540]
F0804009_25G.....TC.....G.....G.....T.....	[540]
F0804009_26G.....TC.....G.....G.....T.....	[540]
F0804009_27G.....TC.....G.....G.....T.....	[540]
F0804009_28G.....TC.....G.....G.....T.....	[540]
F0804006_33	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0804006_34	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0804006_35	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0804006_36	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0804006_37	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0804006_39	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0804006_40	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0804006_41	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0804006_42	..G.....TC.....T..T.....	[540]
F0808007_01	..G.....TC.....T..T.....	[540]

F0808007_05 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808008_01 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808008_02 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808008_03 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808008_04 ...G.....TC.....T.....T..... [540]
 F0808008_05 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808008_06 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808008_07 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808008_08 ...G.....TC.....T..... [540]
 F0808008_09 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808008_10 ...G.....TC.....T..T.....C..... [540]
 F0808004_01 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808004_02 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808004_03 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808004_04 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808004_05 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808005_01 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808005_02 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808005_03 ...G.....TC.....T..T..... [540]
 F0808005_04 ...G.....TC.....T..T.....C..... [540]
 F0808005_05 ...G.....TC.....T..T..... [540]

F0708003_04 CTCCTGCCA GTTCTTGCCG CTGGAATTAC AATGCTCCTG ACTGACCGCA ACCTAAACAC [600]
 F0802001_04 T....A... ..A..C.....T..A.....T..T.... [600]
 F0802001_06 T....A... ..A..C.....T..A.....T..T.... [600]
 F0802001_08 T....A... ..A..C.....T..A.....T..T.... [600]
 F0802001_09 T....A... ..A..C.....T..A.....T..T.... [600]
 F0802001_10 T....A... ..A..C.....T..A.....T..T.... [600]
 F0802001_11 T....A... ..A..C.....T..A.....T..T.... [600]
 F0807001_05 T....C... ..A.....A.....A.....T..T.... [600]
 F0807001_06 T....C... ..A.....A.....A.....T..T.... [600]
 F0807001_07 T....C... ..A.....A.....A.....T..T.... [600]
 F0807001_08 T....C... ..A.....A.....A.....T..T.... [600]
 F0807001_09C... ..C.....A.....A.....A.....T..T.... [600]
 F0807001_10 T....C... ..A.....A.....A.....T..T.... [600]
 F0802001_12 T....C... ..A.....A.....A.....T..T.... [600]
 F0802001_13 T....C... ..A.....A.....A.....T..T.... [600]
 F0802001_14 T....C... ..A.....A.....A.....T..T.... [600]
 F0802001_16 T....C... ..A.....A.....A.....T..T.... [600]
 F0802001_18 T....C... ..A.....A.....A.....T..T.... [600]
 F0803001_14 T....C... ..A.....A.....A.....T..T.... [600]
 F0803001_16 T....C... ..A.....A.....A.....T..T.... [600]
 F0803001_19C... ..C.....A.....A.....A.....T..T.... [600]
 F0803001_20 T....C... ..A.....A.....A.....T..T.... [600]
 F0804008_01 [600]
 F0804008_03 [600]

F0804008_04	[600]
F0804008_11	[600]
F0804008_12	[600]
F0804008_13	[600]
F0804008_14	[600]
F0804008_15	[600]
F0804008_16	[600]
F0804008_17	[600]
F0804008_18	[600]
F0809001_01C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0809001_02	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0809001_03	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0809001_04	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0809001_05	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0809001_06	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0809001_07	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0809001_08	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0809001_09	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T..T..	[600]
F0809001_10C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0804009_09	T.....A.....A..C.....T..A.....T..T.....	[600]
F0804009_10	T.....A.....A..C.....T..A.....T..T.....	[600]
F0804009_12	T.....A.....A..C.....T..A.....T..T.....	[600]
F0804009_13	T.....A.....A..C.....T..A.....T..T.....	[600]
F0804009_14	T.....A.....A..C.....T..A.....T..T.....	[600]
F0804009_17	T.....A.....A..C.....T..A.....T..T.....	[600]
F0804009_21	T.....T.A.....A..C.....T..A.....T..T.....	[600]
F0804009_22	T.....A.....A..C.....T..A.....T..T.....	[600]
F0804009_23	T.....A.....A..C.....T..A.....T..T.....	[600]
F0804009_24	T.....A.....A..C.....T..A.....T..T.....	[600]
F0804009_25	T.....A.....A..C.....T..A.....T..T.....	[600]
F0804009_26	T.....A.....A..C.....T..A.....T..T.....	[600]
F0804009_27	T.....A.....A..C.....T..A.....T..T.....	[600]
F0804009_28	T.....A.....A..C.....T..A.....T..T.....	[600]
F0804006_33	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T.....	[600]
F0804006_34	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0804006_35	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0804006_36	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0804006_37	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0804006_39	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0804006_40	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0804006_41	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0804006_42	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0808007_01	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0808007_05	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0808008_01	T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]
F0808008_02C.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T.....	[600]

F0808008_03 T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808008_04 T.....C.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808008_05C.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808008_06 T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808008_07 T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808008_08 T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808008_09 T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808008_10C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808004_01 T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808004_02C.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808004_03 T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808004_04 T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808004_05C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808005_01 T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808005_02 T.....C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808005_03C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808005_04C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]
 F0808005_05C.....A.....A.....A.....A.....T..T..... [600]

F0708003_04 CACATTCTTT GACCCTGCAG GAGGGGAGA CCAATCCTT TACCAACACT TA [652]
 F0802001_04 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0802001_06 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0802001_08 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0802001_09 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0802001_10 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0802001_11 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0807001_05 T..C.....C.....A.....G..... [652]
 F0807001_06 T..C.....C.....A.....G..... [652]
 F0807001_07 T..C.....C.....A.....G..... [652]
 F0807001_08 T..C.....C.....A.....G..... [652]
 F0807001_09 ..C.....C.....A.....G..... [652]
 F0807001_10 T..C.....C.....A.....G..... [652]
 F0802001_12 T..C.....C.....A.....G..... [652]
 F0802001_13 T..C.....C.....A.....G..... [652]
 F0802001_14 T..C.....C.....A.....G..... [652]
 F0802001_16 T..C.....C.....A.....G..... [652]
 F0802001_18 T..C.....C.....A.....G..... [652]
 F0803001_14 T..C.....C.....A.....G..... [652]
 F0803001_16 T..C.....C.....A.....G..... [652]
 F0803001_19 ..C.....C.....A.....G..... [652]
 F0803001_20 T..C.....C.....A.....G..... [652]
 F0804008_01 [652]
 F0804008_03 [652]
 F0804008_04 [652]
 F0804008_11 [652]
 F0804008_12 [652]

F0804008_13 [652]
 F0804008_14 [652]
 F0804008_15 [652]
 F0804008_16 [652]
 F0804008_17 [652]
 F0804008_18 [652]
 F0809001_01 ...C.....C.....A.....G [652]
 F0809001_02 T..C.....C.....A..G.....G [652]
 F0809001_03 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0809001_04 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0809001_05 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0809001_06 .T.C.....C.....A.....G [652]
 F0809001_07 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0809001_08 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0809001_09 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0809001_10 ...C.....C.....A.....G [652]
 F0804009_09 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0804009_10 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0804009_12 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0804009_13 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0804009_14 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0804009_17 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0804009_21 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0804009_22 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0804009_23 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0804009_24 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0804009_25 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0804009_26 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0804009_27 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0804009_28 T.....C..G.....A.....T.A.....G..... [652]
 F0804006_33 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0804006_34 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0804006_35 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0804006_36 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0804006_37 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0804006_39 T..C.....C.....A..G.....G [652]
 F0804006_40 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0804006_41 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0804006_42 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0808007_01 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0808007_05 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0808008_01 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0808008_02 ...C.....C.....A.....G [652]
 F0808008_03 T..C.....C.....A.....G [652]
 F0808008_04 T..C.....C.....A.....G.....G.....G [652]
 F0808008_05 ...C.....C.....A.....G [652]

F0808008_06	T..C.....	T..C.....	A.....	G.....	[652]
F0808008_07	T..C.....	C.....	A.....	G.....G.....	[652]
F0808008_08	T..C.....	C.....	A.....	G.....	[652]
F0808008_09	T..C.....	C.....	A.....	G.....	[652]
F0808008_10	...C.....	C.....	A.....	G.....	[652]
F0808004_01	T..C.....	C.....	A.....	G.....	[652]
F0808004_02	...C.....	C.....	A.....	G.....	[652]
F0808004_03	T..C.....	C.....	A.....	G.....	[652]
F0808004_04	T..C.....	C.....	A.....	G.....	[652]
F0808004_05	...C.....	C.....	A.....	G.....	[652]
F0808005_01	T..C.....	C.....	A.....	G.....	[652]
F0808005_02	T..C.....	C.....	A.....	G.....	[652]
F0808005_03	...C.....	C.....	A.....	G.....	[652]
F0808005_04	...C.....	C.....	A.....	G.....	[652]
F0808005_05	...C.....	C.....	A.....	G.....	[652]

Table 13. 갈치의 COI 유전자 염기서열 분석 결과

- COI 유전자의 652bp 위치 중 변이가 117위치에서 나타남

- 한국, 일본, 중국산 갈치는 *Trichiurus japonicus*, 인도네시아산 갈치는 *Trichiurus lepturus*, 인도와 원양산 갈치는 *Trichiurus sp.*로 분석됨
- 세 종 간에는 COI 염기서열에서 10% 이상의 차이가 나타나 COI 유전자가 종을 구분하는 분명한 분자마커로 유용함을 드러냄
- COI 유전자 염기서열의 분자계통도는 Figure 20과 같음 (Neighbor Joining method, Tamura-Nei Model)

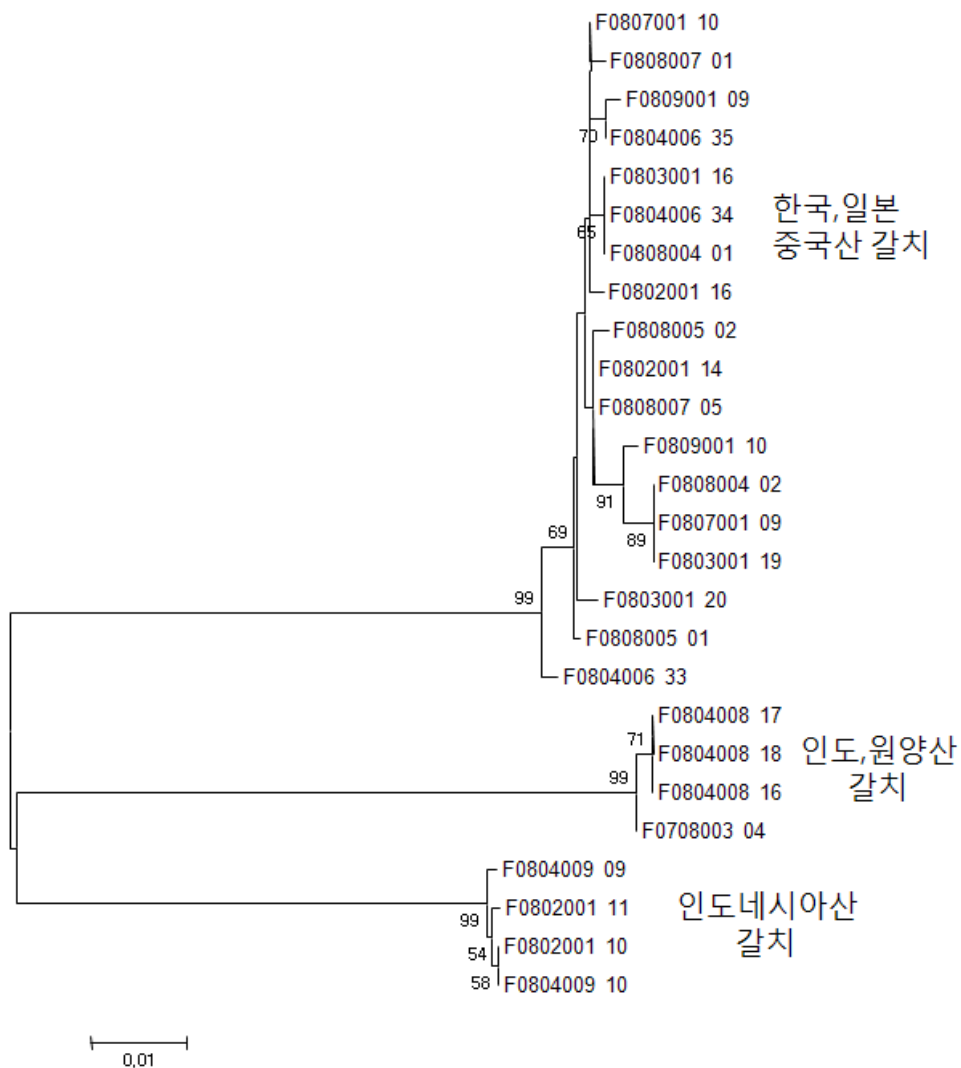


Fig. 20. COI 유전자 염기서열에 기반한 갈치의 분자계통도

- 분석된 개체수는 많으나 지역별로 개체수를 한정하여 계통도를 그림.
- 한국, 중국, 일본산 갈치가 하나의 단계통군을 형성하며, 인도산과 원양산으로 표기된 갈치가 또 다른 단계통군을, 인도네시아산 갈치가

하나의 단계통군을 이루어 모두 3개의 그룹으로 나뉨: 분자마커에 의한 종 판별과 동일한 패턴을 보임

- COI gene이 갈치 종 판별의 유용한 분자마커임을 보임

○ 분자 형질: 16SrDNA 유전자 염기서열

- 인도네시아산 갈치 7개체 (F0802001_04~F0802001_11), 일본산 9개체 (F0802001_12~F0802001_18, F0804007_02, 04), 한국 제주도산 7개체 (F0807001_02-08), 총 21개체에서 16SrDNA 유전자 520bp 염기서열이 분석됨

[16SrDNA region 시퀀스]

F0802001_04	CGGCCGCGGT ATCTAACCG TGCGAAGGTA GCGTAATCAT TTGTCTTTTA ATTGAGGACC	[60]
F0802001_06	[60]
F0802001_07	[60]
F0802001_08	[60]
F0802001_09	[60]
F0802001_10	[60]
F0802001_11	[60]
F0802001_12C	[60]
F0802001_14C	[60]
F0802001_16C	[60]
F0802001_18C	[60]
F0804007_02C	[60]
F0804007_04C	[60]
F0807001_01C	[60]
F0807001_02C	[60]
F0807001_03C	[60]
F0807001_04C	[60]
F0807001_05C	[60]
F0807001_06C	[60]
F0807001_07C	[60]
F0807001_08C	[60]
F0802001_04	CGTATGAATG ACATAACGAG GGCTCAACTG TCTCCTTCTT TCAGTCAATG AAATTGATCT	[120]
F0802001_06	[120]
F0802001_07	[120]
F0802001_08	[120]
F0802001_09	[120]
F0802001_10	[120]
F0802001_11	[120]

F0802001_12A..... [120]
 F0802001_14A..... [120]
 F0802001_16A..... [120]
 F0802001_18A..... [120]
 F0804007_02A..... [120]
 F0804007_04A..... [120]
 F0807001_01A..... [120]
 F0807001_02A..... [120]
 F0807001_03A..... [120]
 F0807001_04A..... [120]
 F0807001_05A..... [120]
 F0807001_06A..... [120]
 F0807001_07A..... [120]
 F0807001_08A..... [120]

F0802001_04 CCCCCTGCAG AAGCGGGGAT TTATACATAA GACGAGAAGA CCCTATGAAG CTTTAGACAC [180]
 F0802001_06 [180]
 F0802001_07 [180]
 F0802001_08 [180]
 F0802001_09 [180]
 F0802001_10 [180]
 F0802001_11 [180]
 F0802001_12A..C..... [180]
 F0802001_14A..C..... [180]
 F0802001_16A..C..... [180]
 F0802001_18A..C..... [180]
 F0804007_02A..C..... [180]
 F0804007_04A..C..... [180]
 F0807001_01A..C..... [180]
 F0807001_02A..C..... [180]
 F0807001_03A..C..... [180]
 F0807001_04A..C..... [180]
 F0807001_05A..C..... [180]
 F0807001_06A..C..... [180]
 F0807001_07A..C..... [180]
 F0807001_08A..C..... [180]

F0802001_04 TCGGACATAC CCTGTCAAGA CCCCTTATT AAAGGGCCAA AACCTACCCA CC-ATGTCCC [240]
 F0802001_06 [240]
 F0802001_07 [240]
 F0802001_08 [240]
 F0802001_09 [240]
 F0802001_10 [240]
 F0802001_11 [240]
 F0802001_12 .A.....T.....G..G..C..... [240]
 F0802001_14 .A.....T.....G..G..C..... [240]

F0802001_16 .A..... .C.....T.G...G .C..... [240]
 F0802001_18 .A..... .C.....T.G...G .C..... [240]
 F0804007_02 .A..... .T.G...G .C..... [240]
 F0804007_04 .A..... .T.G...G .C..... [240]
 F0807001_01 .A..... .T.G...G .C..... [240]
 F0807001_02 .A..... .T.G...G .C..... [240]
 F0807001_03 .A..... .T.G...G .C..... [240]
 F0807001_04 .A..... .T.G...G .C..... [240]
 F0807001_05 .A..... .T.G...G .C..... [240]
 F0807001_06 .A..... .T.G...G .C..... [240]
 F0807001_07 .A..... .T.G...G .C..... [240]
 F0807001_08 .A..... .T.G...G .C..... [240]

F0802001_04 TGTCTTAGGT TGGGGCGACC CCGGGGAACA AAAATCCCCC ACGTGAACA GTAGAATTCA [300]
 F0802001_06 [300]
 F0802001_07 [300]
 F0802001_08 [300]
 F0802001_09 [300]
 F0802001_10 [300]
 F0802001_11 [300]
 F0802001_12 C..... .A..... .T.C... [300]
 F0802001_14 C..... .A..... .T.C... [300]
 F0802001_16 C..... .A..... .T.C... [300]
 F0802001_18 C..... .A..... .T.C... [300]
 F0804007_02 C..... .A..... .T.C... [300]
 F0804007_04 C..... .A..... .T.C... [300]
 F0807001_01 C..... .A..... .T.C... [300]
 F0807001_02 C..... .A..... .T.C... [300]
 F0807001_03 C..... .A..... .T.C... [300]
 F0807001_04 C..... .A..... .T.C... [300]
 F0807001_05 C..... .A..... .T.C... [300]
 F0807001_06 C..... .A..... .T.C... [300]
 F0807001_07 C..... .A..... .T.C... [300]
 F0807001_08 C..... .A..... .T.C... [300]

F0802001_04 CTATCCACAA CCAAGAGCCA CGACTCTAAA AACCAGAACC TCTGACCACA ATAATGACCC [360]
 F0802001_06 [360]
 F0802001_07 [360]
 F0802001_08 [360]
 F0802001_09 [360]
 F0802001_10 [360]
 F0802001_11 [360]
 F0802001_12G .G..... .C...C..... .T. T.-..... [360]
 F0802001_14G .G..... .C...C..... .T. T.-..... [360]
 F0802001_16G .G..... .C...C..... .T. T.-..... [360]
 F0802001_18G .G..... .C...C..... .T. T.-..... [360]

F0804007_02G .G..... .C....C... ..T. T..-..... [360]
 F0804007_04G .G..... .C....C... ..T. T..-..... [360]
 F0807001_01G .G..... .C....C... ..T. T..-..... [360]
 F0807001_02G .G..... .C....C... ..T. T..-..... [360]
 F0807001_03G .G..... .C....C... ..T. T..-..... [360]
 F0807001_04G .G..... .C....C... ..T. T..-..... [360]
 F0807001_05G .G..... .C....C... ..T. T..-..... [360]
 F0807001_06G .G..... .C....C... ..T. T..-..... [360]
 F0807001_07G .G..... .C....C... ..T. T..-..... [360]
 F0807001_08 ...C....G .G..... .C....C... ..T..-..... [360]

F0802001_04 **GGCAATGCCG ATCAACGAAC CAAGTTACTC TAGGGATAAC AGCGCAATCC CCTTTTTAGA** [420]
 F0802001_06 [420]
 F0802001_07 [420]
 F0802001_08 [420]
 F0802001_09 [420]
 F0802001_10 [420]
 F0802001_11 [420]
 F0802001_12 [420]
 F0802001_14 [420]
 F0802001_16 [420]
 F0802001_18 [420]
 F0804007_02 [420]
 F0804007_04 [420]
 F0807001_01 [420]
 F0807001_02 [420]
 F0807001_03 [420]
 F0807001_04 [420]
 F0807001_05 [420]
 F0807001_06 [420]
 F0807001_07 [420]
 F0807001_08 [420]

F0802001_04 **GACCGCATCA ACAAGGGGGT TTACGACCTC GATGTTGGAT CAGGACATCC TAATGGTGCA** [480]
 F0802001_06 [480]
 F0802001_07 [480]
 F0802001_08 [480]
 F0802001_09 [480]
 F0802001_10 [480]
 F0802001_11 [480]
 F0802001_12 [480]
 F0802001_14 [480]
 F0802001_16 [480]
 F0802001_18 [480]
 F0804007_02 [480]
 F0804007_04 [480]

F0807001_01	[480]
F0807001_02	[480]
F0807001_03	[480]
F0807001_04	[480]
F0807001_05	[480]
F0807001_06	[480]
F0807001_07	[480]
F0807001_08	[480]
F0802001_04	GCCGCTATTA AGGTTTCGTT TGTTCACGA TTAAAGTCCT	[520]
F0802001_06	[520]
F0802001_07	[520]
F0802001_08	[520]
F0802001_09	[520]
F0802001_10	[520]
F0802001_11	[520]
F0802001_12	[520]
F0802001_14	[520]
F0802001_16	[520]
F0802001_18	[520]
F0804007_02	[520]
F0804007_04	[520]
F0807001_01	[520]
F0807001_02	[520]
F0807001_03	[520]
F0807001_04	[520]
F0807001_05	[520]
F0807001_06	[520]
F0807001_07	[520]
F0807001_08	[520]

Table 15. 갈치의 16S rDNA 유전자 염기서열 분석 결과

- 16SrDNA 유전자 520bp 지역에서 변이를 보이는 염기 위치는 22개임
- 한국과 일본산 갈치의 16SrDNA 염기서열은 1~2개 위치를 제외하고 모두 일치하였으며 NCBI 데이터베이스 검색에서는 *Trichiurus japonicus*와 100% 일치하는 것 나타남; 인도네시아산 갈치는 한국과 일본산과 약 4%의 차이를 보이고, NCBI에 등록된 *Trichiurus lepturus*의 염기서열과 98% 상동성을 보임

```

11111222222233333333
4744899233479901122455
0425239603155740327914
F0802001_04 TTTACTGAA-TTATTAAGTCAA
F0802001_06 .....-.....
F0802001_07 .....-.....
F0802001_08 .....-.....
F0802001_09 .....-.....
F0802001_10 .....-.....
F0802001_11 .....-.....
F0802001_12 CAACA. TGGCCATC. GGCCTT-
F0802001_14 CAACA. TGGCCATC. GGCCTT-
F0802001_16 CAACACTGGCCATC. GGCCTT-
F0802001_18 CAACACTGGCCATC. GGCCTT-
F0804007_02 CAACA. TGGCCATC. GGCCTT-
F0804007_04 CAACA. TGGCCATC. GGCCTT-
F0807001_01 CAACA. TGGCCATC. GGCCTT-
F0807001_02 CAACA. TGGCCATC. GGCCTT-
F0807001_03 CAACA. TGGCCATC. GGCCTT-
F0807001_04 CAACA. TGGCCATC. GGCCTT-
F0807001_05 CAACA. TGGCCATC. GGCCTT-
F0807001_06 CAACA. TGGCCATC. GGCCTT-
F0807001_07 CAACA. TGGCCATC. GGCCTT-
F0807001_08 CAACA. TGGCCATCCGGCC. T-

```

Table 16. 갈치의 16S rDNA 유전자 염기서열 변이 지역

- 결과적으로 16SrDNA 염기서열도 갈치의 종을 판별하는 분자마커로서 유용함을 시사함

다. 오징어류의 형태 및 분자형질 분석

○ 형태 형질

- 오징어는 대부분 가공식품 형태인 조미 오징어나 오징어채의 형태로 유통되어 형태 형질을 거의 알 수 없는 경우가 많음

○ 분자 형질: COI 유전자 염기서열

- 시료 총 21개체의 COI 유전자 5'쪽 염기서열 587bp가 분석됨
- 종명이 제시된 염기서열은 비교를 위해 NCBI genbank 데이터베이스에서 가져온 염기서열임
- 원산지별 시료 ID와 분석된 염기서열은 Table 17과 같음

시료명 series	원산지 표기	종명
F0701001_03	국내산	<i>Todarodes pacificus</i>
F0708001_01	멕시코산	<i>Dosidicus gigas</i>
F0708003_02	월양산	<i>Illex sp.</i>
F0708003_06	외산국내가공	<i>Dosidicus gigas</i>
F0708003_07	외산중국가공	<i>Dosidicus gigas</i>
F0710001_01	울릉도산	<i>Todarodes pacificus</i>
F0710001_02	울릉도산	<i>Todarodes pacificus</i>
F0708003_08	페루산	<i>Dosidicus gigas</i>
F0708003_10	일반(미표기)	<i>Todarodes pacificus</i>
F0804001	남대서양	<i>Illex sp.</i>
F0804002_01	페루산	<i>Dosidicus gigas</i>
F0804002_02	멕시코산	<i>Dosidicus gigas</i>
F0804002_03	한국산	<i>Todarodes pacificus</i>

Table 17. COI 유전자가 분석된 오징어 시료의 ID와 종판별 결과

[COI gene]

```

D_gigas      TCTCTAAGACTAATAATCCGTACCGAACTAGGTCAACCCGGATCGCTACT [ 50]
E_luminosa   .....G.....G.....T..G..A...T. [ 50]
H_pelagica   ..AT....GT.....T....AT.... [ 50]
I_argentinus ..AT....T...G..T....T...T.....TT..T. [ 50]
I_coindetii  ...T.....A..T...T...A....T..G..AT.... [ 50]
I_cf.coindetii ..AT.G...T.G....T....A....T..AA....T..T..AT..T. [ 50]
I_illecebrosus ...T.....A..T...T...A....T..G..AT.... [ 50]
I_cf.illecebrosus ...T.....A..T...T...A....T..G..AT.... [ 50]
I_cf.oxygonius ..AT.G...T.G....T....A....T..AA....T..T..AT..T. [ 50]
N_hawaiiensis ..AT....TT.....T..GT.....TT..T. [ 50]
O_bartramii  .....C.....T.....T....C..T.. [ 50]
O_antillarum ...T....T.....T...T.....T.... [ 50]
F0701001-03  ..AT....T...G..T....T.....TT..T. [ 50]
F0708001_01_g01 ..... [ 50]
F0708001_01_g02 ..... [ 50]
F0708003_06  ..... [ 50]
F0708003_07  ..... [ 50]
F0708003_02_g01 ...T.....A..T...T...G....T....AT.... [ 50]
F0708003_02_g02 ...T.....A..T...T...G....T....AT.... [ 50]
T_pacificus  ..AT....T...G..T....T.....TT..T. [ 50]
F0710001_01  ..AT....T...G..T....T.....TT..T. [ 50]
F0710001_02  ..AT....T...G..T....T.....TT..T. [ 50]

```

F0708003_08 [50]
 F0708003_10 ..AT....T...G..T.....T.....TT..T. [50]
 F0804002_01T..... [50]
 F0804002_02 [50]
 F0804002_03 ..AT....T...G..T.....T.....TT..T. [50]
 F0804001_07 ..AT....T...G..T.....T.....TT..T. [50]
 F0804001_08 ..AT....T...G..T.....T.....TT..T. [50]
 F0804001_09 ..AT....T...G..T.....T.....TT..T. [50]
 F0804001_10 ..AT....T...G..T.....T.....TT..T. [50]
 F0804001_11 ...T.....A..T..T...G....T...AT.... [50]
 F0804001_12 ...T.....A..T..T...G....T...AT.... [50]
 F0804001_13 ...T.....A..T..T...G....T...AT.... [50]
 F0804001_14 ...T.....A..T..T...G....T...AT.... [50]
 F0804001_15 ...T.....A..T..T...G....T...AT.... [50]

D_gigas AAATGATGATCAACTATATAACGTGGTGGTCACTGCACACGGTTTCATTA [100]
 E_luminosa G.....T..A..A..T.....T.....C. [100]
 H_pelagicaT.....A..A..A..C....T....T... [100]
 I_argentinus G.....T.....A..A....T....A..... [100]
 I_coindetiiT..C..T..A..A..T..A..T..T..A..T... [100]
 I_cf.coindetii ...C.....T...C..T..A..A..T..... [100]
 I_illecebrosusC.....T..C..T..A..A..T..A..T..T..A..T... [100]
 I_cf.illecebrosusT..C..T..A..A..T..A..T..T..A..T... [100]
 I_cf.oxygonius ...C.....T...C..T..A..A..T..... [100]
 N_hawaiiensisT.....A..A..T....T..T..G..... [100]
 O_bartramii G.....C....A..A..T....G.....T... [100]
 O_antillarumC....C..C....A....T....T..T..A..T... [100]
 F0701001-03T.....A..A..T....T....A..... [100]
 F0708001_01_g01 [100]
 F0708001_01_g02 [100]
 F0708003_06 [100]
 F0708003_07 [100]
 F0708003_02_g01T..C..T..A..A..T..A..T..T..A..T... [100]
 F0708003_02_g02T..C..T..A..A..T..A..T..T..A..T... [100]
 T_pacificusT.....A..A..T....T....A..... [100]
 F0710001_01T.....A..A..T....T....A..... [100]
 F0710001_02T.....A..A..T....T....A..... [100]
 F0708003_08 [100]
 F0708003_10T.....A..A..T....T....A..... [100]
 F0804002_01 [100]
 F0804002_02 [100]
 F0804002_03T.....A..A..T....T....A..... [100]
 F0804001_07T.....A..A..T....T....A..... [100]
 F0804001_08T.....A..A..T....T....A..... [100]
 F0804001_09T.....A..A..T....T....A..... [100]
 F0804001_10T.....A..A..T....T....A..... [100]

F0804001_11T..C..T..A..A..T..A..T..T..A..T.... [100]
 F0804001_12T..C..T..A..A..T..A..T..T..A..T.... [100]
 F0804001_13T..C..T..A..A..T..A..T..T..A..T.... [100]
 F0804001_14T..C..T..A..A..T..A..T..T..A..T.... [100]
 F0804001_15T..C..T..A..A..T..A..T..T..A..T.... [100]

D_gigas TAATTTTCTTCTTAGTTATACCTATTATAAATTGGAGGATTGGTAACTGA [150]
 E_luminosaC.....G.....A.....G [150]
 H_pelagicaA.....G..... [150]
 I_argentinusT.....G.....C.....G [150]
 I_coindetiiT..A.....G.....T... [150]
 I_cf.coindetiiT..TA.....G [150]
 I_illecebrosusT..A.....G.....T... [150]
 I_cf.illecebrosusT..A.....G.....T... [150]
 I_cf.oxygeniusT..TA.....G [150]
 N_hawaiiensisT.....T... [150]
 O_bartramiiTC.....G..C..G..T... [150]
 O_antillarumT.....G [150]
 F0701001-03T..A.....G [150]
 F0708001_01_g01 [150]
 F0708001_01_g02 [150]
 F0708003_06 [150]
 F0708003_07 [150]
 F0708003_02_g01T..A.....G.....T... [150]
 F0708003_02_g02T..A.....G.....T... [150]
 T_pacificusT..A.....G [150]
 F0710001_01T..A.....G [150]
 F0710001_02T..A.....G [150]
 F0708003_08 [150]
 F0708003_10T..A.....G [150]
 F0804002_01C..... [150]
 F0804002_02G.....C..... [150]
 F0804002_03T..A.....G [150]
 F0804001_07T..A.....G [150]
 F0804001_08T..A.....G [150]
 F0804001_09T..A.....G [150]
 F0804001_10T..A.....G [150]
 F0804001_11T..A.....G.....T... [150]
 F0804001_12T..A.....G.....T... [150]
 F0804001_13T..A.....G.....T... [150]
 F0804001_14T..A.....G.....T... [150]
 F0804001_15T..A.....G.....T... [150]

D_gigas CTAGTTCCTTAATATTAGGAGCCCCAGATATAGCTTTTCCACGTATAAA [200]
 E_luminosa T.....T.....T..T...G.....C..... [200]
 H_pelagica T.....T.....C.....C..... [200]

<i>I_argentinus</i>	T.....T..T.....A..C..C.....	[200]
<i>I_coindetii</i>	T...A...C.....T.....C..G.....	[200]
<i>I_cf.coindetii</i>	T...A.....G.....C..C..C..A.....	[200]
<i>I_illecebrosus</i>	T...A...C.....T.....C..G.....	[200]
<i>I_cf.illecebrosus</i>	T...A...C.....T.....C..G.....	[200]
<i>I_cf.oxygenius</i>	T...A.....G.....C..C..C..A.....	[200]
<i>N_hawaiiensis</i>	T.....TC.T.....T....C.....	[200]
<i>O_bartramii</i>G..GC.G..G.....G.....	[200]
<i>O_antillarum</i>	T.G..G..T..G..G.....G..A.....	[200]
F0701001-03	T.....T..T.....A..C.....	[200]
F0708001_01_g01	[200]
F0708001_01_g02	[200]
F0708003_06	[200]
F0708003_07	[200]
F0708003_02_g01	T...A...C.....G....C.....	[200]
F0708003_02_g02	T...A...C.....G....C.....	[200]
<i>T_pacificus</i>	T.....T..T.....A..C.....	[200]
F0710001_01	T.....T..T.....A..C.....	[200]
F0710001_02	T.....T..T.....A..C.....	[200]
F0708003_08	[200]
F0708003_10	T.....T..T.....A..C.....	[200]
F0804002_01	[200]
F0804002_02C....	[200]
F0804002_03	T.....T..T.....A..C.....	[200]
F0804001_07	T.....T..T.....A..C.....	[200]
F0804001_08	T.....T..T.....A..C.....	[200]
F0804001_09	T.....T..T.....A..C.....	[200]
F0804001_10	T.....T..T.....A..C.....	[200]
F0804001_11	T...G...C.....G....C.....	[200]
F0804001_12	T...A...C.....G....C.....	[200]
F0804001_13	T...A...C.....G....C.....	[200]
F0804001_14	T...A...C.....G....C.....	[200]
F0804001_15	T...A...C.....G....C.....	[200]
<i>D_gigas</i>	CAACATGAGATTTGGCTTCTTCCTCCTTCTCTAACCCTTCTACTAGCTT	[250]
<i>E_luminosa</i>	T..T..A.....A..G.....C.....TA.A.....C.	[250]
<i>H_pelagica</i>	T..T..A..G..C..A.....AT.G....A..T.....	[250]
<i>I_argentinus</i>	T....A....C..ATA.A.A.C.A..CT...T...T..T...C.	[250]
<i>I_coindetii</i>	T..T..A.....ATA.....A..A..T...TA.AT.....C.	[250]
<i>I_cf.coindetii</i>	T....A.....A..A....G....A..T..T.....T..A.	[250]
<i>I_illecebrosus</i>	T..T..A.....ATA.....A..A..T...TA.AT.....C.	[250]
<i>I_cf.illecebrosus</i>	T..T..A.....ATA.....A..A..T...TA.AT.....C.	[250]
<i>I_cf.oxygenius</i>	T....A.....A..A....G....A..T..T.....T..A.	[250]
<i>N_hawaiiensis</i>	T....A....C..ATA.....A..A..T.....T.....	[250]
<i>O_bartramii</i>	...T....C.....T.G....C..C..T...T..AT.....	[250]
<i>O_antillarum</i>	T..T..A.....C..ATA.....C..A..T.....T.....	[250]

F0710001_02 .A..T.....C.....T....A..T..T..C... [300]
 F0708003_08 [300]
 F0708003_10 .A..T.....C.....T....A..T..T..C... [300]
 F0804002_01 [300]
 F0804002_02 [300]
 F0804002_03 .A..T.....C.....T....A..T..T..C... [300]
 F0804001_07 .A..T.....C.....T....A..T..T..C... [300]
 F0804001_08 .A..T.....C.....T....A..T..T..C... [300]
 F0804001_09 .A..T.....C.....T....A..T..T..C... [300]
 F0804001_10 .A..T.....C.....T....A..T..T..C... [300]
 F0804001_11 ...A..A.....G..C..T....T....G..A..T..... [300]
 F0804001_12 ...A..A.....G..C..T....T....G..A..T..... [300]
 F0804001_13 ...A..A.....G..C..T....T....G..A..T..... [300]
 F0804001_14 ...A..A.....G..C..T....T....G..A..T..... [300]
 F0804001_15 ...A..A.....G..C..T....T....G..A..T..... [300]

D_gigas TTATCTAGTAAC TTATCCCATGCAGGCCCTTCAGTTGATTAGCTATTTT [350]
 E_luminosaG..T....T..T..... [350]
 H_pelagicaT....T.....T.....C....A.... [350]
 I_argentinus C.....A.....T....C..T..... [350]
 I_coindetiiA..T....T....T..A..C..T..... [350]
 I_cf.coindetiiC.T....C..C..G.....A..CC....A.... [350]
 I_illecebrosusA..T....T....T..A..C..T..... [350]
 I_cf.illecebrosusA..T....T....T..A..C..T..... [350]
 I_cf.oxygeniusC.T....C..C..G.....A..CC....A.... [350]
 N_hawaiiensisA..TC....T....T..T..... [350]
 O_bartramii C.....C..TC.C.....CC.G..... [350]
 O_antillarum C.....C..TC.....G..C..C..A..... [350]
 F0701001-03G..T.....T..T.....C....A.... [350]
 F0708001_01_g01 [350]
 F0708001_01_g02 [350]
 F0708003_06 [350]
 F0708003_07 [350]
 F0708003_02_g01A.....T....T..A..C..T..... [350]
 F0708003_02_g02A.....T....T..A..C..T..... [350]
 T_pacificusG..T.....T..T.....C....A.... [350]
 F0710001_01G..T.....T..T.....C....A.... [350]
 F0710001_02G..T.....T..T.....C....A.... [350]
 F0708003_08 [350]
 F0708003_10G..T.....T..T.....C....A.... [350]
 F0804002_01 [350]
 F0804002_02 [350]
 F0804002_03G..T.....T..T.....C....A.... [350]
 F0804001_07G..T.....T..T.....C....A.... [350]
 F0804001_08G..T.....T..T.....C....A.... [350]
 F0804001_09G..T..G.....T..T.....C....A.... [350]

F0804001_10G..T.....T..T.....C...A.... [350]
 F0804001_11A.....T.....T..A..C..T..... [350]
 F0804001_12A..T.....T.....T..A..C..T..... [350]
 F0804001_13A.....T.....T..A..C..T..... [350]
 F0804001_14A.....T.....T..A..C..T..... [350]
 F0804001_15A.....T.....T..A..C..T..... [350]

D_gigas CTCCTTACATCTGGCTGGTGTTCCTCTATTTGGGAGCAATTAACCTTTA [400]
 E_luminosa T..TC....T.A....A...T.....A..T.....C. [400]
 H_pelagica T..TC....C..A..C...A...T.....A..G.....T... [400]
 I_argentinus ...AC.T...T.....A...A.....A..T.....T... [400]
 I_coindetii T..A....C..T..A.....C.A.....T... [400]
 I_cf.coindetii ...AC.C..C..A.....A.C..T.....A..G..T..... [400]
 I_illecebrosus T..A....C..T..A.....C.A.....T... [400]
 I_cf.illecebrosus T..A....C..T..A.....C.A.....T... [400]
 I_cf.oxygenius ...AC.C..C..A.....A.C..T.....A..G..T..... [400]
 N_hawaiiensis T..AC.T...T.A..A...A...A.....C.A.....C. [400]
 O_bartramii ...TC.T....T.....GA.....C...C.A..G.....C. [400]
 O_antillarum ...AC.T....A..A....A..T.....A..... [400]
 F0701001-03 ...AC.C..CT.A.....C..T..C....A..T.....T..C. [400]
 F0708001_01_g01 [400]
 F0708001_01_g02T.....A..... [400]
 F0708003_06 [400]
 F0708003_07 [400]
 F0708003_02_g01 T..A....C..T..A.....C..T.....C.A.....T... [400]
 F0708003_02_g02 T..A....C..T..A.....C..T.....C.A.....T... [400]
 T_pacificus ...AC.C..CT.A.....C..T..C....A..T.....T..C. [400]
 F0710001_01 ...AC.C..CT.A.....C..T..C....A..T.....T..C. [400]
 F0710001_02 ...AC.C..CT.A.....C..T..C....A..T.....T..C. [400]
 F0708003_08 [400]
 F0708003_10 ...AC.C..CT.A.....C..T..C....A..T.....T..C. [400]
 F0804002_01 [400]
 F0804002_02T..... [400]
 F0804002_03 ...AC.C..CT.A.....C..T..C....A..T.....T..C. [400]
 F0804001_07 ...AC.C..CT.A.....C..T..C....A..T.....T..C. [400]
 F0804001_08 ...AC.C..CT.A.....C..T..C....A..T.....T..C. [400]
 F0804001_09 ...AC.C..CT.A.....C..T..C....A..T.....T..C. [400]
 F0804001_10 ...AC.C..CT.A.....C..T..C....A..T.....T..C. [400]
 F0804001_11 T..A....C..T..A.....C..T.....C.A.....T... [400]
 F0804001_12 T..G....C..T..A.....T.....C.A.....T... [400]
 F0804001_13 T..A....C..T..A.....C..T.....C.A.....T... [400]
 F0804001_14 T..A....C..T..A.....C..T.....C.A.....T... [400]
 F0804001_15 T..A....C..T..A.....C..T.....C.A.....T... [400]

D_gigas TTACCACTATTTTAAATATACGATGAGAAGGCTCCAAATAGAACGACTA [450]
 E_luminosaG..T..... [450]

H_pelagica .C.....C...C.....T.....T... [450]
I_argentinus ...A.....G.....G...T..T [450]
I_coindetii ...A.....TT.. [450]
I_cf.coindetii ...A....CA.....CT.ATT...G.....T [450]
I_illecebrosus ...A.....TT.. [450]
I_cf.illecebrosus ...A.....T... [450]
I_cf.oxygenius ...A....CA.....CT.ATT...G.....T [450]
N_hawaiiensis ...A....C.....T... [450]
O_bartramii ...T....C.....G..T....G..G..... [450]
O_antillarum ...A....C...C.....T.....T... [450]
F0701001-03 ...A....C.....C..T.....T..T [450]
F0708001_01_g01 [450]
F0708001_01_g02 [450]
F0708003_06 [450]
F0708003_07 [450]
F0708003_02_g01 ...A....A.....G.....TT.. [450]
F0708003_02_g02 ...A....A.....G.....TT.. [450]
T_pacificus ...A....C.....T.....T..T [450]
F0710001_01 ...A....C.....T.....T..T [450]
F0710001_02 ...A....C.....T.....T..T [450]
F0708003_08 [450]
F0708003_10 ...A....C.....T.....T..T [450]
F0804002_01 [450]
F0804002_02 [450]
F0804002_03 ...A....C.....T.....T..T [450]
F0804001_07 ...A....C.....T.....T..T [450]
F0804001_08 ...A....C.....T.....T..T [450]
F0804001_09 ...A....C.....T.....T..T [450]
F0804001_10 ...A....C.....T.....T..T [450]
F0804001_11 ...A....A.....G.....TT.. [450]
F0804001_12 ...A....A.....G.....TT.. [450]
F0804001_13 ...A....A.....G.....TT.. [450]
F0804001_14 ...A....A.....G.....TT.. [450]
F0804001_15 ...A....A.....G.....TT.. [450]

D_gigas CCCTTGTTTGCATGATCTGTCTTTATTACTGCCATCCTTTTACTACTATC [500]
E_luminosa ..T..A.....T..C....C..T..T.....C.... [500]
H_pelagica ..T....C.....T.....T..T.....TT.... [500]
I_argentinus ..T..A...A.....A.....C....T..A....T.... [500]
I_coindetii ..T..A...T.....A.....T..TT.A...T..T.... [500]
I_cf.coindetii T...A...TT..G..A..A..C.....T.....C.C..TT.... [500]
I_illecebrosus ..T..A...T.....A.....T..TT.A...T..T.... [500]
I_cf.illecebrosus ..T..A...T.....A.....T..TT.A...T..T.... [500]
I_cf.oxygenius T...A...TT..G..A..A..C.....T.....C.C..TT.... [500]
N_hawaiiensis ..T..A.....A.....C..T..T...C...T.... [500]
O_bartramii ..TC.....C.....A..... [500]

O_antillarum ..T.A.....A.T.T.A..T...G.. [500]
 F0701001-03 ..T.A..A.....A.....A....TTA.G....C.. [500]
 F0708001_01_g01 [500]
 F0708001_01_g02A..... [500]
 F0708003_06 [500]
 F0708003_07 [500]
 F0708003_02_g01 ..T.A...T.....A.....T.TT.A.....T... [500]
 F0708003_02_g02 ..T.A...T.....A.....T.TT.A.....T... [500]
T_pacificus ..T.A..A.....A.....A....TTA.G....C.. [500]
 F0710001_01 ..T.A..A.....A.....A....TTA.G....C.. [500]
 F0710001_02 ..T.A..A.....A.....A....TTA.G....C.. [500]
 F0708003_08 [500]
 F0708003_10 ..T.A..A.....A.....A....TTA.G....C.. [500]
 F0804002_01 [500]
 F0804002_02 [500]
 F0804002_03 ..T.A..A.....A.....A....TTA.G....C.. [500]
 F0804001_07 ..T.A..A.....A.....A....TTA.G....C.. [500]
 F0804001_08 ..T.A..A.....A.....A....TTA.G....C.. [500]
 F0804001_09 ..T.A..A.....A.....A....TTA.G....C.. [500]
 F0804001_10 ..T.A..A.....A.....A....TTA.G....C.. [500]
 F0804001_11 ..T.A...T.....A.....T.TT.A.....T... [500]
 F0804001_12 ..T.A...T.....A.....T.TT.A.....T... [500]
 F0804001_13 ..T.A...T.....A.....T.TT.A.....T... [500]
 F0804001_14 ..T.A...T.....A.....T.TT.A.....T... [500]
 F0804001_15 ..T.A...T.....A.....T.TT.A.....T... [500]

D_gigas ATTACCTGTTTTAGCAGGAGCTATTACTATACTCTTAAGTACCAGAAAT [550]
E_luminosa CC.....T.....TC.C..... [550]
H_pelagica C....C.G.....C...TA...A..T..... [550]
I_argentinus CC...A.G.....T.A.....AC.....T....C. [550]
I_coindetii CC.G.....T.....A...T.AC...A..T..... [550]
I_cf.coindetii C....A.A.G..T..T.....A...T.AC.T.....T..C. [550]
I_illecebrosus CC.....T.....A...T.AC...A..T..... [550]
I_cf.illecebrosus CC.....T.....A...T.AC...A..T..... [550]
I_cf.oxygonius C....A.A.G..T..T.....A...T.AC.T.....T..C. [550]
N_hawaiiensis TC.....C.....T.A...C...T.AC.....T....C. [550]
O_bartramiiG.C.G.....G.A.....G..C. [550]
O_antillarum .C...C.....A..... [550]
 F0701001-03 C....A.GC.....T.A.....G.G.....T....C. [550]
 F0708001_01_g01 [550]
 F0708001_01_g02 [550]
 F0708003_06 [550]
 F0708003_07 [550]
 F0708003_02_g01 CC.....C...T.....A...T.AC...A..T..... [550]
 F0708003_02_g02 CC.....C...T.....A...T.AC...A..T..... [550]
T_pacificus C....A.GC.....T.A.....G.G.....T....C. [550]

F0710001_01 C.....A..GC.....T..A.....G..G.....T.....C. [550]
 F0710001_02 C.....A..GC.....T..A.....G..G.....T.....C. [550]
 F0708003_08 [550]
 F0708003_10 C.....A..GC.....T..A.....G..G.....T.....C. [550]
 F0804002_01 [550]
 F0804002_02T.. [550]
 F0804002_03 C.....A..GC.....T..A.....G..G.....T.....C. [550]
 F0804001_07 C.....A..GC.....T..A.....G..G.....T.....C. [550]
 F0804001_08 C.....A..GC.....T..A.....G..G.....T.....C. [550]
 F0804001_09 C.....A..GC.....T..A.....G..G.....T.....C. [550]
 F0804001_10 C.....A..GC.....T..A.....G..G.....T.....C. [550]
 F0804001_11 CC.....C...T.....A...T.AC...A..T..... [550]
 F0804001_12 CC.....C...T.....A...T.AC...A..T..... [550]
 F0804001_13 CC.....C...T.....A...T.AC...A..T..... [550]
 F0804001_14 CC.....C...T.....A...T.AC...A..T..... [550]
 F0804001_15 CC.....C...T.....A...T.AC...A..T..... [550]

D_gigas TTAATACAACCTTTTTTGACCCAAGGGGGGAGGAGA [587]
 E_luminosaT..T.....T....A..A....G.. [587]
 H_pelagicaT.....C..T.....G.. [587]
 I_argentinusT..T.....T..T..T..A..... [587]
 I_coindetiiC..T.....T..C..A..T..... [587]
 I_cf.coindetiiC..T....C.....A..... [587]
 I_illecebrosusC..T.....T..C..A..T..... [587]
 I_cf.illecebrosusC..T.....T..C..A..T..... [587]
 I_cf.oxygoniusC..T....C.....A..... [587]
 N_hawaiiensisT.....T..T....A....G.. [587]
 O_bartramiiC..T.....T....A..G..G.. [587]
 O_antillarum .C....C..A..C....T..T....T..... [587]
 F0701001-03 .C....T..T.....T..T..T..A..G.... [587]
 F0708001_01_g01 [587]
 F0708001_01_g02 [587]
 F0708003_06 [587]
 F0708003_07 [587]
 F0708003_02_g01C..T.....T..T..A..T..... [587]
 F0708003_02_g02C..T.....T..T..A..T..... [587]
 T_pacificus .C....T..T.....T..T..T..A..G.... [587]
 F0710001_01 .C....T..T.....T..T..T..A..G.... [587]
 F0710001_02 .C....T..T.....T..T..T..A..G.... [587]
 F0708003_08 [587]
 F0708003_10 .C....T..T.....T..T..T..A..G.... [587]
 F0804002_01 [587]
 F0804002_02 [587]
 F0804002_03 .C....T..T.....T..T..T..A..G.... [587]
 F0804001_07 .C....T..T.....T..T..T..A..G.... [587]
 F0804001_08 .C....T..T.....T..T..T..A..... [587]

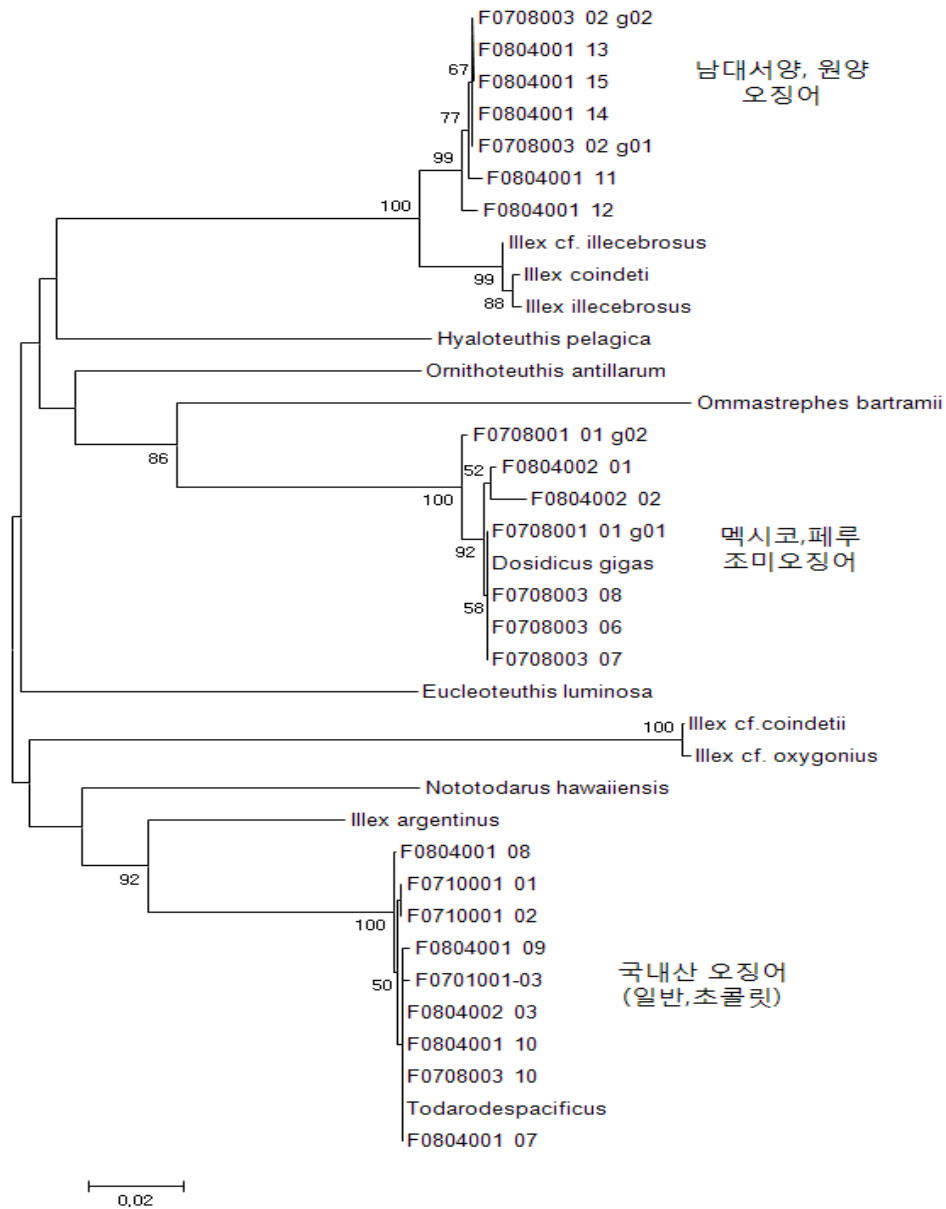


Fig. 21. COI 유전자 염기서열에 기반한 오징어류의 분자계통도

- 분자 형질을 이용한 라면 스프 포함 오징어 종명 판별
 - 국내 유통 중인 A사의 가공품(라면) 건더기 스프에 포함된 오징어의 종명과 원산지를 검증하고자 DNA를 추출하여 COI 유전자를 증폭하고 염기서열을 분석한 결과 모두 *Dosidicus gigas* (멕시코 혹은 페루산)로 판명됨
 - 제품에 표기된 원산지는 국내산 (7.7%)과 페루산 (7.3%)이 같은 비율로 함유된 것으로 되어 있음

Query					Subject				
Name	Length	Start	End	DB	AC	Gene	Ref	Length	
100610-10 ⁹⁵⁰	4	612		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶³⁷	5	612		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶³⁵	7	605		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁹²	6	616		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁰⁸	6	605		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶³⁴	6	604		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁴¹	4	611		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁷⁶	7	597		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶³⁶	5	604		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁹²³	9	612		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁸⁰	6	596		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁸⁷⁸	6	639		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁴¹	5	611		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁹⁵⁰	12	605		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁷⁸	6	612		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁹⁵⁰	12	606		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁹⁵⁰	17	624		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁴⁰	9	614		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁴⁵	6	620		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁶¹	6	631		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶¹³	15	607		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁴³	8	615		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁴⁸	4	620		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶¹⁰	11	606		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁰⁹	9	604		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁸¹⁵	99	678		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁷⁶	27	657		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁹⁵⁰	226	671		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁸⁶	13	658		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁸³⁰	367	647		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁶⁶²	5	643		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	
100610-10 ⁸¹⁴	98	673		gb	FJ153079	Dosidicus gigas	http://www	3458	

Fig. 22. 라면스프 내 오징어 건더기의 COI 유전자 기반 원산지 식별 결과:
NCBI 데이터베이스 검색 분석

- COI 분자마커를 통해 판별된 한국산 살오징어(*Todarodes pacificus*)의 DNA 및 종 정보를 KOBIS(<http://kobis.kordi.re.kr>)에 수록함

The screenshot displays the KOBIS website interface. At the top, there are navigation tabs for '한국해양생물종', '종정보검색', 'GIS 통계정보', 'KOBIS 소개', and '국제 OBI'. The main content area is titled '종정보검색 상세종정보' and features a search bar. Below the search bar, the species 'Todarodes pacificus' is listed with its common name '살오징어'. The taxonomic classification is shown as follows: Kingdom: Mollusca, Class: Cephalopoda, Order: Teuthoidae, Family: Onychoteuthidae. A photograph of a squid is displayed to the right. The '분자정보' (Molecular Information) section includes a 'Voucher Type' of 'DNA', the full 'Sequence' of the COI gene, 'Sequence Length' of 680, and 'Gene' information. It also provides 'Read Direction' as 'Forward/Reverse' and lists 'PCR Primer' details for both Forward and Reverse directions, including primer names and sequences.

Fig. 23. 분자마커를 포함한 해양생물종 정보 데이터베이스 KOBIS

제 2 절 갈치와 오징어류 종판별 DNA칩 제작 및 평가

1. 서론

- DNA칩은 유전자형 검색을 위하여 실리콘 또는 특수 슬라이드글라스 같은 고체 표면에 알고 있는 염기서열의 15~30개 염기로 구성된 올리고뉴클레오티드 또는 cDNA (프로브라 불림)를 고밀도로 집적해 놓은 것임
- DNA칩에 분석하고자 하는 표적 DNA절편을 결합시키면 DNA칩에 부착되어 있는 프로브와 표적 DNA절편이 염기서열 상보성에 따라 혼성화 양상을 나타냄: 상보성이 높으면 혼성화가 잘 되나 상보성이 떨어지면 혼성화가 안됨
- 혼성화정도를 광학적인 방법이나 방사능 화학적 방법 등을 이용하여 분석함으로써 표적 DNA의 염기서열 또는 유전자형 분석함: 같은 원리로써 시료 중 특정 유전자의 발현을 분석할 때도 사용됨
- DNA칩 사용의 장점은 극미량 시료의 분석이 가능하다는 점과 다양한 표적 DNA를 동시에 분석할 수 있다는 것임
- DNA 염기서열분석법 보다 시간 및 인적, 물적 자원의 효율적 운용이 가능하며 최종 결과가 정량적으로 분석되므로 실험자 간의 개인차를 배제한 객관적이며 신뢰도 높은 결과를 얻을 수 있음
- 본 연구에서는 주요 수산물인 갈치와 오징어류의 종판별을 위해 유용한 분자마커로 판명된 COI 유전자를 기반으로 DNA칩을 제작하고 평가함

2. 재료 및 방법

가. DNA칩 제작과 평가 과정

- DNA칩 제작과 평가과정은 다음 순서로 진행됨
 - 염기서열 확보: 제1절에서 분석된 염기서열을 이용하거나 기존 데이터베이스에 수록된 염기서열을 이용
 - 종 특이적 프로브 디자인: 종간의 염기서열 비교를 통해 종에 특이적인 변이를 중심으로 올리고뉴클레오티드 프로브를 제작; 종별로 2-3개의 프로브를 제작함

- PCR 조건 확립: 프로브와 결합할 대상 DNA의 증폭을 위한 조건을 확립함; 형광 프라이머를 이용함
- DNA칩 제작: 제작된 올리고뉴클레오티드 프로브를 슬라이드에 300um 간격으로 정해진 위치에 인쇄하듯 찍은 후 말림
- DNA칩 평가: 검증하고자 하는 시료에서 게놈 DNA를 추출하고 대상 유전자인 COI을 형광색소가 붙은 프라이머를 이용하여 PCR로 증폭한 후 DNA칩의 프로브와 혼성화시킴
- 결과 측정: 형광 이미지 스캐너를 이용하여 형광색을 나타내는 프로브의 위치를 확인하고 프로브가 유래한 종명을 확인함

나. 갈치 및 오징어 COI 유전자의 DNA칩 probe 디자인

1) 갈치 DNA칩 프로브 디자인

- 각 원산지별 종을 대상으로 집단 내 변이를 고려하여 다수의 COI 유전자 염기서열에서 프로브를 디자인함
- 대상 염기서열
 - 한국, 일본, 중국산 갈치의 12개 COI 유전자형
 - 인도네시아산 갈치의 12개 COI 유전자형
 - 인도산 갈치의 3개 COI 유전자형
 - 총 27개의 COI 유전자형 염기서열에 근거하여 종을 구별하고 이에 따라 원산지를 구분할 수 있는 프로브를 제작함

2) 오징어 DNA칩 프로브 디자인

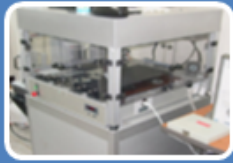
- 각 원산지별 종을 대상으로 집단 내 변이를 고려하여 다수의 COI 유전자 염기서열에서 프로브를 디자인함
- 대상 염기서열
 - 멕시코, 페루, 외산 오징어 7개 COI 유전자형
 - 남대서양, 원양산 오징어 2개 COI 유전자형
 - 한국산 오징어 5개 COI 유전자형
 - 총 14개의 COI 유전자형 염기서열을 근거로 각 종과 원산지를 구분할 수 있는 probe를 제작함

○ 종 특이적 probe 선별시 종내 변이(SNP)는 배제하고 probe를 선별함



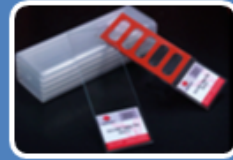
COI sequence 정보 수집

- COI sequence 로 부터 원산지 특이적 probe 선별
- 자체 program으로 부터 최적의 probe 선별



PCR 조건 확립 및 DNA chip 제작

- Dye labeling 을 위한 PCR 조건 확립
- 각 원산지 별 probe 2~3개 probe 집적



실제 field sample 적용 실험

- Squid sample 로부터 DNA 추출
- PCR 후 chip 실험



Chip image scanning 후 결과 분석

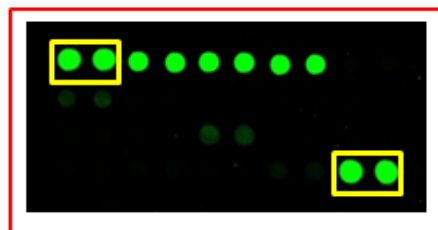


Fig. 24. DNA칩 제작 및 실험 과정

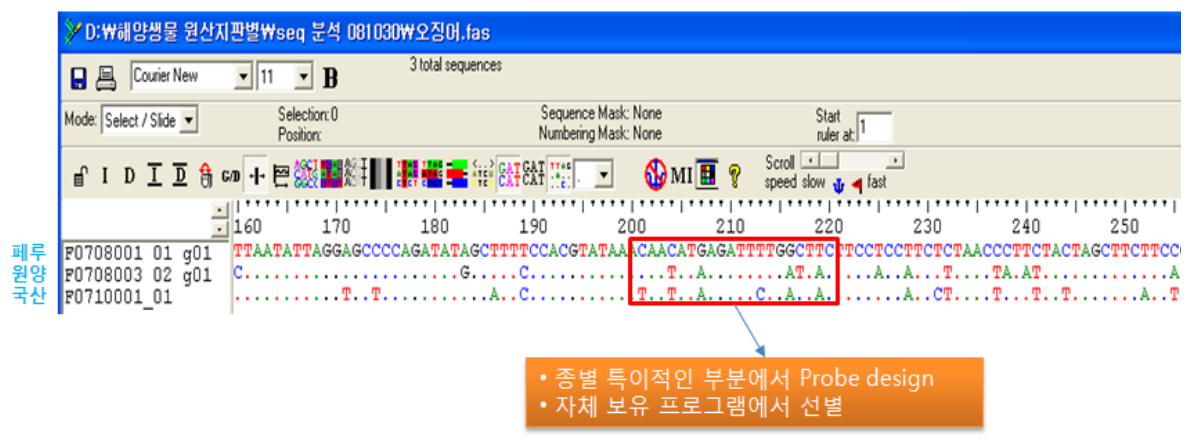
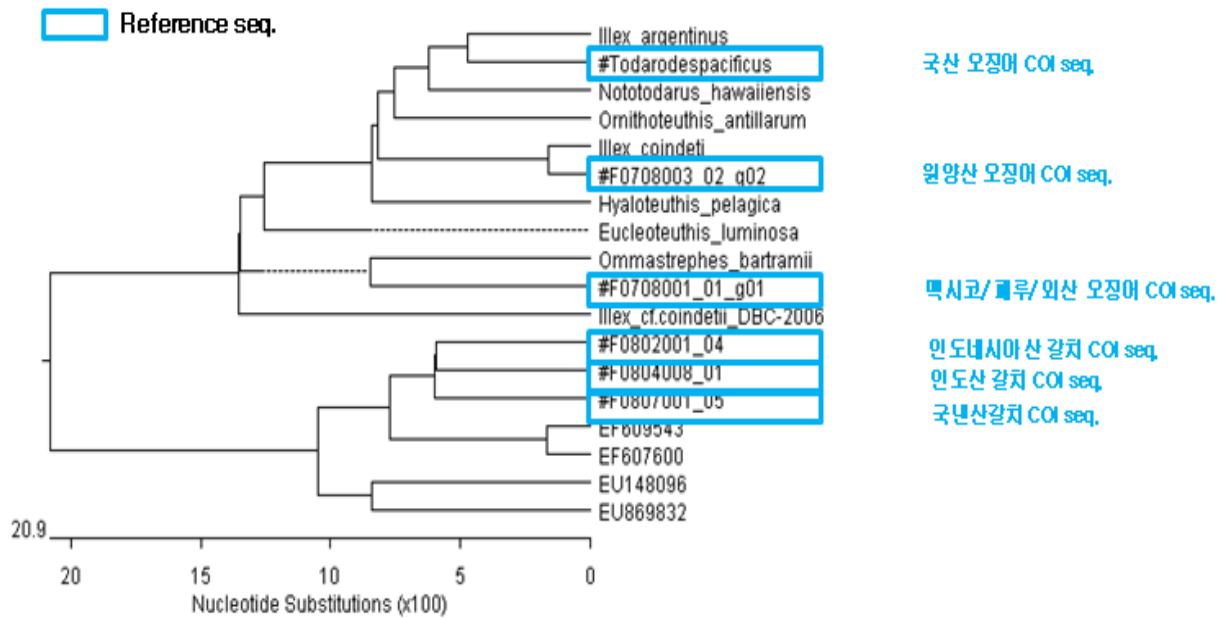


Fig. 25. 분자계통 분석 및 종 특이적 프로브의 선별

나. PCR 조건 확립 및 DNA칩 제작

1) 갈치 COI 유전자의 PCR 조건과 반응액 조성

온도(°C)	시간	
94	4 min	35 cycle
94	30 sec	
42	30 sec	
72	45 sec	
72	10 min	

Table 20. 갈치 시료의 PCR 반응 조건

조성		volume(ul)
Genomic DNA		1
F primer		1 (10pmol)
R primer		1 (10pmol)
2X premix (Ezynomics)	nTaq DNA polymerase: 0.2unit/ul nTaq buffer(containing 3mM MgCl2 dNTP mixture: 0.4mM each(2X) Stabilizer	10
D.W		7
Total		20

Table 21. 갈치 시료의 PCR 반응액 조성

- Table 19와 20에 제시된 온도조건과 반응액 조성하에서 PCR을 실시한 후 5ul는 1% agarose gel에서 PCR 산물의 생성여부를 확인; 10ul를 DNA칩과 혼성화 실험에 사용함

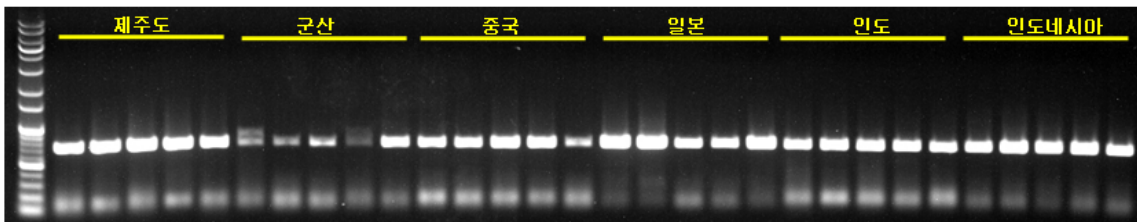


Fig. 26. 갈치 COI 유전자 증폭 결과

2) 오징어 COI 유전자의 PCR 조건과 반응액 조성

온도(°C)	시간(min)	
94	4	35 cycle
94	1	
42	1	
72	1	
72	7	

Table 22. 오징어 시료의 PCR 반응 조건

조성		volume(ul)
Genomic DNA		1
F primer		1 (10pmol)
R primer		1 (10pmol)
2X premix (Ezymomics)	nTaq DNA polymerase: 0.2unit/ul nTaq buffer(containing 3mM MgCl ₂ dNTP mixture: 0.4mM each(2X) Stabilizer	10
D.W		7
Total		20

Table 23. 오징어 시료의 PCR 반응액 조성

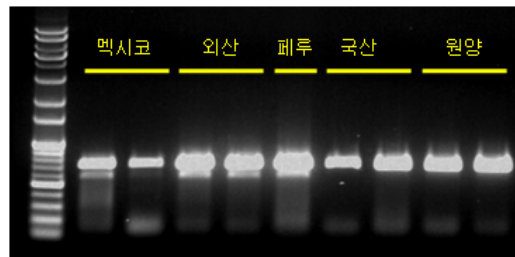


Fig. 27. 오징어 COI 유전자 증폭 결과

PCR primers		
갈치	Forward primer	TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC
	Reverse primer	TAGACTTCTGGGTGGCCAAACAATCA
오징어	Forward primer	GTTCAACAAATCATAAAGATATTGG
	Reverse primer	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA

Table 24. 갈치와 오징어 시료의 PCR 증폭에 사용된 Primer 세트

- Table 21과 22에 제시된 온도조건과 반응액 조성하에서 PCR을 실시함: 반응액은 시료 게놈 DNA 1ul, enzymomics 2X premix 10ul, F primer/R primer (10pmol) 각각 1ul, DW 7ul로 구성하고 DNA engine(MJ Research, Inc.)을 사용하여 35회 증폭반응을 반복함
- 증폭산물은 1% agarose gel에서 정확한 크기의 산물을 확인하고 10ul를 DNA칩과 교잡화 반응에 사용함

3) DNA칩 제작과 실험 과정

○ 프로브 찍기

- 제작된 올리고뉴클레오티드 프로브를 100pmol 농도로 만들고 동량의 GenoCheck Platinum™ spotting solution으로 희석한 후 silylated slides에 300um 간격으로 Prosys™ GANTRYSYSTEM(Cartesian Technologies, Inc. USA)을 이용하여 각 probe를 2차례 반복하여 인쇄 방식으로 찍음; 제작된 DNA칩은 상온 (약 25℃, 상대습도 <60% 이하) 에서 12시간 이상 건조한 후 상온에서 보관함
- DNA칩에 올려진 오징어와 갈치류 올리고뉴클레오티드 프로브는 Table 24와 같으며, DNA칩 상의 위치는 Fig. 28과 같음

종류	원산지		probes
오징어	멕시코 - 페루산	Mexico-1	T(15)-GCTGAACTGTCTACCCTCCTTTA
		Mexico-2	T(15)-TAGTAACTTATCCCATGCAGGCC
		Mexico-3	T(15)-TAACTTATCCCATGCAGGCCCTT
	남대서양 - 원양산	Ocean-1	T(15)-TGAACGGTATATCCTCCTTTATC
		Ocean-2	T(15)-CACCTTGCAGGTGTCTCTTCTAT
		Ocean-3	T(15)-GCAGGTGTCTCTTCTATTCTAGG
	한국산	Korea-1	T(15)-CTACTTCCCTCCATCCTTAACTCT
		Korea-2	T(15)-GCTGGTGTCTCTTCCATTTTAGG
		Korea-3	T(15)-TACTCTCCTTACCAGTGCTAGCA
갈치	한국 - 일본 - 중국산	Japan-1	T(15)-AGGAATCTCTTCCATCTTGGGCG
		Japan-2	T(15)-ACCCAGTTTCAAACCCCTCTGTT
		Japan-3	T(15)-TTACAATACTCCTAACTGACCGA
	인도산	Indo-1	T(15)-TAACTATCTTCTCCCTCCATCTG
		Indo-2	T(15)-CCAATTTCAAACCCCTTGTTCCG
	인도네시아산	Indonesia-1	T(15)-ACTTATCCCCTGATGATTGGGG
		Indonesia-1	T(15)-CTGTTTCGTGTGATCAGTGCTAAT
		Indonesia-1	T(15)-TGCTTCTAACTGACCGCAATCTT

Table 25. 갈치와 오징어류의 종판별 DNA칩에 심어진 프로브 리스트



No.	Probe name	원산지	종
P	Postion marker		
1	Mexico-1	멕시코 페루 외산	오징어
2	Mexico-2		
3	Mexico-3		
4	Ocean-1	월양산	
5	Ocean-2		
6	Ocean-3		
7	Korea-1	국산	
8	Korea-2		
9	Korea-3		
10	Japan silvertail-1	국내 일본 중국	갈치
11	Japan silvertail-2		
12	Japan silvertail-3		
13	Indo silvertail-1	인도산	
14	Indo silvertail-2		
15	Indo silvertail-3		
16	Indonesia silvertail-1	인도네시아	
17	Indonesia silvertail-1		
18	Indonesia silvertail-1		

Fig. 28. 오징어-갈치 DNA칩 구성도 및 프로브 위치

○ 환원화

- DNA칩과 분석 대상 유전자의 혼성화 단계 전에 슬라이드글래스에 올려진 올리고뉴클레오티드 프로브는 수소화붕소나트륨 (NaBH₄, Sodium Borohydride)을 이용하여 환원화시킴: 이 과정은 슬라이드 상의 프로브 안정화에 필수적임
- 올리고뉴클레오티드 DNA칩에서 슬라이드에 붙지 않은 프로브를 제거하기 위해 0.1% SDS로 5분간 씻어주고 증류수로 다시 5분간 2회 세척

함; 수소화붕소나트륨 용액(NaBH₄ 0.625g, PBS 187.5ml, H₂O 100ml)으로 프로브를 5분간 반응시키고 증류수로 5분간 2회 세척한 후 800RPM에서 3분 동안 원심분리하여 건조시킨 후 상온에서 보관함

○ 분석 대상 DNA와 혼성화

- DNA와 프로브의 혼성화 반응에서 표적 DNA는 최상의 결과값을 얻기 위해 단일가닥 형태이어야 함
- 표적 DNA가 PCR 증폭산물인 경우는 이중가닥 DNA이므로 단일가닥으로 변성시켜야 함: 열변성과 화학물질에 의한 변성이 가능함; 본 실험에서는 표적 DNA를 99도에서 3분간 가열하는 열변성을 시키고 얼음에 보관함
- 표적 DNA를 PCR로 만들어 열변성을 시키고 100ul의 GenoCheck Platinum™ hybridization solution에 섞어 준 후 환원화 과정을 거친 DNA칩과 55도에서 1시간 동안 반응시킴
- 반응이 진행된 후 1X SSC, 0.1% SDS에서 3분, 1X SSC에서 3분, 0.1X SSC에서 1분간 차례로 세척하고 Axon chip scanner로 형광 발현을 스캔하여 표적 DNA의 종을 확인함

4) 한국산과 수입수산물을 이용한 DNA칩 검정

- 한국산과 수입된 갈치와 오징어 시료를 이용하여 DNA칩을 검정함

갈치		오징어	
지역	샘플갯수	지역	샘플갯수
군산	5	멕시코	2
제주	5	페루	1
일본	5	외산	2
중국	5	원양산	2
인도	5	국산	2
인도네시아	5		

Table 26. DNA칩 테스트에 사용된 시료 리스트

5) DNA칩을 이용한 혼합된 시료의 구성 종 판별 검정

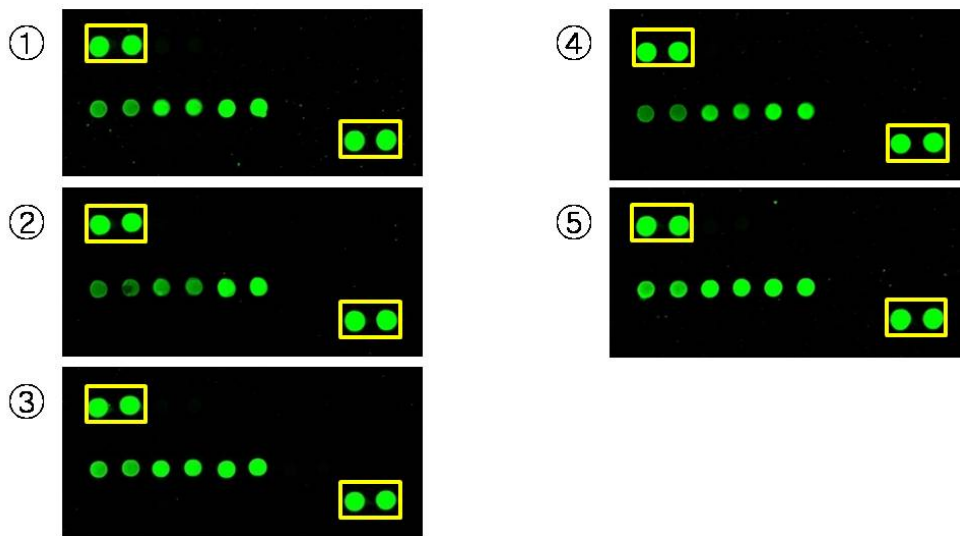
- 원산지가 다른 2종의 조합으로 구성된 게놈 DNA를 DNA칩 실험을 통해 구성 종의 판별이 가능한지 시도함

3. 결과 및 토의

가. DNA칩을 이용한 갈치 종과 원산지 판별

○ 균산산 갈치

- 한국, 일본, 중국산 갈치의 프로브에 해당하는 10, 11, 12번 위치에서 형광이 나타남: *Trichiurus japonicus* 종에 해당함



(* 노란색 박스는 위치 표시 마커)

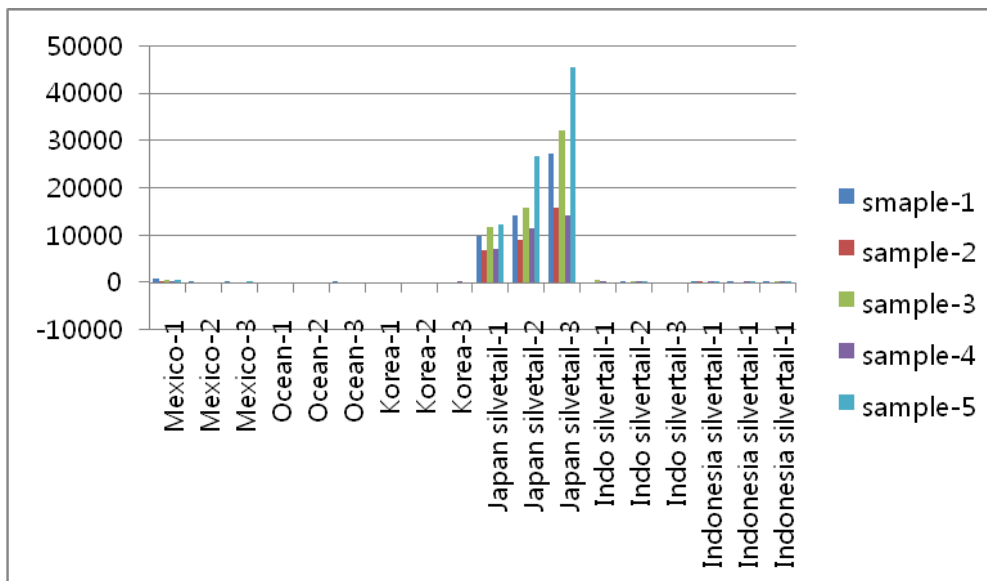


Fig. 29. DNA칩 기반 균산산 갈치의 종판별 결과와 형광발현도

○ 제주도산 갈치

- 한국, 일본, 중국산 갈치의 프로브에 해당하는 10, 11, 12번 위치에서 형광이 나타남: *Trichiurus japonicus* 종에 해당함

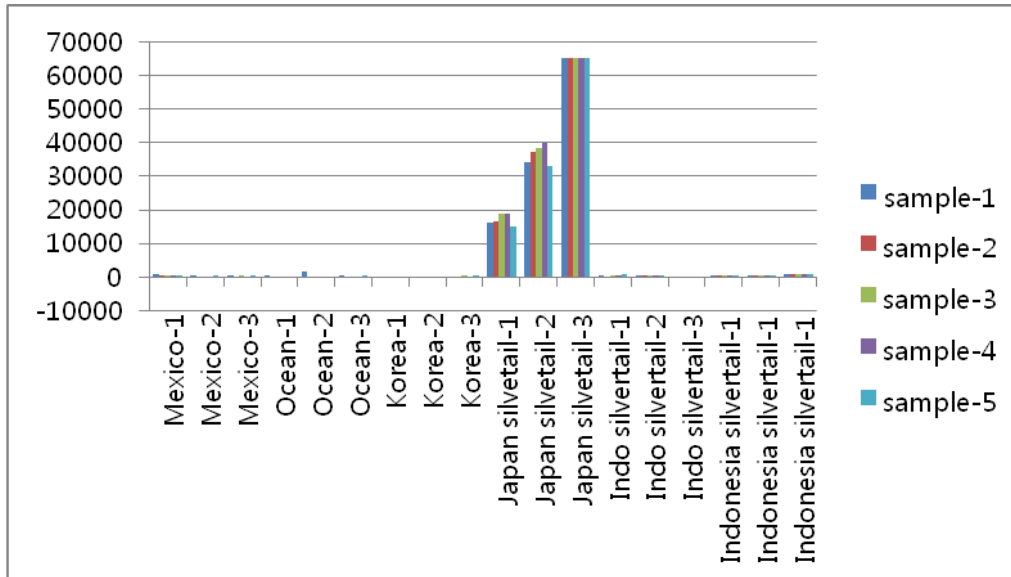
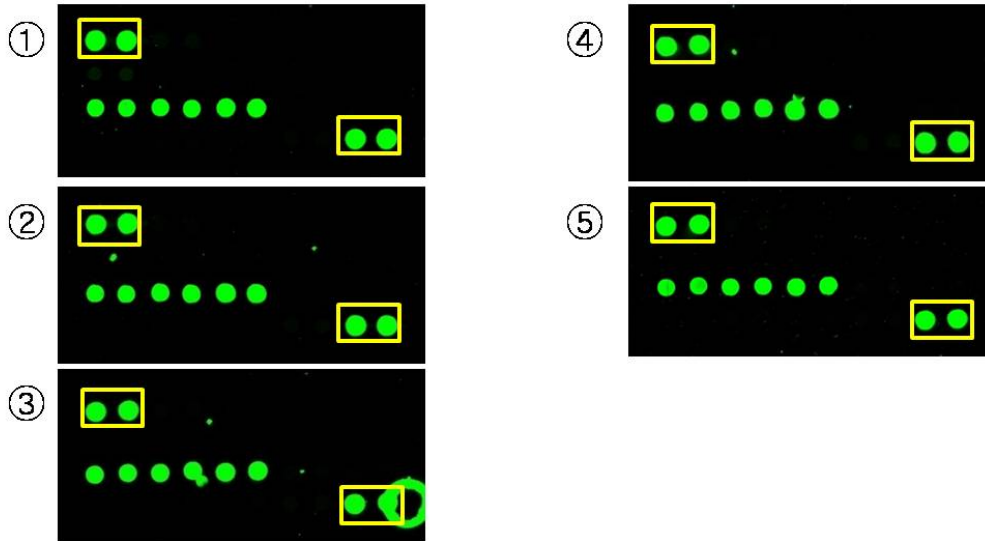


Fig. 30. DNA칩 기반 제주도산 갈치의 종판별 결과와 형광발현도

○ 일본산 갈치

- 한국, 일본, 중국산 갈치의 프로브에 해당하는 10, 11, 12번 위치에서 형광이 나타남: *Trichiurus japonicus* 종에 해당함

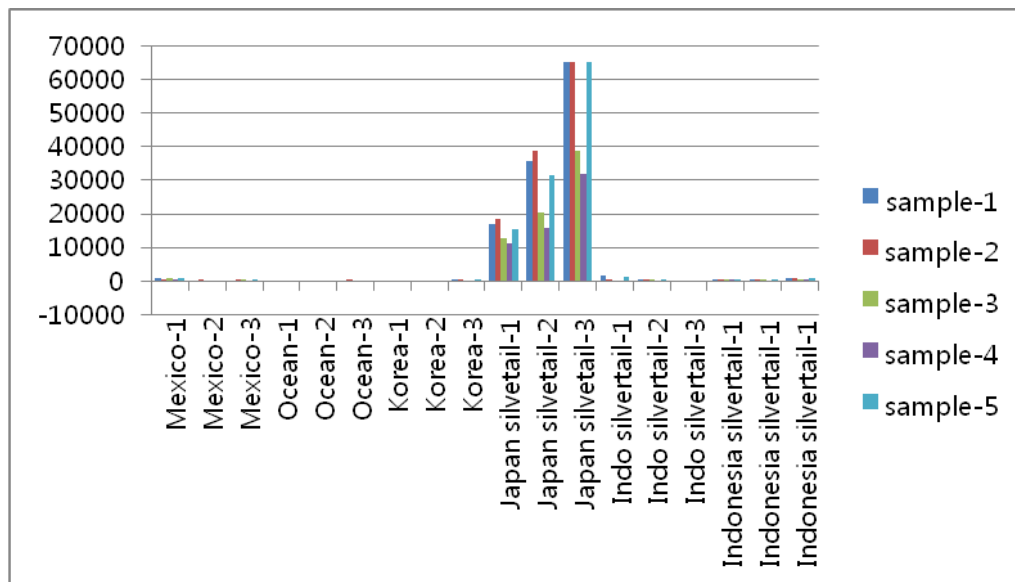
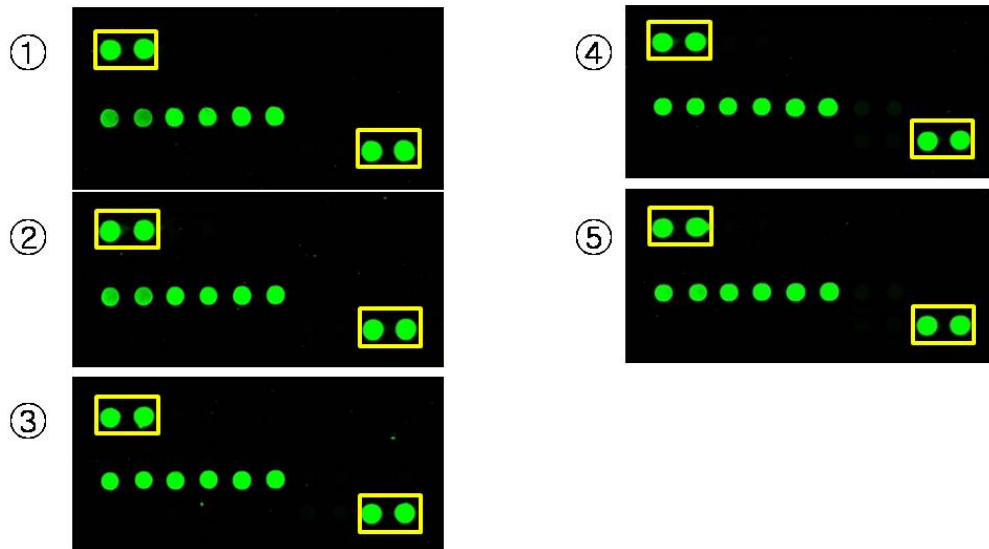


Fig. 31. DNA 칩 기반 일본산 갈치의 종판별 결과와 형광발현도

○ 중국산 갈치

- 한국, 일본, 중국산 갈치의 프로브에 해당하는 10, 11, 12번 위치에서 형광이 나타남: *Trichiurus japonicus* 종에 해당함

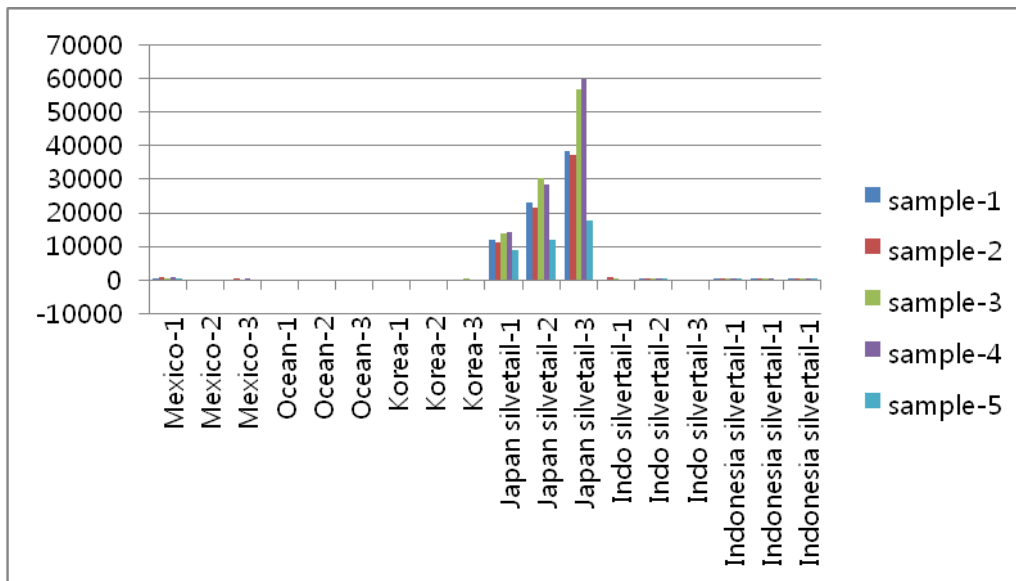
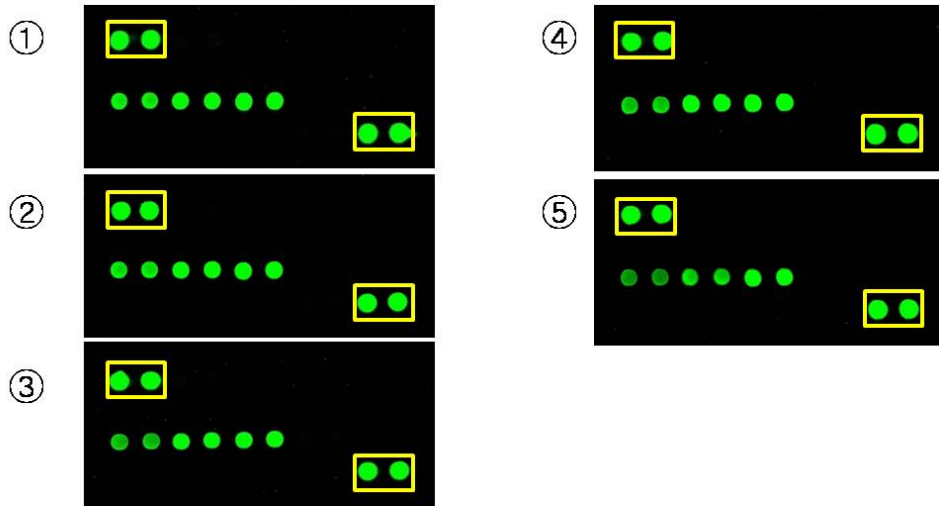


Fig. 32. DNA칩 기반 중국산 갈치의 종판별 결과와 형광발현도

○ 인도산 갈치

- 인도산 갈치의 프로브에 해당하는 13, 14, 15번 위치에서만 형광이 나타남: *Trichiurus sp.* 종에 해당함
- DNA칩 13번 위치에 있는 프로브와 반응은 상대적으로 미약하나 다른 종의 프로브와는 분명히 구분됨

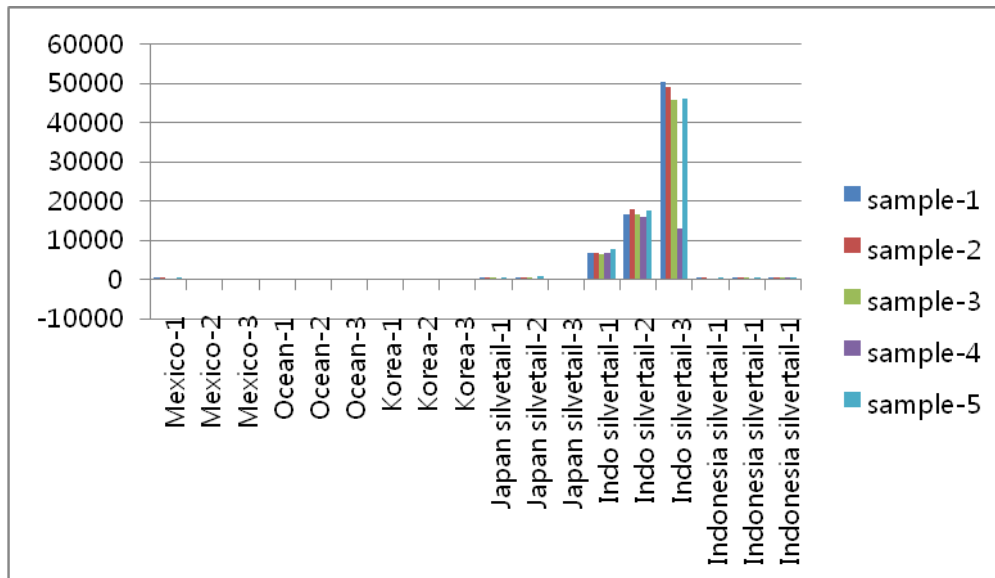
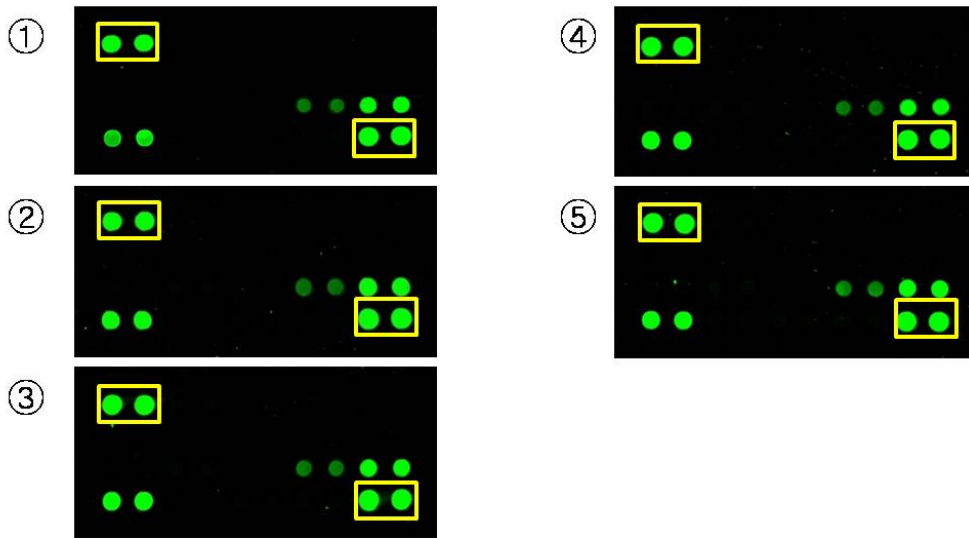


Fig. 33. DNA칩 기반 인도산 갈치의 종판별 결과와 형광발현도

○ 인도네시아산 갈치

- 인도네시아산 갈치의 프로브에 해당하는 16, 17, 18번 위치에서만 형광이 나타남: *Trichiurus lepturus* 종에 해당함
- DNA칩 16번 위치에 있는 프로브의 반응은 상대적으로 미약하나 다른 종의 프로브와는 분명히 구분됨

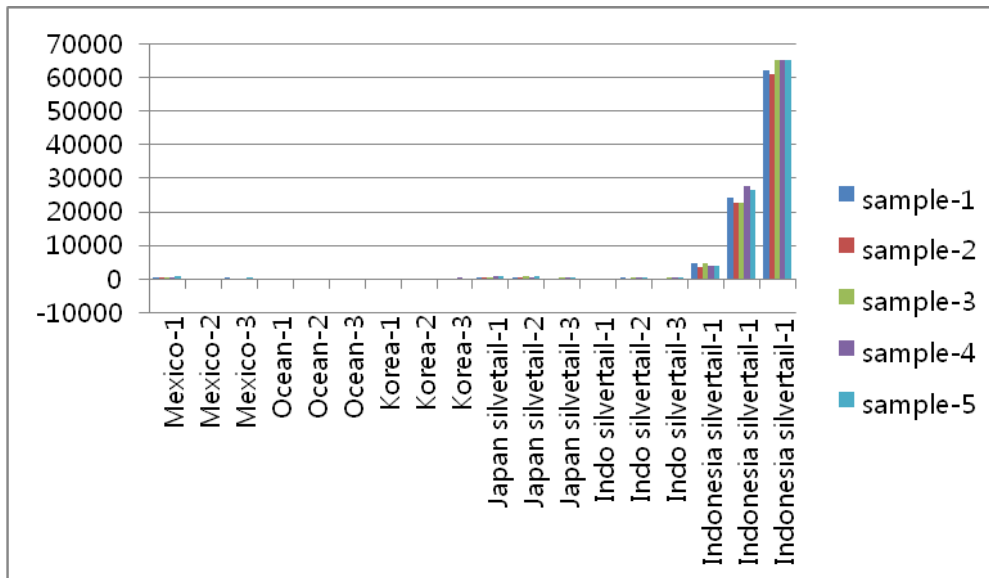
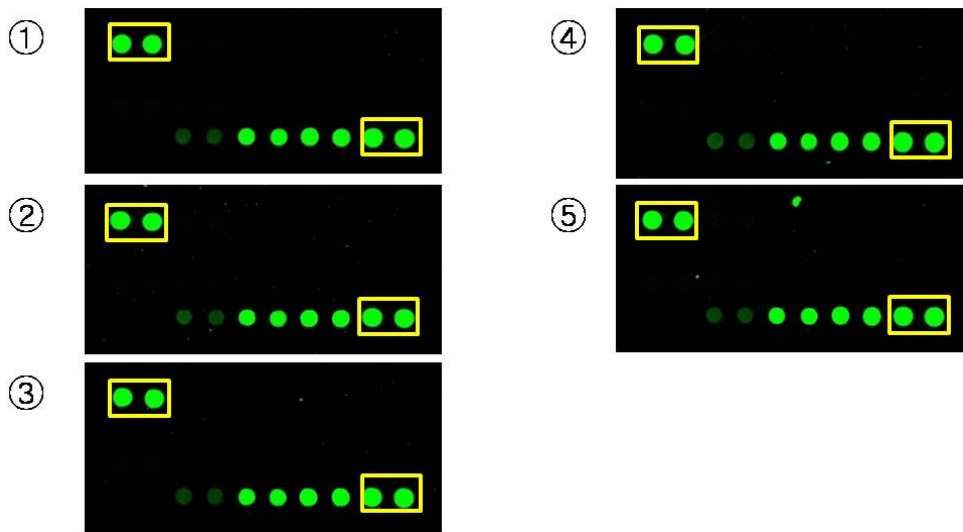


Fig. 34. DNA칩 기반 인도네시아산 갈치의 종판별 결과와 형광발현도

- 갈치류 DNA칩의 검증 결과, 제작된 올리고뉴클레오티드 프로브가 각 종에 특이적으로 반응함으로써 종과 원산지 판별 DNA칩으로 유용함

나. DNA칩을 이용한 오징어 종과 원산지 판별

- 멕시코산 오징어
 - 페루, 멕시코산 오징어의 DNA칩 프로브를 담고 있는 1, 2, 3번 위치에서만 형광이 나타남: *Dosidicus gigas* 종에 해당함

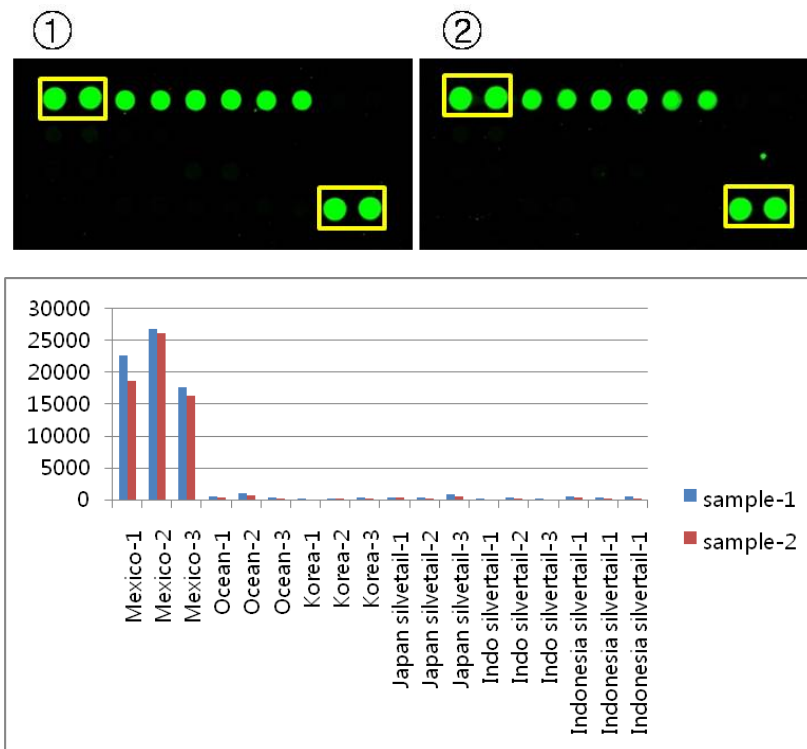


Fig. 35. DNA칩 기반 멕시코산 오징어의 종판별 결과와 형광발현도

- 페루산 오징어
 - 페루, 멕시코산 오징어의 DNA칩 프로브를 담고 있는 1, 2, 3번 위치에서 형광이 나타남: *Dosidicus gigas* 종에 해당함
 - 5번(원양산 오징어 특이 프로브)과 12번(한국산 갈치 특이 프로브) 위치가 미약하게 반응함

○ 외산 오징어

- 멕시코, 페루산 오징어의 DNA칩 프로브를 담고 있는 1, 2, 3번 위치에서 형광이 나타남: *Dosidicus gigas* 종에 해당함
- 15번 (인도산 갈치 특이 프로브) 프로브와 미약하게 반응함: 15번 프로브를 교체할 필요성이 있음

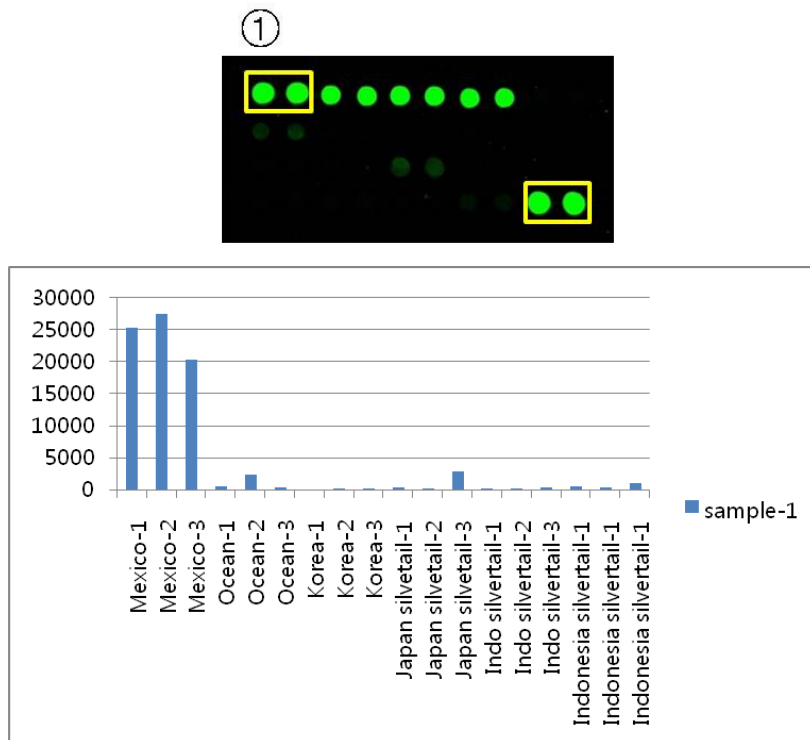
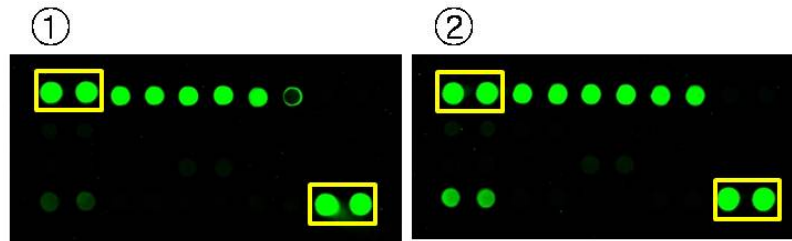


Fig. 36. DNA칩 기반 페루산 오징어의 종판별 결과와 형광발현도



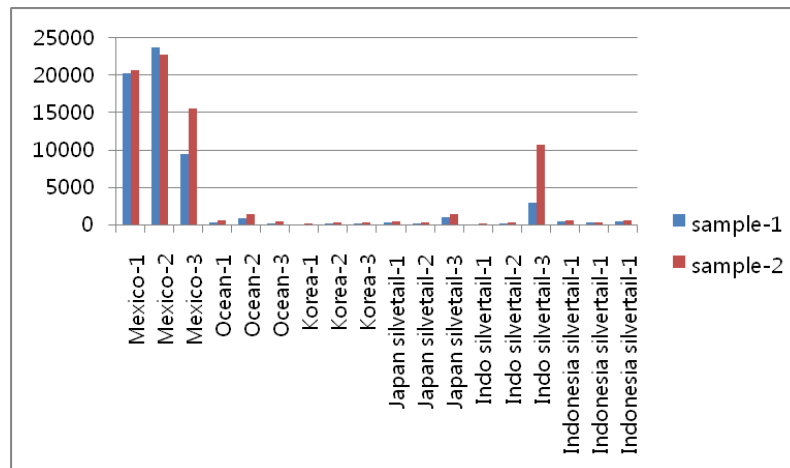


Fig. 37. DNA칩 기반 외산 오징어의 종판별 결과와 형광발현도

○ 원양산 오징어

- 남대서양산 오징어의 DNA칩 프로브를 담고 있는 4, 5, 6번 위치에서 형광이 나타남: *Illex sp.* 종에 해당함
- 15번 프로브와 미약하게 반응함

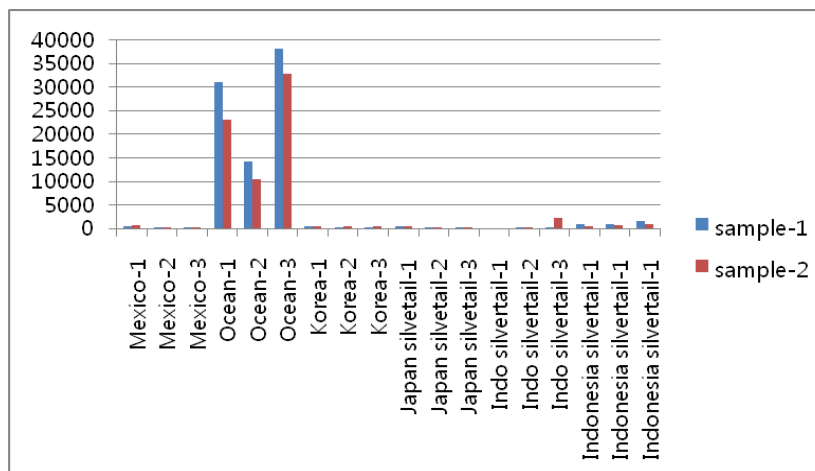
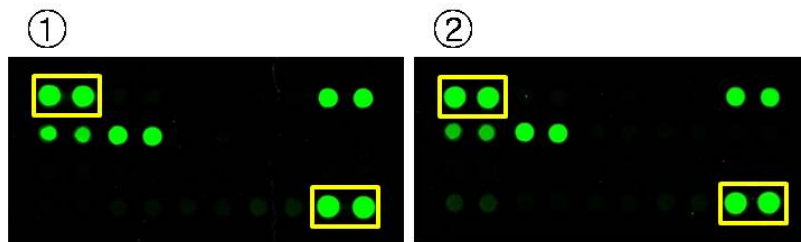


Fig. 38. DNA칩 기반 원양산 오징어의 종판별 결과와 형광발현도

○ 국산 오징어

- 한국산 오징어의 DNA칩 프로브를 담고 있는 7, 8, 9번 위치에서 형광이 나타남: *Todarodes pacificus* 종에 해당함
- 5번 위치의 프로브가 미약하게 반응함

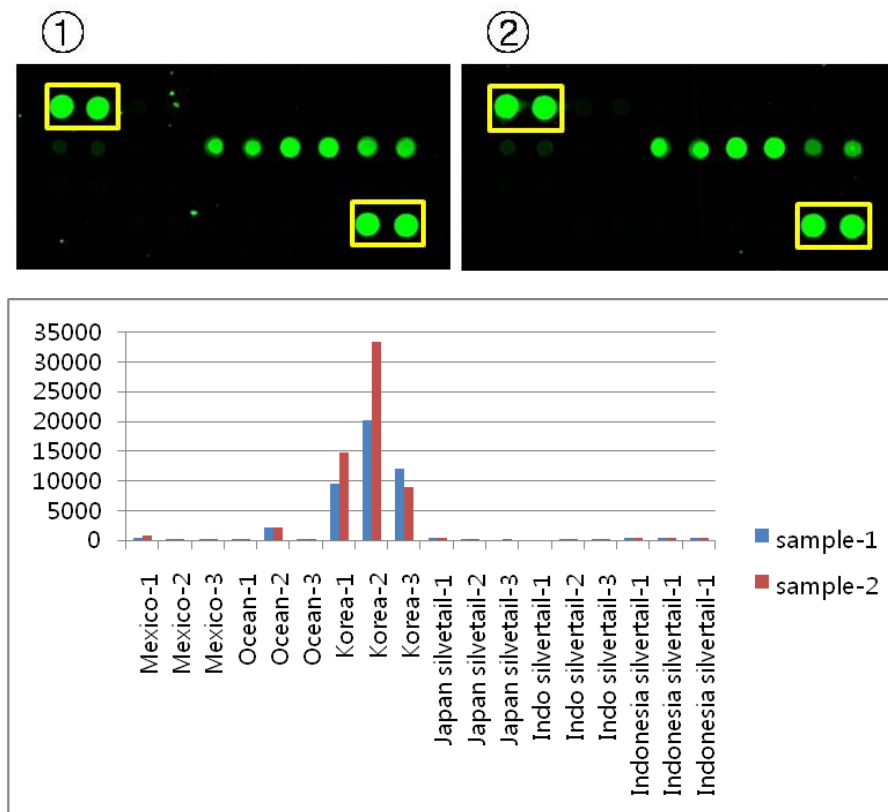


Fig. 39. DNA칩 기반 국산 오징어의 종판별 결과와 형광발현도

다. 실제 제품에 적용 실험

1) 갈치 DNA칩을 이용한 종과 원산지 판별

- 시중에 판매되는 국산으로 표시된 갈치의 원산지 표기 진위를 판별하기 위해 DNA를 추출하여 COI 유전자를 증폭하고 DNA칩에 적용함
- DNA칩을 이용하여 종을 판독한 결과, 한국-중국-일본에 분포하는 종인 *Trichiurus japonicus* 프로브에서 형광이 나타남 (10, 11, 12번 위치)
- 대형마트에서 판매되는 토막 갈치의 원산지 표시가 제대로 되고 있음

- 대형마트 외 다른 유통경로를 통해 판매되는 갈치에 대한 종과 원산지 검증이 요구됨

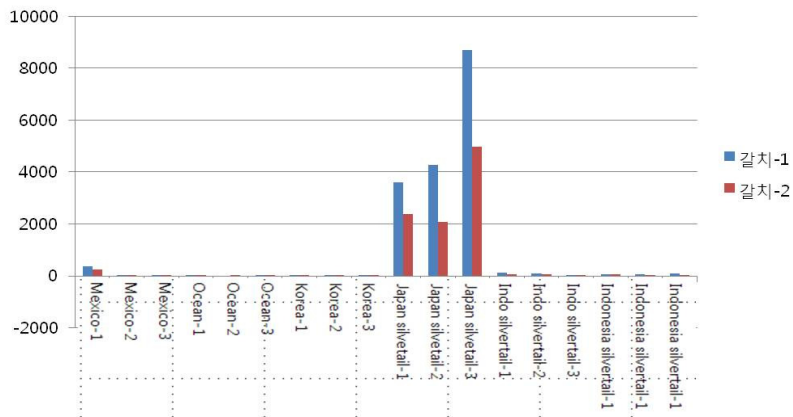
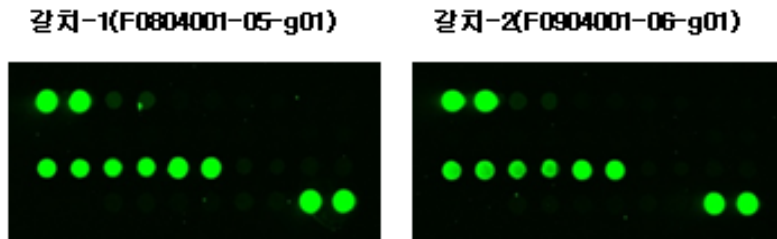
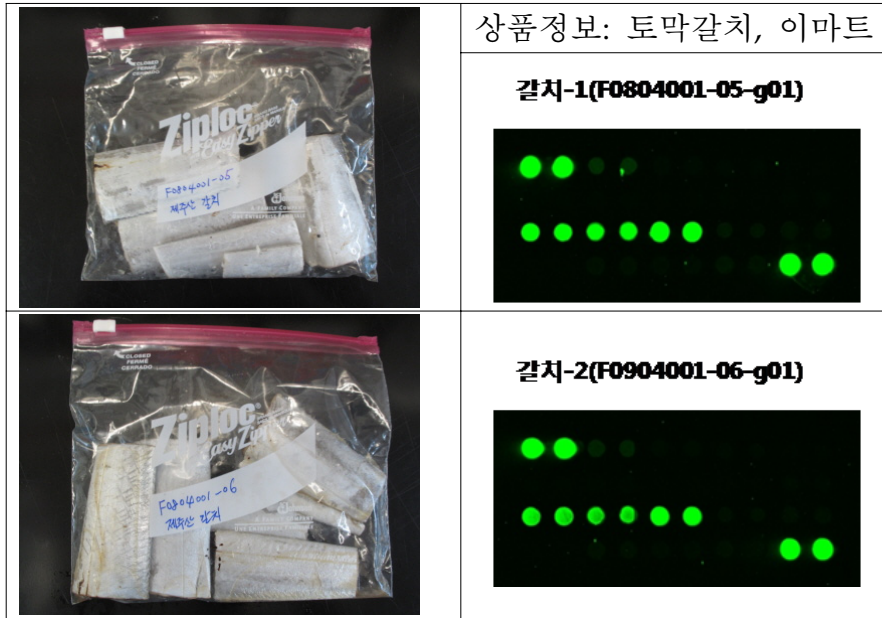


Fig. 40. DNA칩 기반 시중 유통 갈치의 종판별 결과와 형광발현도

2) 오징어 DNA칩을 이용한 종과 원산지 판별

○ 조미오징어의 종과 원산지 판별

- 시중에 판매되는 국산 조미오징어 5개 제품의 원산지 표시의 진위를 판별하기 위해 오징어 DNA칩을 적용 실험함
- DNA를 추출하여 COI 유전자를 증폭하고 DNA칩에 적용하여 종을 판독한 결과, 모든 제품이 한국산 오징어 종인 *Todarodes pacificus* 프로브에서 형광이 나타남 (7, 8, 9번 위치)


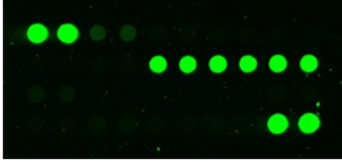
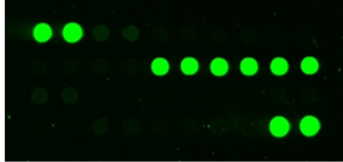

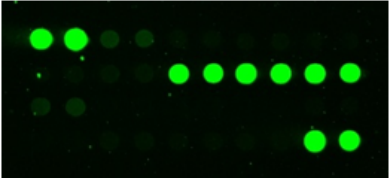
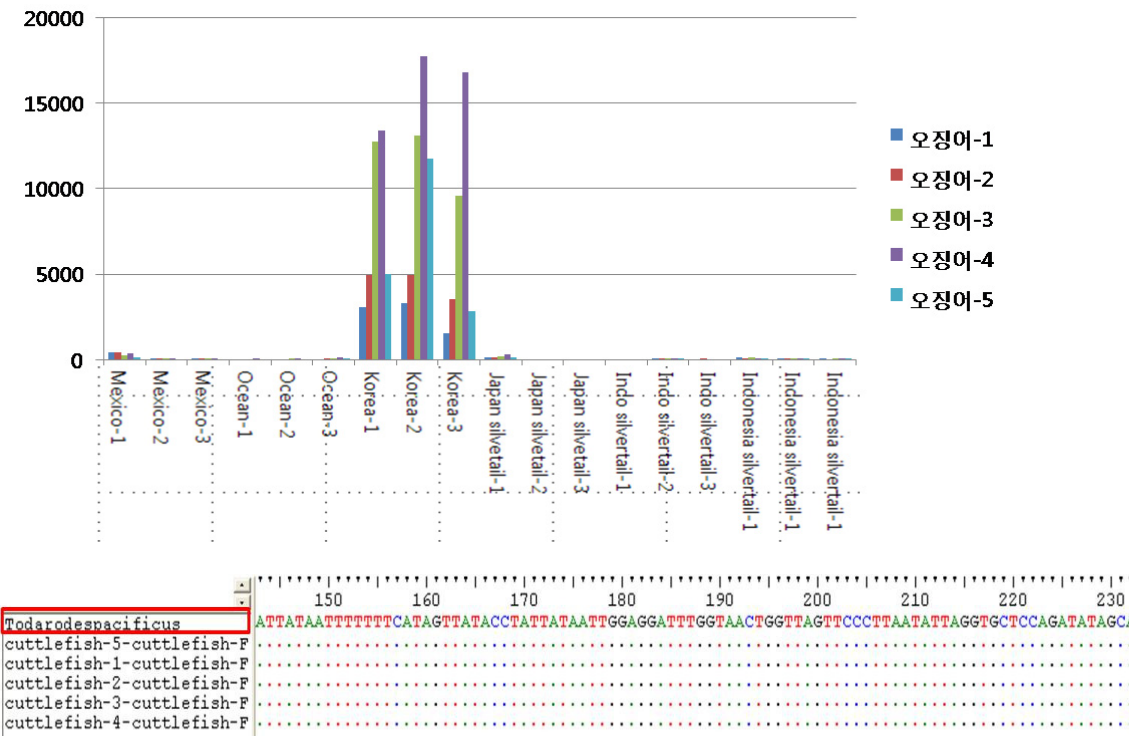
		<p>상품정보 : 오순이, 국내산 표기</p> <table border="1"> <tr> <td>맥반석 오징어 F0905002_01-g01</td> <td>버터구이 오징어 F0905002_01-g02</td> <td>불고기 오징어 F0905002_01-g03</td> </tr> </table> <p>제조원 : 금한산업 (강원강릉 09-28호) 분석결과: 한국산</p>	맥반석 오징어 F0905002_01-g01	버터구이 오징어 F0905002_01-g02	불고기 오징어 F0905002_01-g03
맥반석 오징어 F0905002_01-g01	버터구이 오징어 F0905002_01-g02	불고기 오징어 F0905002_01-g03			
<p>오징어-1(F0905002-01-g01)</p> 	<p>오징어-2 (F0905002-01-g02)</p> 	<p>오징어-3(F0905002-01-g03)</p> 			
		<p>상품정보: 오징어 전기구이, 국내산 표기</p> <p>제조원 : 한양식품</p> <p>분석결과 : 한국산</p>			
		<p>오징어-4(F0905002-02-g01)</p> 			

Fig. 41. DNA칩 기반 시중 유통 조미 찢은 오징어의 종판별 결과와 형광발현도

	<p>상품정보 : 바다이야기 참진미, 연근해산 표기 제조원 : 경우식품 분석결과 : 한국산</p>
	<p>오징어-5(F0905002-03-g01)</p>



(Fig. 41. 계속)

- 위 DNA칩 결과는 염기서열 분석을 통한 종명 확인 검증에서 모두 정확한 것으로 판명됨
- 시중에 판매되는 조미오징어 가공품은 원산지 표시가 대체적으로 제대로 되고 있다고 볼 수 있음
- 재래시장에서 판매하는 조미 오징어에 대한 시료 검증이 추후 요구됨

- 위해 한국산과 인도네시아산, 인도산과 인도네시아산 갈치 시료의 DNA를 섞고 COI 유전자를 증폭한 후 DNA칩에 적용함
- DNA염기서열 분석으로는 종 구분이 불가능하였으나 DNA칩으로는 섞여 있는 종이 구분되고 이에 따라 원산지가 구분되었음: Fig. 43

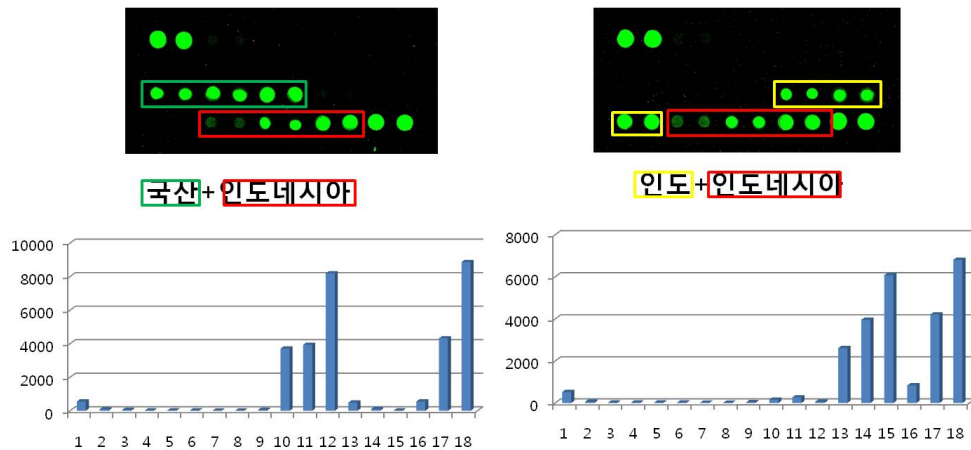


Fig. 43. DNA칩 기반 혼합 갈치 시료의 종판별 결과와 형광발현도

○ 오징어 혼합 시료의 종 판별 검증

- 한국산과 페루산 오징어의 DNA가 섞인 시료를 만들어 COI 유전자를 증폭한 후 DNA칩에 적용함
- DNA염기서열 분석으로는 종 구분이 불가능하였으나 DNA칩으로는 섞여 있는 종이 구분되고 이에 따라 원산지가 구분되었음: Fig. 44
- DNA칩은 서로 다른 종 (혹은 원산지)가 섞여 있는 시료를 구성하는 각 각의 종을 구분하고 이를 근거로 원산지를 판별하는 데 유용함을 보여줌

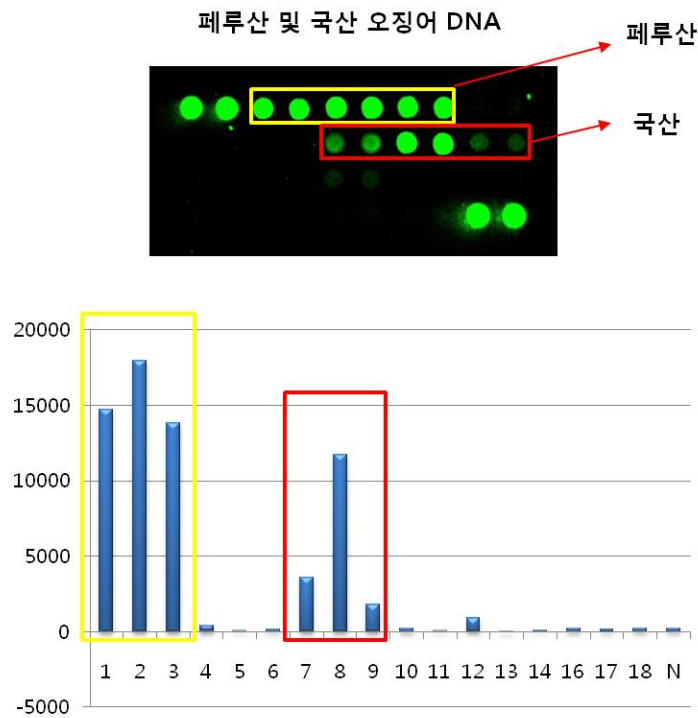


Fig. 44. DNA칩 기반 혼합 오징어 시료의 종판별 결과와 형광발현도

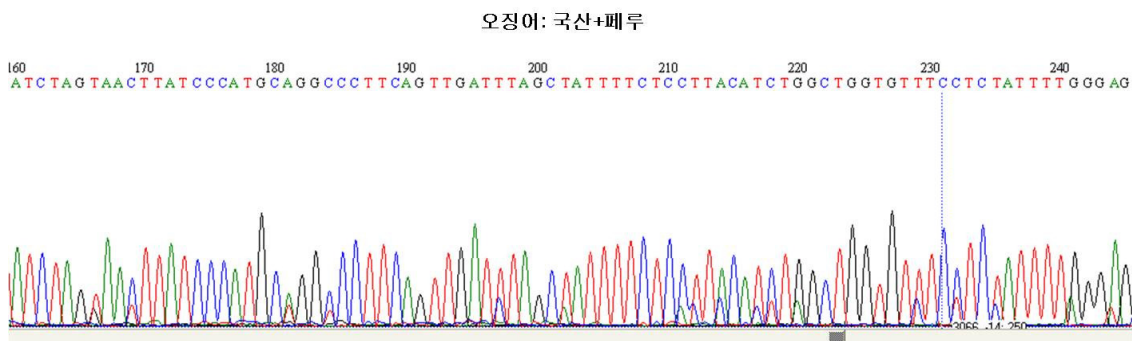


Fig. 45. 혼합 오징어 시료의 시퀀싱 결과 크로마토그램: 여러 위치에서 염기서열이 불분명하게 나타남

마. 갈치 및 오징어 원산지 판별 DNA칩의 별도 제작

- 갈치와 오징어의 종 판별용 DNA칩을 별도로 제작함
- 갈치 종 판별 DNA칩 구성과 프로브 위치는 Fig. 46과 같음: 오징어종과 반응성을 보인 인도산 갈치 프로브 3번 (Fig. 28에서 15번 위치)은 제외시킴
- 오징어의 종 판별 DNA칩 구성과 프로브 위치는 Fig. 47과 같음



P	Postion marker	Silver tail species
1	Japan silvertail-1	국내 일본 중국
2	Japan silvertail-2	
3	Japan silvertail-3	
4	Indonesia silvertail-1	인도네시아
5	Indonesia silvertail-2	
6	Indonesia silvertail-3	
7	Indo silvertail-1	인도산
8	Indo silvertail-2	

Fig. 46. 갈치 종판별 DNA칩 구성도 및 프로브 위치



P	Postion marker	Squid species
1	Mexico-1	멕시코 페루 외산
2	Mexico-2	
3	Mexico-3	
4	Ocean-1	원양산
5	Ocean-2	
6	Ocean-3	
7	Korea-1	국산
8	Korea-2	
9	Korea-3	

Fig. 47. 오징어 종판별 DNA칩 구성도 및 프로브 위치

제 3 절 참돔 원산지 식별을 위한 단백질 마커 개발

1. 서론

- DNA 염기서열이 거의 유사한 같은 종내 어류의 원산지 판별은 DNA 서열 비교분석 방법으로는 분석이 어려운 한계점이 있음
- 이에 생화학, 단백질학 방법을 도입하여 단백질 발현량의 차이를 기준으로 판별하는 방법이 시도될 수 있음
- 2D-gel 전기영동나 MALDI-TOF Mass Spectrophotometry 등의 단백질체학 기술 등을 이용하여 후보물질 표식인자들을 발굴하고 분석하는 것은 미래 단백질 칩 개발로도 연결될 수 있는 바, 여러 적용가능성을 가지고 있음
- 이는 종내 원산지 비교 뿐 만이 아니라, 비교분석학, 영양학, 병리학 연구를 위하여 미래 지향적인 연구임

2. 재료 및 방법

가. 참돔 동일 종내 원산지별 단백질 발현 양상의 비교 관찰 (2D gel electrophoresis)

- 참돔의 원산지 (한국자연산: KN, 한국산양식: K, 일본산양식: J, 중국산양식: C) 구별에 이용될 수 있는 단백질마커를 확인하고자, 먼저 각 원산지별 실험군에 따른 단백질의 발현 양상을 2차원 전기영동을 통하여 확인함.
- 보유한 각 원산지별 참돔 개체군 (한국자연산 n=6, 한국산양식 n=5, 일본산양식 n=5, 중국산양식 n=10) 으로부터 준비된 시료를 2D gel electrophoresis 를 위해 사용함.
- 각각의 개체로부터 해부학적으로 분리된 근육 및 간조직에서 Homogenation buffer속에서 균일화 시키고, sonication을 통하여 세포막을 제거함으로써, 단백질 시료 준비를 완성함.

- 이전 연구에서 이용하여 왔던 실험방법을 따라, 2D gel electrophoresis 을 실행하고, gel을 silver staining한 후에 (Fig. 48), 발현 양상에서 확연한 차이를 보이는 단백질 spot을 분리해냄.
- 분리된 단백질 spot은 환원처리와 탈색처리를 거친 뒤, trypsin을 이용한 in gel digestion을 통하여 gel로부터 분리.

나. 참돔 종내 원산지 판별을 위한 마커 단백질의 발굴 (MALDI-TOF 분석)

- 일차적으로 선정된 37개의 단백질 spot에 대하여 MALDI-TOF를 실행
- 각각의 spot에 대한 peak graph로부터 MALDI-TOF를 진행하여 아미노산 배열을 확인
- 기존 아미노산 서열 데이터베이스를 이용하여 각각의 단백질 spot이 어느 단백질에 해당하는지를 확인
- 2차원 전기영동을 통하여 원산지별로 서로 다른 발현 양상을 보이는 spot 들 중 spot의 시료군별 비교에서 발현의 정도가 구분되어지는 단백질 spot을 선택하여 in gel digestion의 기술을 이용하여 단백질 시료를 gel로부터 분리하였음.

다. 참돔 종내 원산지 판별을 위한 표지 단백질의 발현 확인

- 원산지별로 발현양의 차이를 보였던 단백질인 muscle-specific enolase의 정량적 분석을 위해 Western blot을 수행함.
- muscle-specific enolase가 참돔의 원산지 구분을 위한 단백질 마커로써 신뢰할 수 있는지를 검증하고자 함.
- 2차원 전기영동을 수행하기 위해 준비했던 근육 단백질 시료를 각 원산지별로 동일한 양을 사용하여 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis를 수행한 후, polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane으로 옮겨 일차항체 반응을 진행함.
- 일차항체로 anti-muscle-specific enolase (ENO3) 항체를 사용함.

3. 결과 및 토의

가. 참돔 동일 종내 원산지별 단백질 발현 양상의 비교 관찰 (2D gel electrophoresis)

- 참돔의 원산지별 발현 단백질을 2차원 전기영동과 silver staining 방법으로 비교하였을 때 각 원산지별로 독특한 양상을 보이는 단백질을 37개를 확인하였음
- 주로 근육시료에서 독특한 단백질 발현이 관찰됨

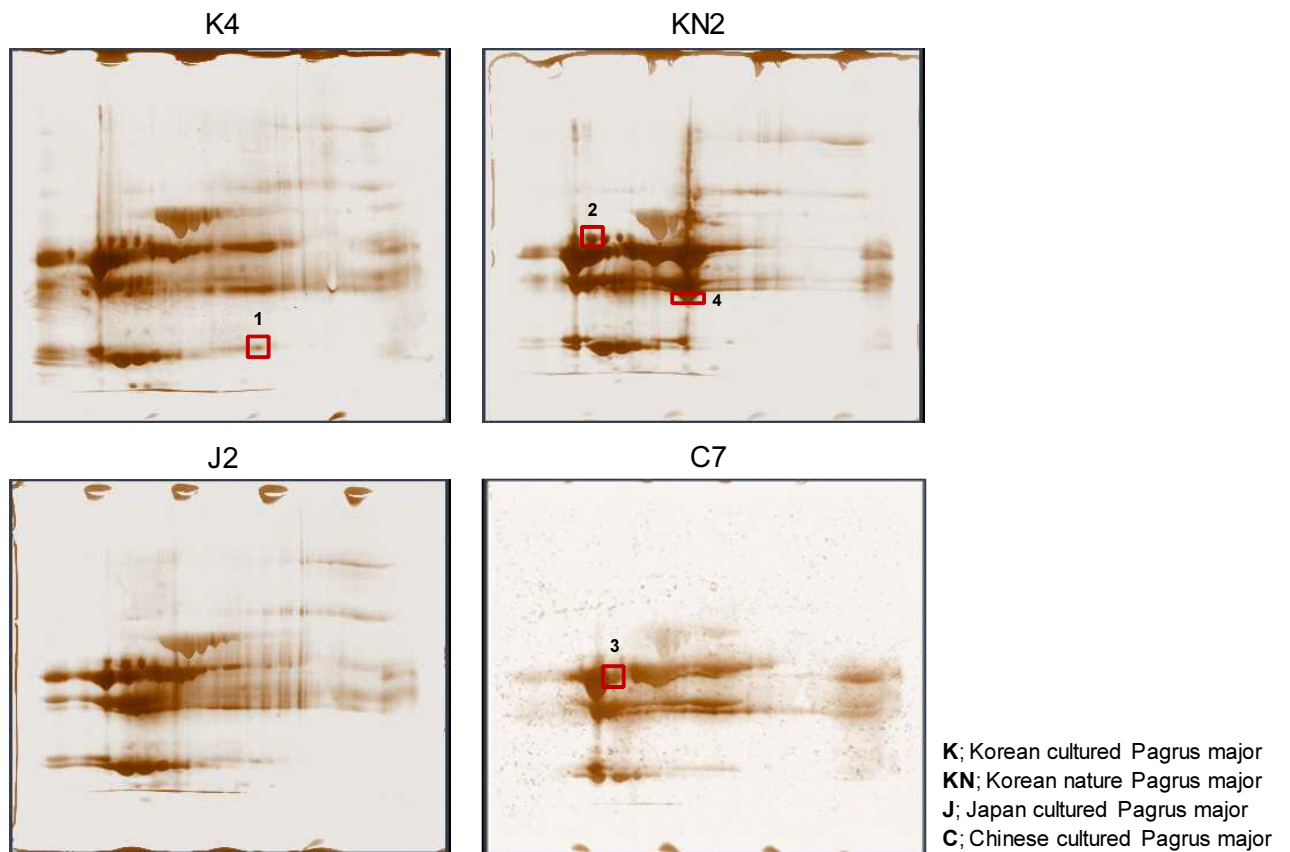


Fig. 48. 원산지 따른 참돔 근육시료의 단백질 발현양상 비교

백질 발현 패턴이 다르게 나타나며, 이는 여러 확인 연구들 이후 원산지 식별법으로 개발될 수 있다고 결론지음.

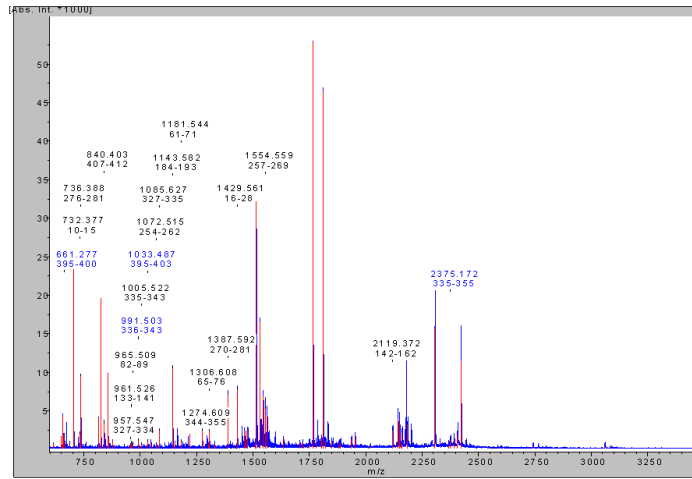


Fig. 49. 한국 양식산 참돔 근육시료에 관한 MALDI-TOF 분석결과

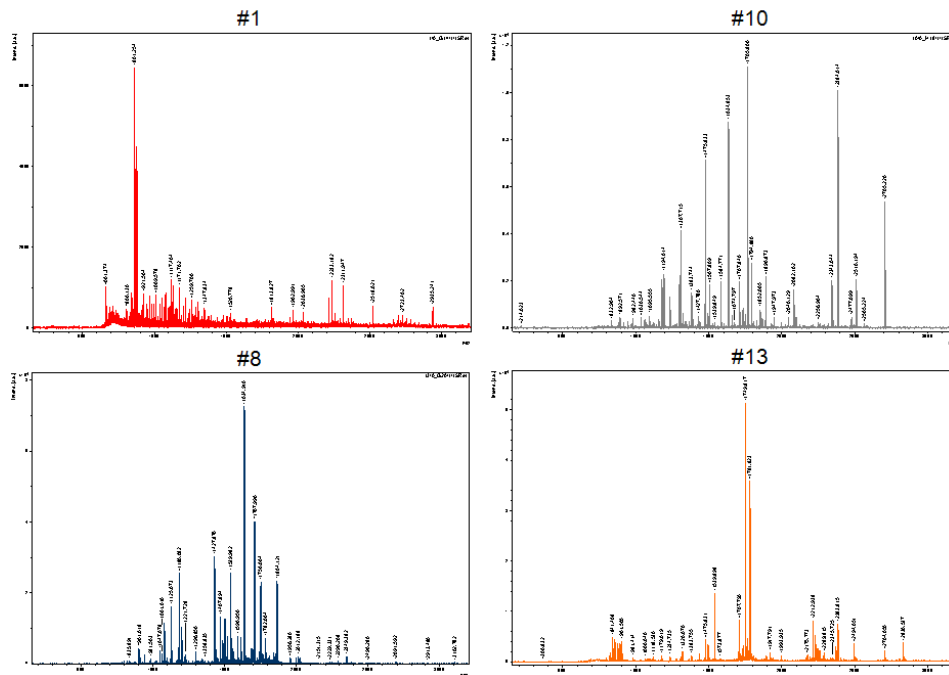


Fig. 50. 한국 자연산 (KN#2), 한국 양식산 (K#4), 중국 양식산 (C#7)간 참돔 근육시료에 관한 MALDI-TOF 분석

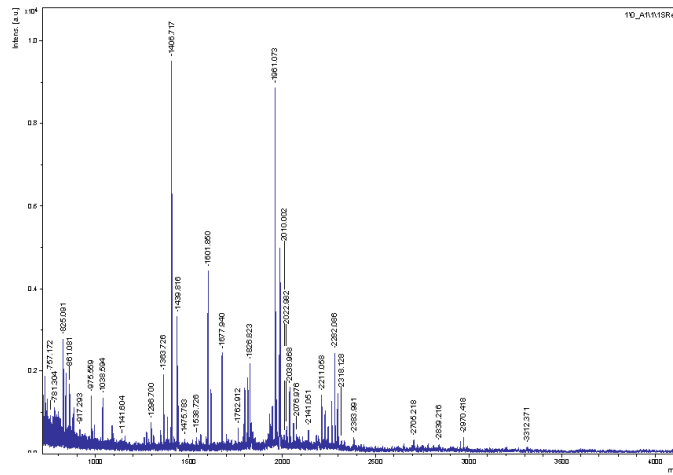


Fig. 51. 한국 자연산 (KN#4) 참돔 간시료에 관한 MALDI-TOF 분석결과

Matched peptides

10	20	30	40	50	60	70	80
MSITKIQARE	ILDSRCNPTV	EVDLWTAKGL	FRAAVPSGAS	TGVHEALELR	DGDKSRYL GK	GTLKAVDHVN	KDIAPKLIK
90	100	110	120	130	140	150	160
KFSVVEQEKI	DOFMLELDGT	ENKSQFGANA	ILGVSLAVCK	AGAAEKGLPL	YRHIADLAGH	KDVILPVPAP	NVINGGSHAG
170	180	190	200	210	220	230	240
NKLMQEFMI	LPVGAANFHE	AMRIGAEVYH	NLKSIVIKAKY	GKDATNVGDE	GGFAPNILEN	NEALELLKSA	IEKAGYDPI
250	260	270	280	290	300	310	320
IIGMDVAASE	FYRSGKYDLD	FKSPDDPSRH	ISGEKLDLY	RSFIQNYFPVQ	SIEDPFDQDD	WENWAKFTAS	TDIQIVGDDL
330	340	350	360	370	380	390	400
TVTNPKRQQ	AVDKKACNCL	LLKVNQIGSV	TESIKACKLA	QSSGWGMVVS	HRSGETEDTF	ISDLVVGLCT	GQIKTGAPCR
410	420	430	440				
SERLAKYNQL	MRIEELGDK	AKFAGKNFRH	P				

Red color, matched sequences

Sequence Name: muscle-specific enolase [*Tetraodon nigroviridis*]

Source: *Tetraodon nigroviridis*

One of the pufferfish known as the green spotted puffer (the other being *Tetraodon Fluviatilis*)



ORIGIN

1 MSITKIQARE ILDSRCNPTV EVDLWTAKGL FRAAVPSGAS TGVHEALELR DGDKSRYL GK
 61 GTLKAVDHVN KDIAPKLIK KFSVVEQEKI DOFMLELDGT ENKSQFGANA ILGVSLAVCK
 121 AGAAEKGLPL YRHIADLAGH KDVILPVPAP NVINGGSHAG NKLMQEFMI LPVGAANFHE
 181 AMRIGAEVYH NLKSIVIKAKY GKDATNVGDE GGFAPNILEN NEALELLKSA IEKAGYDPI
 241 IIGMDVAASE FYRSGKYDLD FKSPDDPSRH ISGEKLDLY RSFIQNYFPVQ SIEDPFDQDD
 301 WENWAKFTAS TDIQIVGDDL TVTNPKRQQ AVDKKACNCL LLKVNQIGSV TESIKACKLA
 361 QSSGWGMVVS HRSGETEDTF ISDLVVGLCT GQIKTGAPCR SERLAKYNQL MRIEELGDK
 421 AKFAGKNFRH P

Red color, matched peptides

Fig. 52. 한국 양식산 (K#3) 참돔 근육시료 단백질 spot#5의 상응 단백질 서열

Matched peptides

Start - End	Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	ppm	Miss Sequence
1 - 17	1885.9050	1884.8977	1884.7845	60	0 - .MAEFPDLGAHCSETFCK.Q
32 - 41	1307.7150	1306.7077	1306.6856	17	1 K.IFCKDHILYR.Q
32 - 50	2384.0140	2383.0067	2383.1201	-48	2 K.IFCKDHILYRQHNCESYK.K
42 - 50	1095.5550	1094.5477	1094.4451	94	0 R.QHNCESYK.K
52 - 68	1791.7940	1790.7867	1790.9423	-87	0 K.DVQVPVCPNAPIPVK.R
52 - 69	1947.9730	1946.9657	1947.0434	-40	1 K.DVQVPVCPNAPIPVKR.G
70 - 83	1605.7980	1604.7907	1604.8271	-23	1 R.GELPIDIRVGEHIDR.D
84 - 93	1179.6280	1178.6207	1178.5350	73	2 R.DCKSDKAEQR.R
137 - 155	1890.8730	1889.8657	1889.9707	-56	1 K.GYQDGRAVSNAGAAAAILR.N
144 - 161	1741.8800	1740.8727	1740.9594	-50	2 R.AVSNAGAAAAILRNKGSNK.A
158 - 167	948.4410	947.4337	947.4784	-47	1 K.GSNKASSAAR.S
168 - 190	2349.0410	2348.0337	2348.1073	-31	0 R.SSGTAASRPSNRPQQTMMASAGR.E

Sequence Name: **hypothetical protein BRAFLDRAFT_284089** [*Branchiostoma floridae*]
 Source: *Branchiostoma floridae*

A group of primitive chordates
 (the other being *Lancelet*)



ORIGIN

1 MAEFPDLGAH CSETFCKQLD FLPKDCDCE KIFCKDHILY RQHNCESYK
 51 KDVQVPVCPN CHAPIPVKRG ELPDIRVGEH IDRDCKSDKA EQRKRIYTNR
 101 CNVKGCKQKE LIPVVCDSCR KNFCLKHRHT TDHNCCKGYQD TGRAVSNAGA
 151 AAILRNKGSN KASSAARSSG TAASRPSNRP QQTMMASAGR ELDRQQTMAN
 201 VGAAQALQAG LSEDEAMALA LQOSLAEEQA KGQOKPMTQQ EQDDLALAAQ
 251 LAASEQEALS QQRGRQGNQ DKNSCSVS

Red color; matched peptides

Fig. 53. 한국 양식산 (K#4) 참돔 근육시료 단백질 spot#1의 상응 단백질 서열

Matched peptides

Start - End	Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	ppm	Miss Sequence
23 - 44	2257.9380	2256.9307	2257.1301	-88	0 K.ENVGTVVGDIDLTYSYCVGVFK.N
121 - 136	1752.8770	1751.8697	1751.9352	-37	1 K.KTKPHIQVDIGGGQMK.S Oxidation (M)
137 - 150	1538.6830	1537.6757	1537.7698	-61	0 K.SFAPEEISAMVLTK.H Oxidation (M)
137 - 152	1781.8230	1780.8157	1780.9103	-53	1 K.SFAPEEISAMVLTKM.K.E
153 - 161	981.4140	980.4067	980.4814	-76	0 K.ETAAYLGGK.K
153 - 162	1109.4850	1108.4777	1108.5764	-89	1 K.ETAAYLGGK.V
260 - 269	1307.7230	1306.7157	1306.7107	4	1 R.VMEHFIKLYK.K
325 - 342	2212.9380	2211.9307	2212.1020	-77	1 K.FEELNDDLFSTMKPVQK.V
325 - 342	2244.8720	2243.8647	2244.0919	-101	1 K.FEELNDDLFSTMKPVQK.V 2 Oxidation (M)
434 - 445	1365.7140	1364.7067	1364.8504	-105	2 K.LIPRNTVVPTTKK.S
438 - 462	2704.6500	2703.6427	2703.4443	73	2 R.NTVVPTKKSQIFSTASDNQPTVTIK.V
531 - 545	1787.8130	1786.8057	1786.8519	-26	1 R.LTPEDIERMVDAER.F
539 - 551	1539.8980	1538.8907	1538.6671	145	1 R.HVHDAERFADEK.R
557 - 571	1771.8310	1770.8237	1770.8788	-31	1 R.IDARNELESYAYSILK.N
561 - 579	2228.9060	2227.8987	2228.0960	-89	2 R.NELESYAYSILKNQIGDKEK.L
620 - 631	1383.7550	1382.7477	1382.7657	-13	0 K.ELEEVVQPIISK.L

Sequence Name: **glucose-regulated protein 78** [*Paralichthys olivaceus*]
 Source: *Paralichthys olivaceus*

Asymmetric character, with both eyes lying on the same side
 of the head in the adult fish (the other being *flatfish*)



ORIGIN

1 HKLLWVHLV TGTVFADDD KENVGTVVG IDLTYSYCV GVFKNRVEI
 51 IANDQGNRIT PSYVFTSEG ERLIGDAKN QLTSPNENTV FDKRLIGRT
 101 WGDSTVQQDI KYLPFKVTEK KTKPHIQVDI GGGQMKSFAP EESISAMVLTK
 151 MKETAAYLGG KKVTHAVVTV PAYFNDAQRQ ATKDAGTIAG LIVMRIINEP
 201 TAAAIAYGLD KRDEKNILV FDLGGGTFDV SLLTIDNGVF EVVATNGDTH
 251 LGGEDFDQRV MEHFIKLYKK KTGKDVKRDN RAVQKLRREV EKAKRGLSAQ
 301 HQARIEIESF FEGEDFSETL TRAKFEELNM DLFRSTMKPV QKVLDDSLK
 351 KSDIDEIVLV GGSTRIPKIQ QLVKEFFNGK EPSRGINPDE AVAYGAAVQA
 401 GVLSGEEDTG DVVLLDVCPL TLGIETVGGV MTKLIPRNTV VPTKKSQIFS
 451 TASNQPTVT IKVYEGEERPL TKDNHLLGTF DLTGIPAPR GVPQIEVTFE
 501 IDVNGILRVT AEDKGTGNKN KITTITNDQNR LTPEDIERMV NDAERFADE
 551 KRLKERIDAR NELESYAYSIL KNQIGDKEKL GGLSDDDK EAIKAVEEKI
 601 EWHESHQDAE LEDFQAQKKE LEEVVQPIIS KLYGSAGGPP FEGAESQDE
 631 KDEL

Red color; matched peptides

Fig. 54. 한국 자연산 (KN#2) 참돔 근육시료 단백질 spot#10의 상응 단백질 서열

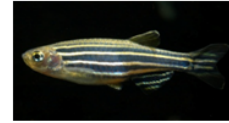
Matched peptides

Start - End	Observed	Mr (expt)	Mr (calc)	ppm	Miss	Sequence
84 - 98	1677.9400	1676.9327	1676.9210	7	0	R.LVLEVAQH LGENTVLR.T
99 - 110	1262.6850	1261.6777	1261.6336	35	0	R.TIAMDGTEGLVR.G
114 - 132	1961.0730	1960.0657	1960.1106	-23	1	K.VLDTGAPIRIPVGPETLGR.I
123 - 132	1038.5940	1037.5867	1037.5869	-0	0	R.IPVGPETLGR.I
133 - 144	1385.7480	1384.7407	1384.7020	28	0	R.IMNVIGEPIDER.G
133 - 150	1969.0220	1968.0147	1968.0350	-10	1	R.IMNVIGEPIDERGPSTK.Q
151 - 177	2954.4320	2953.4247	2953.4743	-17	0	K.QTAPIHAEAPEFTDMSVQEILVTGK.V
178 - 187	1088.6300	1087.6227	1087.6277	-5	0	K.VVDLLAPYAK.G
191 - 201	975.5590	974.5517	974.5549	-3	0	K.IGLFGGAGVGK.T
215 - 228	1406.7170	1405.7097	1405.6739	26	0	K.AHGGYSVFAGVGR.T
229 - 248	2318.1280	2317.1207	2317.1372	-7	1	R.TREGNDLYHEMIESGVINLK.D
231 - 248	2060.9770	2059.9697	2059.9884	-9	0	R.EGNDLYHEMIESGVINLK.D
254 - 268	1601.8500	1600.8427	1600.8031	25	0	K.VALVYQQMNEPPGAR.A
271 - 283	1439.8160	1438.8087	1438.7820	19	0	R.VALTGLTVAEYFR.D
300 - 313	1435.7780	1434.7707	1434.7467	17	0	R.FTQAGSEVSALLGR.I
314 - 334	2266.1080	2265.1007	2265.0770	10	0	R.IPSAVGYQPTLATDMGTMQER.I
377 - 395	1988.0090	1987.0017	1987.0262	-12	0	R.ALAELGIYPAVDPLDSTSR.I
396 - 411	1829.7700	1828.7627	1828.8778	-63	0	R.IMDPNIVGTEHYDVAR.G

Sequence Name: **mitochondrial ATP synthase beta subunit-like [Danio rerio]**

Source: *Danio rerio*

A tropical freshwater fish belonging to the minnow family (the other being zebrafish)



ORIGIN

```

1 MLGAVGRCCIT GALQALKPGV HPLKALNGAP SLFSRRGYAA FAAAAAASG
51 RIVAVIGAVV DVQFDEGLPP ILNALEVAGR DSRLVLEVAQ HLGENTVRTI
101 AMDGTEGLVR GQKVLDTGAP IRIIPVGPETL GRIMNVIGEP IDERGPSTK
151 QTAPIHAEAP EFTDMSVQE ILVTGKIVVD LLAPYAKGK IGLFGGAGVG
201 KTVLIMELIN NVAKAHGGYS VFAGVGRTR EGNLDYHEMI ESGVINLKDI
251 TSKVALVYQG MNEPPGARAR VALTGLTVAE YFRDQEGQDV LLFIDNIFRF
301 TQAGSEVSAL LGRIPSAVGY QPTLATDMGT MQERITTTK GSITSVQAIY
351 VFADDLTDPA PATTFALHDA TTVLSRAIAE LGIYPAVDPL DSTSRIMDPN
401 IVGTEHYDVA RGVQKILQDY KSLQDIIAL GMDELSEGDK LTVARARKIQ
451 RFLSQPFQVA EVFTGHLGKL VPLKETIKGF KSLILGGEYDA LPEQAFYVMG
501 PIEEVVQKAE KLAEEHS
    
```

Red color, matched peptides

Fig. 55. 한국 자연산 (KN#2) 참돔 근육시료 단백질 spot#8의 상응 단백질 서열

Matched peptides

Start - End	Observed	Mr (expt)	Mr (calc)	ppm	Miss	Sequence
23 - 44	2257.9380	2256.9307	2257.1301	-88	0	K.ENVGTVVGGIDLGTTCYCVGVFK.N
121 - 136	1752.8770	1751.8697	1751.9352	-37	1	K.KTKPHIQVDIGGQMK.S Oxidation (M)
137 - 150	1538.6830	1537.6757	1537.7698	-61	0	K.SFAPEEISAMVLT.K.M Oxidation (M)
137 - 152	1781.8230	1780.8157	1780.9103	-53	1	K.SFAPEEISAMVLT.K.M.E
153 - 161	981.4140	980.4067	980.4814	-76	0	K.ETAEAYLKK.K
153 - 162	1109.4850	1108.4777	1108.5764	-89	1	K.ETAEAYLKK.V
260 - 269	1307.7230	1306.7157	1306.7107	4	1	R.VNEHFIKLYK.K
325 - 342	2212.9380	2211.9307	2212.1020	-77	1	K.FEELNDDLFRSTMKPVQK.V
325 - 342	2244.8720	2243.8647	2244.0919	-101	1	K.FEELNDDLFRSTMKPVQK.V 2 Oxidation (M)
434 - 445	1365.7140	1364.7067	1364.8504	-105	2	K.LIPRNTVVP.TKK.S
438 - 462	2704.6500	2703.6427	2703.4443	73	2	R.NTVVPTKKSQIFSTASDNQPTVTIK.V
531 - 545	1787.8130	1786.8057	1786.8519	-26	1	R.LTPEDIERNVDAER.F
539 - 551	1539.8980	1538.8907	1538.6671	145	1	R.MVNDNERFAEDK.R
557 - 571	1771.8310	1770.8237	1770.8788	-31	1	R.IDARNELESYAYSLK.N
561 - 579	2228.9060	2227.8987	2228.0960	-89	2	R.NELESYAYSLKNQIGDKK.L
620 - 631	1383.7550	1382.7477	1382.7657	-13	0	K.ELEEVQPIISK.L

Sequence Name: **glucose-regulated protein 78 [Paralichthys olivaceus]**

Source: *Paralichthys olivaceus*

Asymmetric character, with both eyes lying on the same side of the head in the adult fish (the other being flatfish)



ORIGIN

```

1 MKLLVWVMLV TGTVFADDDD KKENVGTUVG IDLGTTCYCV GVFKNGRVEI
51 IANDQGNRIT PSYVFTSEG ERLIGDAAKN QLTSNPENTV FDKRLIGRT
101 WGDSTVQQDI KYLPFKVTEK KTKPHIQVDI GGGQMKSEAP EEISAMVLTK
151 MKETAEAYLG KKVTHAVTV PAYFNDAQRQ ATKDAGTIAG LIVMRIINEP
201 TAAAIAYGLD KRDKENILV FDLGGGTFDV SLLTIDNVGF EVVATNGDTH
251 LGGEDFDQRV MEHFIKLYKK RTGKDVRKDN RAVQKLRREV EKAKRGLSAQ
301 HQARIEIESF FEGEDFSETL TRAKFEELNM DLFIRSTMKPV QVLEDSDLK
351 KSDIDEIVLV GGSTRIPKIQ QLVKEFFNGK EFSRGINPDE AVAYGAAVQA
401 GVLSGEEDTG DVVLLDVCP LGLIETVGGV MTKLIPRNTV VPTKKSQIFS
451 TASDNQPTVT IKVYEGERPL TKDNHLLGTF DLGTGIPAPR GVPQIEVTFE
501 IDVNGILRVT AEDKGTGNKN KITTITNDQNR LTPEDIERNV NDAERFAED
551 KRLKERIDAR NELESYAYSL KNQIGDKKEL GGKLSDDDKK AIEKAVEEKI
601 EWMESHQDAE LEDFQAKKKE LEEVQPIIS KLYGSAGGPP PEGAESQDE
651 KDEL
    
```

Red color, matched peptides

Fig. 56. 중국 양식산 (C#7) 참돔 근육시료 단백질 spot#13의 상응 단백질 서열

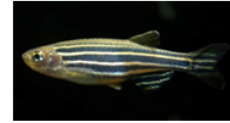
Matched peptides

Start - End	Observed	Mr (expt)	Mr (calc)	ppm	Miss	Sequence
84 - 98	1677.9400	1676.9327	1676.9210	7	0	R.LVLEVAQH LGENTV R.T
99 - 110	1262.6850	1261.6777	1261.6336	35	0	R.TIAMDGT EGLV R.G
114 - 132	1961.0730	1960.0657	1960.1106	-23	1	K.VLDTGAP I R I P V G P E T L G R . I
123 - 132	1038.5940	1037.5867	1037.5869	-0	0	R.IPVGPETLGR.I
133 - 144	1385.7480	1384.7407	1384.7020	28	0	R.IMNVIGEPIDER.G
133 - 150	1969.0220	1968.0147	1968.0350	-10	1	R.IMNVIGEPIDERGPISTK.Q
151 - 177	2954.4320	2953.4247	2953.4743	-17	0	K.QTAPIHAEAPEFTDMSVQEILVTGIK.V
178 - 187	1088.6300	1087.6227	1087.6277	-5	0	K.VVDLLAPYAK.G
191 - 201	975.5590	974.5517	974.5549	-3	0	K.IGLFGGAGVGK.T
215 - 228	1406.7170	1405.7097	1405.6739	26	0	K.AHGGYSVFAGVGER.T
229 - 248	2318.1280	2317.1207	2317.1372	-7	1	R.TREGNDLYHEMIESGVINLK.D
231 - 248	2060.9770	2059.9697	2059.9884	-9	0	R.EGNDLYHEMIESGVINLK.D
254 - 268	1601.8500	1600.8427	1600.8031	25	0	K.VALVYQGMNEPPGAR.A
271 - 283	1439.8160	1438.8087	1438.7820	19	0	R.VALTGLTVAEYFR.D
300 - 313	1435.7780	1434.7707	1434.7467	17	0	R.FTQAGSEVSALLGR.I
314 - 334	2266.1080	2265.1007	2265.0770	10	0	R.IPSAVGYQPTLATDMGTMQER.I
377 - 395	1988.0090	1987.0017	1987.0262	-12	0	R.ALAELGIYPAVDPLDSTR.I
396 - 411	1829.7700	1828.7627	1828.8778	-63	0	R.IMDPNIVGTEHYDVAR.G

Sequence Name: mitochondrial ATP synthase beta subunit-like [*Danio rerio*]

Source: *Danio rerio*

A tropical freshwater fish belonging to the minnow family (the other being zebrafish)



ORIGIN

```

1 MLGAVGRCC T GALQALKPGV HPLKALNGAP SLFSRRGYAA FAAAAAASG
51 RIVAVIGAVV DVQFDEGLPP ILNALEVAGR DSRLVLEVAQ HLGENTVRTI
101 AMDGTEGLVR GQKVLDTGAP I R I P V G P E T L G R I M N V I G E P I D E R G P I S T K
151 QTAPIHAEAP EFTDMSVEQE I L V T G I K V V D L L A P Y A K G G K I G L F G G A G V G
201 KTVLIMELIN NVAKAHGGYS VFAGVGERTR EGNDLYHEMI ESGVINLKDI
251 TSKVALVYQG MNEPPGARAR VALTGLTVAE YFRDQEGQDV LLFIDNIFRF
301 TQAGSEVSAL LGRIPSAVGY QPTLATDMGT MQERITTTKK GSITSVQAIY
351 VFADDLTDPA PATTFAHLDA TTVLSRAIAE LGIYPAVDPL DSTSRIMDPN
401 I V G T E H Y D V A R G V Q K I L Q D Y K S L Q D I I A I L G M D E L S E G D K L T V A R A R K I Q
451 RFLSQPFQVA EVFTGHLGKL VPLKETIKGF KSILGGEYDA LPEQAFYVMG
501 PIEEVVQKAE KLAEEHS
    
```

Red color; matched peptides

Fig. 57. 한국 자연산 (KN#4) 참돔 간 시료 단백질 spot#1의 상응 단백질 서열

2D-PAGE spot	Monoisotopic m/z	Intensity	Peptide mass	Calculated mass	Peptide sequence	BLAST match results [species]
1	732.377	2072.74	731.3697	731.3813	R.EILDSR.G	Enolase 3 (beta, muscle)
	2150.313	3390.17	2149.3057	2149.0903	R.EILDSRGNPTVEVDLYTTK.G	[<i>Danio rerio</i>]
	1306.608	2315.82	1305.6007	1305.7041	K.AVDHVNKDIAPK.L	
	965.509	673.22	964.5017	964.4866	K.FSVVEQEKI	
	704.388	23638.03	703.3807	703.4017	K.GVPLYRH	
	2119.372	2432.28	2118.3647	2118.1222	K.DVILPVPFNVINGGSHAGNK.L	
	1143.582	10551.89	1142.5747	1142.6084	R.IGAEVYHNLK.N	
	1072.515	655.5	1071..5077	1071.5237	K.SGKYDLDFK.S	
	1005.522	592.84	1004.5147	1004.5511	K.KACNCLLLK.V	
	991.503	1147.55	990.4957	990.499	K.ACNCNLLK.V 2 Carbamidomethyl(C)	
	661.277	1931.32	660.2697	660.3013	K.TGAPCR.S Carbamidomethyl(C)	
	1033.487	986.2	1032.4797	1032.4771	K.TGAPCRSER.L Carbamidomethyl(C)	
	824.411	19618.13	823.4037	823.401	K.YNQLMR.I	
	840.403	3375.57	839.3957	839.429	K.FAGKDFR.H	

Table 28. MALDI-TOF와 DB로 확인된 펩타이드 시퀀스와 DB검색 결과

다. 참돔 종내 원산지 판별을 위한 표지 단백질의 발현 확인

- 한국 자연산과 비교하여, 한국 양식산, 일본 양식산, 중국 양식산 근육 시료에서 muscle-specific enolase 단백질의 발현이 유의성 있게 증가되어있는 것을 확인함
- 이러한 연구 결과에 따라서, muscle-specific enolase는 한국 자연산 유

해 참돔을 한국-일본-중국 양식산 참돔과 구분하는 단백질 마커로써 사용할 수 있다고 결론지음

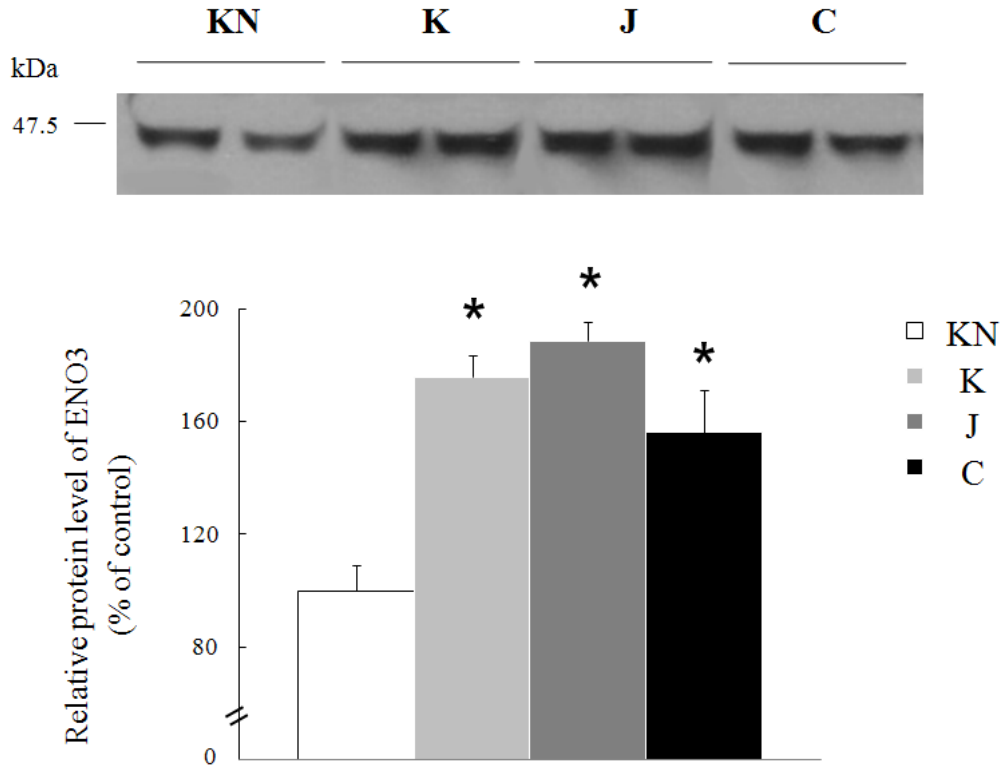


Fig. 58. 원산지별 참돔 근육시료에서 muscle-specific enolase 단백질 발현 양상 비교: Western Blot

제 4 절 참돔 원산지 식별을 위한 마이크로새틀라이트 마커 분석

1. 서론

- 최근 생물의 집단이나 개체를 구분하는 방법으로 마이크로새틀라이트 DNA마커가 활용되고 있음
- 마이크로새틀라이트(Microsatellite) DNA는 CACACACA 같이 2-3개의 염기가 반복적으로 연결된 구조를 갖는 짧은 DNA 단편으로 대부분의 진핵 생물 게놈에 있으며, 특히 non-coding DNA에 주로 분포함
- 각 개체별로 반복단위(예, CA)가 다양하게 나타날 수 있고 반복서열이 복제되면서 자손에게 전달됨: 세대를 거치면서 개체들 간에 마이크로새틀라이트가 재조합되고 보존되면서 다양성이 나타남
- 생식적 격리가 이루어 질 수 있는 다른 집단 사이에는 좀 더 다양한 polymorphism에 따른 특성화가 이뤄질 수 있음
- 다른 DNA마커에 비해 개체 간 높은 polymorphism을 보여주어 같은 종 내의 품종 간 차이 혹은 개체간 차이를 판정하는데 다른 방법보다 효율적이라고 보고됨 (Kwon et al, 2003; Morgante and Olivieri, 1993)
- 본 연구에서는 참돔의 집단 별 차이를 고려하여 원산지를 판별하고자 하였음
- 한국산 참돔 시료에 대해서 마이크로새틀라이트를 직접 분석하였으며, 일본, 중국산 참돔에 대해서는 문헌에 나온 마이크로새틀라이트 정보를 이용하여 비교하였음

2. 재료 및 방법

가. 시료 확보

- 한국산 참돔은 자연산 6개체와 양식산 14개체 총 20개체를 분석함
- 일본산과 중국산 참돔은 일본 3개 집단, 중국 2개 집단의 자료를 Perez-Enriquez and Taniguchi(1999)에서 참조함

종명	구분 (상품명)	개체수	원산지	어획시기	시료 구입처 혹은 제공자
참돔 (<i>Pagrus major</i>)	한국 자연산	6	완도	2008.01	부산자갈치시장
	양식	5	한국	2007.12	수산물품질검사원
		3	한국	2008.02	시흥시 소래포구
		6	한국	2009.04	여수 싱싱회수산

Table 29. 마이크로새틀라이트를 이용한 원산지 판별에 사용된 참돔 시료

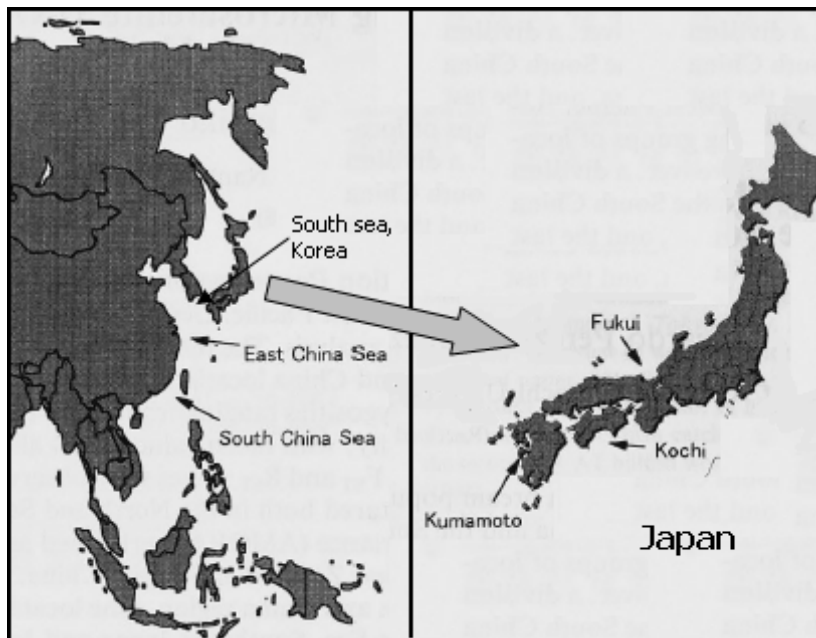


Fig. 59. 참고자료에서 추가한 일본, 중국 참돔 시료의 채집 위치

나. 참돔의 집단별 마이크로새틀라이트 분석

1) gDNA 추출

- 총 20개 시료에서 gDNA를 DNeasy_Tissue kit를 사용하여 추출함

2) 마이크로새틀라이트 마커 DNA 증폭 (Polymerase Chain Reaction)

- 마이크로새틀라이트 마커 2개 (*Pma3*, *Pma5*)가 분석 대상이 됨

Primer	Sequence (5'-3')	Annealing temp.	Band size	Dye	Reference
<i>Pma3</i>	F GGTTTAGCAAGAGAAAGGG R TAAACATGACAAACTGAGGTG	51	87-189	Fam	Takagi <i>et. al.</i> 1997
<i>Pma5</i>	F TCGGATTGAGTATCTGTGGG R AGGTTCTCCGTCACCTGTCC	53	121-160	Fam	

Table 30. 마이크로새틀라이트 분석에 사용된 프라이머 정보

- *Pma3*와 *Pma5* 마커 증폭을 위하여 증폭혼합물을 각 시료 gDNA 1ul와 2.5mM의 dNTP, 0.5U의 Super Taq(SUPER BIO, Osong, Korea), 1.5mM MgCl₂, 1X Super taq buffer, 0.2mM의 primer로 구성하였으며, 증폭은 DNA engine(MJ Research, Inc.)을 사용하여 94°C에서 5분간 변성시킨 후 94°C 1분, 52°C 1분, 72°C 2분 과정을 35회 반복하고 72°C에서 7분간 연장 반응시켰음
- 증폭산물은 1.5% agarose gel 상에서 증폭 여부를 확인하고 ABI PRISM_310 Genetic Analyzer로 증폭산물의 크기를 분석함

3. 결과 및 토의

- 한국, 중국, 일본산 참돔 집단의 유전적 다양성
 - *Pma3*는 최대 31개의 allele을 보였으며 모든 집단에서 높은 이형접합도 (heterozygosity)를 보임
 - 반면 *Pma5*는 예측된 이형접합도보다 다른 집단에 비해 한국 집단에서 낮게 나타남: 일본과 중국 집단은 이 마커에서 Hardy-Weinberg equilibrium에 있다고 볼 수 있으나 한국 집단은 inbreeding 등 특정 영향 하에서 비평형 상태에 있다고 볼 수 있음
 - 한국 참돔은 일본과 중국 참돔과 달리 분석된 시료의 70%가 양식산 어류가 포함된 영향이 있다고 생각됨
- 한국, 중국, 일본산 참돔의 집단 특이적 마이크로새틀라이트 대립형질
 - *Pma3* 마이크로새틀라이트 마커에서 89bp, 97bp, 111bp 크기의 대립형질이 한국 참돔에서만 나타나고 115bp 대립형질은 나타나지 않아, 네

개의 대립형질로써 한국산 참돔 집단이 타 집단과 구분됨 (Fig. 60); 남중국해산 참돔은 91bp 대립형질의 빈도가 높고, 115bp 대립형질의 빈도가 낮아 타 집단과 구분됨 (Fig. 60)

- *Pma5* 마이크로새틀라이트 마커의 경우에는 149bp 크기의 대립형질이 한국 참돔에서만 나타나고 131bp 크기의 대립형질은 나타나지 않아, 한국산 참돔 집단을 타 집단과 구별함 (Fig. 61); 남중국해산 참돔은 129bp, 131bp 크기의 대립형질 빈도가 높아 타 집단과 구분됨

Population		<i>Pma 3</i>	<i>Pma 5</i>	Mean	
Korea	Sample size	17	20		
	No. of Alleles	14	16	15	
	Heterozygosity	(H _o)	0.765	0.588	0.676
		(H _e)	0.904	0.929	0.916
		(H _o /H _e)	0.846*	0.633*	0.739
Japan (Kochi)	Sample size	80	80		
	No. of Alleles	31	21	26	
	Heterozygosity	(H _o)	0.763	0.900	0.831
		(H _e)	0.916	0.903	0.909
		(H _o /H _e)	0.832*	0.996*	0.914
Japan (Fukui)	Sample size	80	80		
	No. of Alleles	30	21	25.5	
	Heterozygosity	(H _o)	0.875	0.888	0.881
		(H _e)	0.939	0.909	0.924
		(H _o /H _e)	0.932	0.977	0.954
Japan (Kumamoto)	Sample size	80	80		
	No. of Alleles	27	20	23.5	
	Heterozygosity	(H _o)	0.950	0.888	0.919
		(H _e)	0.940	0.882	0.911
		(H _o /H _e)	1.010	1.006	1.008
East China Sea	Sample size	78	74		
	No. of Alleles	28	21	24.5	
	Heterozygosity	(H _o)	0.948	0.959	0.953
		(H _e)	0.929	0.899	0.914
		(H _o /H _e)	1.021	1.066	1.043
South China Sea	Sample size	80	80		
	No. of Alleles	23	17	20	
	Heterozygosity	(H _o)	0.875	0.913	0.894
		(H _e)	0.906	0.855	0.880
		(H _o /H _e)	0.966	1.067	1.016

*Departed from Hardy-Weinberg equilibrium (Markov chain procedure, p<0.05)

Table 31. *Pma3*와 *Pma5*에서 보이는 참돔 집단의 유전적 다양성

Allele size (bp)	Korea	Japan (Kochi)	Japan (Fukui)	Japan (Kumamoto)	East China Sea	South China Sea
<i>Pma 3</i>						
89	0.118	≤0.1	≤0.1	≤0.1	≤0.1	≤0.1
91	0.059	0.050	0.038	0.088	0.051	0.175
97	0.206	≤0.1	≤0.1	≤0.1	≤0.	≤0.1
X*	0.323	0.707	0.662	0.676	0.647	0.614
<i>Pma 5</i>						
125	0.15	0.138	0.019	0.050	0.014	0.025
129	0.075	0.194	0.188	0.269	0.189	0.306
131	0	0.038	0.100	0.063	0.088	0.144
133	0.025	0.063	0.125	0.125	0.169	0.119
137	0.05	0.113	0.056	0.031	0.060	0.038
149	0.175	≤0.1	≤0.1	≤0.1	≤0.1	≤0.1
X*	0.525	0.457	0.513	0.462	0.48	0.369

* Pooled frequencies of minor alleles (frequency 0.1 or less)

Table 32. 집단별 마이크로새틀라이트 *Pma3*와 *Pma5*에 나타난 주요 allele의 빈도

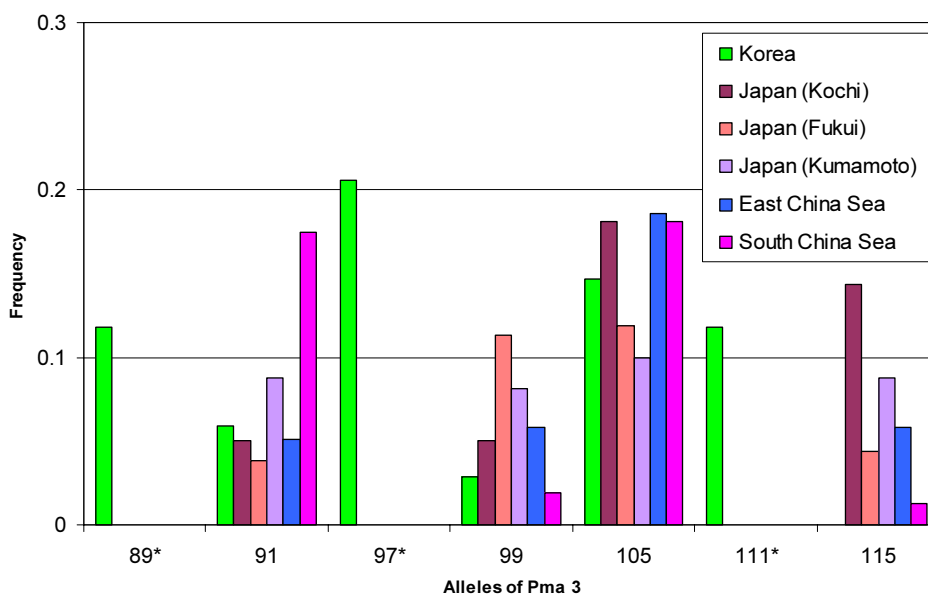


Fig. 60. 참돔 *Pma 3* 마이크로새틀라이트의 집단별 주요 allele 비교

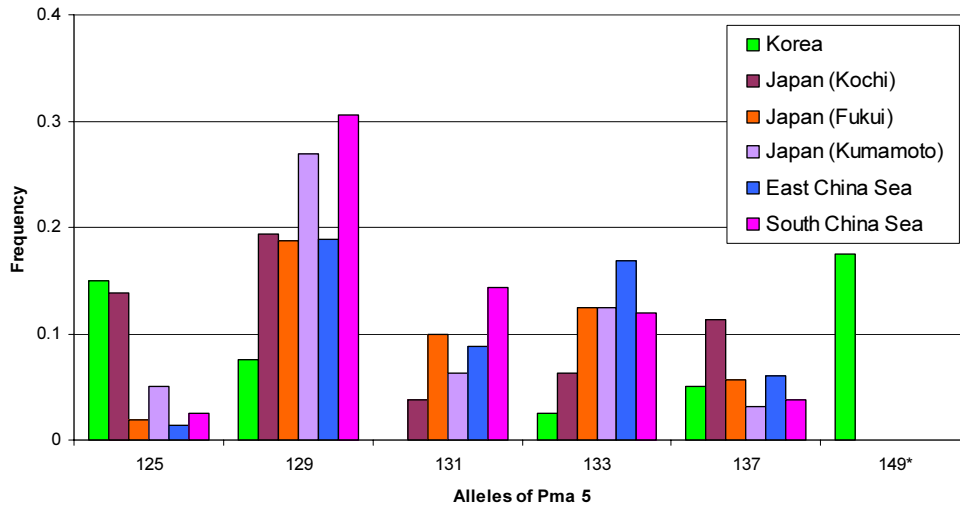


Fig. 61. 참돔 *Pma 5* 마이크로새틀라이트의 집단별 주요 allele 비교

- Pairwise F_{st} 분석 결과는 한국 참돔 집단이 일본과 중국 지역 집단과 유의하게 구별됨을 보여줌; 일본 Kochi 집단과 남중국해 집단도 타 지역 집단과 유의하게 구별됨 ($P < 0.05$) (Table 33)
- 한편, 일본 Fukui, Kumamoto 집단과 동중국해 집단은 서로 유전적 차이가 뚜렷하지 않음

Allele size (bp)	Korea	Japan (Kochi)	Japan (Fukui)	Japan (Kumamoto)	East China Sea	South China Sea
Korea	---					
Japan (Kochi)	+	---				
Japan (Fukui)	+	+	---			
Japan (Kumamoto)	+	+	-	---		
East China Sea	+	+	-	-	---	
South China Sea	+	+	+	+	+	---

Table 33. 집단의 유전적 구조 분석 (F_{st} 를 통해 집단간 유전적 연관성 비교)

제 5 절 시중 유통 수산물의 종과 원산지 표기 진위 판별 예

1. 참돔회의 종 표기 진위 판별

- DNA바코드로 사용되는 COI 유전자 염기서열을 기준으로 시중에 유통되는 참돔회의 종 표기 진위 여부를 판별함; KBS 소비자고발 프로그램의 협조로서 진행됨 (2009. 10. 14 ~ 19)
- 횃집과 일반 식당에서 참돔으로 표기되어 판매되는 시료 총 22개를 획득하여 각 시료당 3점씩 DNA 염기서열을 분석함
- 22개 시료 중 10개 시료가 참돔이 아닌 홍민어나 다른 종에 해당되는 것으로 나타남; 일부 횃집에서 표기된 것과 다른 종의 회를 판매하는 것이 드러남

번호	표기 종명	분석 결과	(유통 장소)	진위 여부
1	참돔	<i>Scienops ocellatus</i> (홍민어/점성어)	일반횃집	X
2	참돔	2점 <i>Pagrus major</i> (참돔); 1점 <i>Paralichthys olivaceus</i> (넙치): 2종류 어류가 섞여 있음	일반횃집	X
3	참돔	<i>Pagrus major</i>	일반횃집	○
4	참돔	<i>Pagrus major</i>	일반횃집	○
5	참돔	<i>Pagrus major</i>	일반횃집	○
6	참돔	<i>Scienops ocellatus</i> (홍민어/점성어)	일반횃집	X
7	참돔	<i>Scienops ocellatus</i> (홍민어/점성어)	선어일식	X
8	참돔	<i>Scienops ocellatus</i> (홍민어/점성어)	선어일식	X
9	참돔	<i>Seriola lalandi</i> (부시리)	선어일식	X
10	참돔	<i>Trachinotus ovatus</i> (전갱이과 어류)	일식집	X
11	참돔	<i>Pagrus major</i>	일반횃집	○
12	참돔	<i>Pagrus major</i>	일반횃집	○
13	참돔	<i>Scienops ocellatus</i> (홍민어/점성어)	일반횃집	X
14	참돔	<i>Pagrus major</i>	일반횃집	○
15	참돔	<i>Pagrus major</i>	일반횃집	○

번호	표기 종명	분석 결과	(유통 장소)	진위 여부
16	참돔	<i>Pagrus major</i>	일반횃집	○
17	참돔	<i>Pagrus major</i>	일반횃집	○
18	참돔	<i>Pagrus major</i>	일반횃집	○
19	참돔	<i>Pagrus major</i>	일반횃집	○
20	참돔	<i>Tilapia mossambica</i> (틸라피아)	해산물 레스토랑	X
21	참돔	<i>Pagrus major</i> (참돔)	일반횃집	○
22	참돔	<i>Mugil cephalus</i> (숭어)	일반횃집	X

Table 34. DNA바코드 활용 참돔회의 진위 판별 사례

2. 홍어 수산물의 종과 원산지 표기 진위 판별

- DNA바코드로 사용되는 COI 유전자 염기서열을 기준으로 시중에 유통되는 홍어 수산물의 종 표기 진위 여부를 판별함; KBS 소비자고발 프로그램의 협조로서 진행됨
 - 횃집과 일반 식당에서 홍어회, 홍어무침, 홍어찜으로 표기되어 판매되는 시료 총 32개를 획득하여 각 시료당 3점씩 COI 염기서열을 분석함
- 32개 시료 중 16개 시료에서 종 명과 원산지가 잘 못 표기됨
 - 가격이 비싼 국산 홍어(참홍어)로 표기된 일부 상품이 칠레산으로 밝혀졌으며, 칠레산 홍어로 표기된 일부 상품은 알래스카-캐나다 등 북미산, 아르헨티나산 등으로 밝혀짐: 30000원 이상의 고가 상품의 경우는 대부분 국산 표기가 맞음
 - 가격이 비교적 싼 홍어무침이나 홍어찜의 경우는 가오리가 섞여 있는 상품이 많았음

번호	장소	품명, 원산지 표시; 가격 (1kg)	진위 여부	종명
1	신당동 식당	홍어회, 국산; 60000원	○	<i>Raja pulchra</i>
2	봉천동 식당	홍어회, 칠레; 12000원	X	<i>Raja rhina</i> ; 알래스카, 캐나다산
3	삼성동 식당	홍어회, 국산; 80000원	○	<i>Raja pulchra</i>
4	서울 A 식당	홍어회, 국산; 40000원	X	<i>Zearaja chilensis</i> ; 아르헨티나, 칠레산
5	논현동 식당	홍어회, 국산; 50000원	○	<i>Raja pulchra</i>
6	성북구 식당	홍어회, 칠레; 35000원	X	<i>Dipturua argentinensis</i> ; 아르헨티나산
7	용산구 식당	홍어회, 국산; 30000원	○	<i>Raja pulchra</i>
8	용산구 식당	홍어무침, 국산; 30000원	○	<i>Raja pulchra</i>
9	논현동 식당	홍어무침, 국산; 35000원	○	<i>Raja pulchra</i>
10	웨딩홀 뷔페 압구정점	홍어무침, 수입	X	<i>Atlantoraja castelnaui</i> , <i>Zearaja chilensis</i> ; 가오리가 섞임
11	강남웨딩 문화원	홍어무침, 수입	X	<i>Atlantoraja cyclophora</i> , <i>Rioraja agassizii</i> ; 가오리가 섞임
12	컨벤션 웨딩홀	홍어무침, 칠레	X	<i>Atlantoraja cyclophora</i> , <i>Bathyraja macloviana</i> , <i>Rioraja agassizii</i> ; 가오리가 섞임
13	웨딩홀 대치점	홍어무침, 미국	X	<i>Sympterygia bonapartii</i> , <i>Psammobatis rudis</i> ; 가오리가 섞임
14	신사동 식당	홍어무침, 아르헨티나 회냉면고명; 8000원	X	<i>Rioraja agassizii</i> , <i>Zearaja chilensis</i> ; 가오리가 섞임
15	해물 뷔페	홍어무침, 국산	X	<i>Sympterygia bonapartii</i> ; 남미산 가오리
16	웨딩홀 뷔페 압구정점	홍어찜 (미표기)	X	<i>Atlantoraja castelnaui</i> ; 가오리속 어류
17	웨딩홀 대치점	홍어찜 (미표기)	X	<i>Atlantoraja castelnaui</i> , <i>Bathyraja griseocauda</i> ; 가오리속 어류
18	부천 식당	홍어회, 국산; 50000원	○	<i>Raja pulchra</i>
19	목포 도소매점 1	홍어회, 국산; 50000원	○	<i>Raja pulchra</i>
20	목포 도소매점 2	홍어회, 국산; 50000원	○	<i>Raja pulchra</i>
21	목포 도소매점 3	홍어회, 국산; 50000원	○	<i>Raja pulchra</i>
22	목포 도소매점 4	홍어회, 국산; 50000원	○	<i>Raja pulchra</i>
23	목포 도소매점 5	홍어회, 국산; 50000원	○	<i>Raja pulchra</i>

번호	장소	품명, 원산지 표시; 가격 (1kg)	진위 여부	종명
24	노량진수산물시장A	홍어회, 국산; 8000원	X	<i>Zearaja chilensis</i> ; 남미산
25	노량진수산물시장B	홍어회, 국산; 10000원	O	<i>Raja pulchra</i>
26	강서 수산물시장	홍어회, 국산; 9000원	O	<i>Raja pulchra</i>
27	인천 식당	홍어회, 국산; 40000원	O	<i>Raja pulchra</i>
28	인천 식당	홍어회, 칠레; 샘플	X	<i>Dipturus argentinensis</i> ; 아르헨티나산
29	가락 수산물시장	홍어회, 칠레; 7000원	X	<i>Bathyraja brachyurops</i> , <i>Zearaja chilensis</i> ; 가오리가 섞임
30	영등포 식당	홍어회, 칠레; 15000원	X	<i>Zearaja chilensis</i> , <i>Dipturus argentinensis</i> ; 아르헨티나산 섞임
31	신길 식당	홍어회, 칠레; 12000원	O	<i>Zearaja chilensis</i>
32	나주영산포 도매 점	홍어회, 아르헨티나산; 15000원	X	<i>Dipturus innominatus</i> ; 뉴질랜드산 가오리

Table 35. DNA바코드 활용 홍어 종과 원산지 표기 진위 판별 예

3. 고래 고기 수산물의 종 표기 진위 판별

- DNA바코드로 사용되는 COI 유전자 염기서열을 기준으로 by-catch로 어획된 고래 고기 상품의 종명 표시 진위를 판별함; KBS 소비자고발 프로그램의 협조로서 진행됨
- 돌고래로 표기된 시료 10개와 밍크고래로 추정되는 시료 14개를 획득하여 각 시료당 3점씩 COI 염기서열을 분석함
- 돌고래 시료의 경우, 2개 시료가 밍크고래로 판명되었으며 1개 시료는 분석되지 않음
- 밍크고래 시료의 경우, 14개 중 4개가 밍크고래가 아닌 돌고래 종류로 판명됨: 가격이 비싼 밍크고래 표기 상품이 돌고래로 판명된 것임

번호	샘플명	분석결과 (시료당 3점씩 분석)	판별
1	돌고래	<i>Phocoena phocoena</i> (쇠돌고래) 92% 일치	o
2	돌고래	<i>Delphinus delphis</i> (참돌고래)	o
3	돌고래	<i>Phocoena phocoena</i> (쇠돌고래) 92% 일치	o
4	돌고래	<i>Phocoena phocoena</i> (쇠돌고래) 92% 일치	o

번호	샘플명	분석결과 (시료당 3점씩 분석)	판별
5	돌고래	Fail	Fail
6	돌고래	<i>Grampus griseus</i> (큰머리돌고래) 94% 일치	o
7	돌고래	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (밍크고래)	x
8	돌고래	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (밍크고래)	x
9	돌고래	<i>Phocoena phocoeana</i> (쇠돌고래) 92% 일치	o
10	돌고래	<i>Phocoena phocoeana</i> (쇠돌고래) 92% 일치	o
11	밍크고래 추정	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (밍크고래)	o
12	밍크고래 추정	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (밍크고래)	o
13	밍크고래 추정	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (밍크고래)	o
14	밍크고래 추정	<i>Grampus griseus</i> (큰머리돌고래) 92% 일치(1) <i>Stenella attenuata</i> (점박이돌고래) 91%(2)	x
15	밍크고래 추정	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (밍크고래)	o
16	밍크고래 추정	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (밍크고래)	o
17	밍크고래 추정	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (밍크고래)	o
18	밍크고래 추정	<i>Phocoena phocoeana</i> (쇠돌고래) 92% 일치	x
19	밍크고래 추정	<i>Phocoena phocoeana</i> (쇠돌고래) 92% 일치	x
20	밍크고래 추정	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (밍크고래)	o
21	밍크고래 추정	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (밍크고래)	o
22	밍크고래 추정	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (밍크고래)	o
23	밍크고래 추정	<i>Phocoena phocoeana</i> (쇠돌고래) 92% 일치	x
24	밍크고래 추정	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (밍크고래)	o

Table 36. DNA바코드 활용 고래 고기 종 판별 사례

게시물: 145

방송일	회차	부제	방송보기
20091218	125	무료 마사지 쿠폰의 함정 / 자동차 공인연비	예고 저화질
20091211	124	고래고기 / 짝퉁	예고 저화질
20091204	123	돼지갈비 / 대리운전	예고 저화질
20091120	122	황성한우 / 노래방	예고 저화질
20091113	121	신종플루 / 남대문 포장마차	예고 저화질
20091106	120	민간구급차 / 여성취업사기?	예고 저화질
20091030	119	모듬회 어종 둔갑 / 자동차 보험료 할증	예고 저화질
20091023	118	서해 어시장 저를 속임수	예고 저화질
20091014	117	불법주차 견인 / 물탱크	예고 저화질
20091007	116	홍어 식품 미물질	예고 저화질

Fig. 62. KBS 소비자 고발에 소개된 DNA 바코드를 이용한 종 및 원산지 판별 위반 사례 적발 예

제 6 절 수입수산물 종판별과 원산지 구분제도

정책방향 제시

1. 서론

- 현재 유통되는 수산물의 종과 원산지 표기에 불분명한 부분이 많아 이를 개선하여 소비자에게 분명한 정보를 제공할 필요가 있음
- 수입수산물의 검역과정에서 종과 원산지에 대해 명확히 구분할 필요가 있으며, 검역과 유통과정의 효율성을 제고할 필요가 있음; 예를 들면 “원양산” 등의 표기는 원산지에 대한 정보가 불분명한 경우임
- 국가 간 수산물 교역량이 증가하면서 종과 원산지를 객관적 표준척도로 신속 정확하게 구분할 필요성이 증대함
- 한편, 가공 처리된 수산물 유통량이 많아 형태에 근거한 식별이 불가능해지고 DNA바코드를 이용하는 분자동정 같은 객관적 판별 기준에 의한 종과 원산지 구분이 절실히 됨
- 또한, 소득수준이 높아지면서 고급 수산물에 대한 소비자의 선호도가 늘어나고 수산물의 종과 원산지에 대한 정확한 정보 수요가 증대됨
- 본 연구에서 참돔, 갈치 및 오징어류의 종과 원산지 판별에 DNA 염기서열이 유용함을 보임
- 수산물의 유전자 정보와 서식지 정보가 포함된 수산물 포털시스템 구축과 함께 종과 원산지 표기의 진위를 쉽게 판별할 수 있는 기술의 도입이 필요함

2. 시행 중인 수산물 원산지 표시 정책

- 현재 시행되는 원산지 표시제는 ‘수산물품질관리법’, ‘식품위생법’을 통합하여 제정된 ‘농수산물의 원산지 표시에 관한 법률(2010. 2. 4 제정)’과 ‘농수산물의 원산지표시에 관한 법률시행령 (2010. 8. 11 제정)’에 근거하여 시행됨
- 농수산물의 원산지 표시에 관한 법률 제2조에 따르면 원산지를 ‘농산물이나 수산물이 생산·채취·포획된 국가·지역이나 해역을 말한다’로 정의
- 동법 제2장 5조는 (대통령령으로 정하는) 농수산물과 농수산물 가공품

의 원료에 대해 이를 '생산·가공하여 출하하거나 판매 또는 판매할 목적으로 보관·진열하는 자는 원산지를 표시하여야 한다'고 정함

- 원산지 표시방법은 수입산에게는 수입국명을 표시하며 국산 수산물 중 양식수산물에는 생산된 지역의 시·군명을 표시하고 자연산 수산물은 당 수산물이 생산된 지역의 시·군명을, 원양어획물은 반입된 시·군명과 함께 생산해역명을 표시함
- 국내산 수산물의 원산지 표시 대상품은 국내산 수산물과 수산가공품으로서 다음을 포함함 (김진백 외, 2006)
 - 살아있는 수산물을 비롯하여 신선/냉장, 냉동, 건조, 염장, 염수장한 수산물 (비식용을 제외)
 - 대상이 되는 수산 가공품 (Table 37)

구분	대상품목
조미품	오징어류, 쥐치포류, 학공치포, 뱀장어류, 명태류, 보리멸류, 맛김, 구운김, 새우류, 패류, 기타 조미식품류
훈제품	오징어류, 연어류, 뱀장어류, 청어류, 기타훈제류
어육제품	어묵류, 어육소시지류
통,병조립	수산물을 원료로 한 통,병조립류
젓갈류	새우젓, 조개젓, 오징어젓, 창란젓, 명란젓, 꿀뚜기젓, 굴젓, 게장, 어류를 사용한 식해류

Table 37. 국내 유통 가공품중 원산지 표시대상 목록 (김진백 외 2006)

- 원산지 표시 대상 수입수산물은 어류, 갑각류, 연체동물 및 기타 수생 무척추 동물, 이를 이용한 조제품, 조제 식료품, 식품 공업에서 생기는 잔유물과 조제사료 등 (김진백 외, 2006)
- 수협이 수산물유통정보시스템 (<http://www.fifis.kr>)
 - 수입수산물을 포함하여 유통되는 수산물에 대한 관련 정보를 모아 놓은 데이터베이스로 u-IT를 활용하여 수산물의 유통정보를 종합적으로 제공하는 웹기반 서비스 시스템
 - 농림수산식품부 주관으로 구축되었으며 시·군·구 수산행정정보시스템과

수산물수출입정보를 연계함으로써 수산물 산지 정보와 유통정보가 통합적으로 관리됨

- 수입단계부터 소비까지 단계별로 유통경로를 실시간으로 추적할 수 있으며 각 유통 단계별 입출고 등 정보 수집이 가능



Fig. 63. 수산물유통정보시스템 사이트



3. 원산지 표시 위반 사례와 문제점

- 현재 시행되는 원산지 표시제에서 원산지 미표시에 대한 처벌이 허위 표시에 대한 처벌보다 매우 낮음
 - 허위표시에 대한 처벌은 2010년 6월 23일부터 7년 이하의 징역이나 1억원 이하의 벌금에 처해지나 원산지 미표시에 대한 처벌은 5만원이상 1000만원 미만의 벌금을 부과하도록 됨
- 수산물유통정보시스템(FIFIS)의 어종정보의 부정확성
 - FIFIS에 수입수산물의 어종을 판별하는 방법과 주요 수입국가(원산지) 정보가 제시되어 있으나, 검사원의 유의사항과 육안 분류에 대한 사항



만 기재되어 있어, 검사원의 개인별 숙련도에 따라 검사의 정확성에 차이가 발생함

- 정확한 생물 종명에 기초하지 않고 일반명에 기초하여 검사가 이루어져 생물종이 혼동될 수 있고, 원산지에 대한 정보 또한 부정확함
- 참조기와 부세의 영문명은 모두 yellow croaker되어 있어 영문명을 기준으로 할 때 혼동되는 점이 있음 (Fig. 66)
- 갈치의 경우 본 연구에 따르면 일본-중국산(*Trichiurus japonicus*), 인도네시아산 (*Trichiurus lepturus*), 인도산 (*Trichiurus sp.*)이 서로 다르나 FIFIS에는 모두 한 종(*Trichiurus lepturus*)으로 등록되어 있음 (Fig. 67)
- 가공 수산물은 생물 종명을 기준으로 하지 않고 별도 품목으로 처리

▶ 검사노하우

 검사노하우 수산물품질관리법 특징과 검사시 검사원의 착안, 유의사항 정보제공	
이름	참조기
학 명 : <i>Larimichthys polyactis</i> 영 명 : Yellow croaker 일 명 : Kiguchi(키그치) Kinguchi(킹그치) 한자명 : 小黄魚, 黄石首魚, 黄石魚 방 언 : 노랑조기, 누렁조기, 황조기, 중선조기	 농어목 민어과

▶ 검사노하우

 검사노하우 수산물품질관리법 특징과 검사시 검사원의 착안, 유의사항 정보제공	
이름	부세
학 명 : <i>Pseudosciaena crocea</i> 영 명 : Yellow croaker 일 명 : 푸세이 (Fusei) 한자명 : 大黃魚, 富世, 黃花魚(중명) 방 언 : 대황어	 농어목 민어과

▶ 특징과 검사착안사항

Fig. 64. 수산물유통정보시스템에 동일한 영문표기의 참조기와 부세

▶ 검사노하우



검사노하우

수산물품종별 특징과 검사시 검사원의 착안, 유의사항 정보제공

이름	갈치
<p>학 명 : <i>Trichiurus lepturus</i> 영 명 : Atlantic cutlassfish, Hair-tail, Cutlassfish 일 명 : 타치우오(Tachiuo) 한자명 : 白帶魚, 刀魚, 魴, 鰲 방 언 : 빈쟁이, 풀치</p>	 <p>농어목 갈치과</p>

▶ 특징과 검사착안사항

▣ 특징

- 크 기 : 최대 150cm까지 성장하며, 보통 상품크기는 50~80cm이다.
- 체 색 : 몸 빛깔은 은백색으로 손으로 만지면 은분이 묻어나며 형태는 길고 납작하며 꼬리쪽은 띠모양으로 긴 줄과 같다.
- 비늘이 없으며 배지느러미와 꼬리지느러미도 없다.
- 인도네시아산은 안구부위가 크며 노랑고, 등지느러미는 넓고 노랑색을 띄며 실꼬리가 짧고 굵으며, 특히, 육질에 석회분이 있는 경우가 많다.
- 몸을 덮고 있는 은백색의 비늘(구아닌)은 인조진주의 광택원료, 각종 화장품이나 장식품의 소재로 이용
- 선도가 떨어지면 구아닌이 공기중의 산소와 산화작용을 일으켜 산패하기 때문에 비린내의 원인이 된다.

▣ 검사착안 사항 또는 유의사항

- 동결상태
 - 어체가 반듯하게 퍼진 상태로 동결되었는지, 그레이징이 적절하게 되었는지 확인
 - 완만동결 여부확인(완만동결시 육질내 약간의 스폰지현상이 나타남. 인도, 인도네시아, 파키스탄산 주의)
- 표면손상도
 - 어체 표피에 상처 또는 흠집이 있을 경우와
 - 복부가 파열되어 내장이 밖으로 나온 상태로 동결된 경우는 어획후 처리가 지연되거나 처리 과정에서 어체를 합부로 다룬 것으로 선도저하품 임
 - ※이런 경우는 어체를 떼내어 해동·절단하여 육의 색택, 냄새 등 선도상태를 확인 함
- 안 구
 - 선도정상 상태
 - 눈동자가 까맣고 또렷하며, 둘러싸고 있는 흰자위가 밝은 유백색인 경우
 - 선도불량 상태
 - 흰자위가 누런빛이 강하거나 검붉은 빛을 띠 수록 선도가 저하된 것으로 판단
 - 안구가 전체적으로 밖으로 돌출되었거나 안으로 함몰된 것도 선도가 저하된 상태로 판단

▣ 주수입국

- 인도, 인도네시아, 일본(냉장), 중국, 파키스탄

Fig. 65. 수산물유통정보시스템에 일본, 중국, 인도네시아, 인도산 갈치가 동일한 중명으로 잘 못 표기됨

이름	홍어
----	----

<p>학 명 : <i>Raja kenojei</i> 영 명 : Skate ray, Flat back, Spiny rasp skate 일 명 : 갱기아이(Gangi-ei) 한자명 : 洪魚, 魷魚, 紅魚, 邵陽魚, 荷魚, 斑魷 방 언 : 고동무치, 물개미, 나무가 부리, 간쟁이</p>	 <p>홍어목 가오리과</p>
--	--

▶ 특징과 검사착안사항

- ▣ 특징
- 크기 : 만1년생은 체폭이 12~16cm, 2년 22cm전후, 3년 27cm, 4년 33cm, 5년 37cm로 자라며 체장은 약 1.5m 정도 성장한다.
 - 체색 : 체반의 등쪽은 전체적으로 갈색을 띄며 군데군데 황색의 동근점이 고루 분포하며 배쪽은 희다.
 - 홍어와 가오리는 형태가 유사하고 전세계적으로 480여개가 넘는 종이 존재한다.
 - 주둥이 끝은 가늘고 삼각형 형태로 뾰족하며, 눈은 크고 돌출되어 있다. 눈의 안쪽 가장자리를 따라 5개 가량의 소극이 있으며 눈의 바로 뒤쪽에는 동공크기의 분수공이 위치한다.
 - 몸의 등쪽 정중선에는 가시가 없지만 분수공의 약간 뒤쪽에는 1줄의 가시가 있고 꼬리에는 3줄의 가시가 있다.

▣ 검사착안 사항 또는 유의사항

- 홍어는 선도가 저하될수록 강한 암모니아 냄새를 내며 가오리는 홍어에 비해 암모니아 냄새가 약하며 경미한 비린내도 난다.
- 홍어는 지느러미 살에 붙은뼈(물렁뼈)가 육질내에 붙어있고 물렁뼈가 굵고, 가오리는 육질 밖으로 물렁뼈가 튀어나오고 가늘며, 숙성하면 홍어는 약간의 수분이 침출되고 가오리는 많은량의 수분이 침출됨
- 수입하는 유형은 원어상태(Round), 몸통을 제거한 양날개 상태, 양날개의 껍질을 벗긴 상태, 양날개의 껍질을 벗긴 후 세절한 상태 등 4가지 형태로 수입됨
- ※ 홍어와 가오리는 조정관세 적용이 다르기 때문에 위장수입의 우려가 있으므로 정확한 구별이 요구되며 Raja속, Dipturus속 Okamejei속에 대한 참고문헌을 참조
- ▶ 가오리와 홍어 구분법 참조
- 홍어 조정관세 범위
- 세계적으로 통용되고 있는 홍어(Skate)분류
 - Order Rajiformes (홍어목)
 - Family Rajidae (홍어과)
 - Genus (홍어속 : 25속)
 - Species(홍어종 : 세계적으로 223종으로 알려져 있음)
- 조정관세 대상이 되는 홍어 → 1999년 한국어류 학회지 근거
 - 홍어속(25속)중 3속
- Dipturus spp (29종)
- Okamejei spp (12종)
- Raja spp (32종)
- 홍어 확인방법에 관한 고시 주요내용 <관세청고시 제2000-41호,(2000. 12. 18)>
 - 원형 이외의 형태로 수입되는 냉동가오리의 경우 수출국 정부기관에서 발행하는 학명증명서 원본을 첨부 수입신고
 - 상기 내용을 충족할 수 없을 경우 냉동홍어로 분류(조정관세 대상 해당)
- 가오리류와 구별요령

▣ 주수입국

- 러시아, 미국, 아르헨티나, 우루과이, 칠레, 캐나다

Fig. 66. 국내산 홍어의 산지가 러시아, 미국, 아르헨티나, 우루과이, 칠레, 캐나다를 포함하는 것으로 잘 못 표시됨 (FIFIS)

○ 수산물의 불법 유통 사례

- 수산물 선도를 유지하기 위해 얼음옷(그레이징)을 입히는 실정이나 식약청이 시중에서 유통되는 냉동낙지와 냉동주꾸미, 냉동새우 등을 조사한 결과, 최고 60%까지 실중량이 모자란 사실을 밝혀냄; 굴은 보통 2kg 단위로 표시하고 있지만 실제로는 1.5~1.7kg에 불과한 실정; 중량에 대한 허위 표시가 빈번함
- 2008년 5월 경북 영덕에서 러시아산 대게를 파는 상인 20여명이 원산지 미표시로 적발되어 5만~10만원의 과태료가 부과됨: 원산지 허위표시보다 미표시의 처벌수위가 매우 낮기 때문에 상인들이 의도적으로 원산지 표시를 하지 않고 상행위하는 것으로 판단됨 (전라남도청 해양수산 뉴스, 해양생물과, 2009. 11. 16)
- 전주의 한 대형 백화점이 중국산 갈치를 국내산으로 허위 표시하여 판매하다 적발됨 (2010. 01. 29, 전북CBS)
- 인천시 중구 항동 소재 “종합어시장”, 남동구 논현동 소재 “소래포구시장”에서 시장 상인 9명이 “인도네시아산” 갈치를 “제주도산”으로 원산지를 허위표시하거나 혼돈되게 표기하여 판매하다 적발됨 (2010. 3. 22, CBS 노컷뉴스)

4. 원산지 표시제 문제점의 해결방안

1) 생물 일반명과 종명(학명)을 함께 표기

- 수산물의 일반명은 부정확한 부분이 있어 일반명과 함께 종명(학명)을 표기하도록 함으로써 수산물에 대한 정확한 ID를 제시함
- 수산물의 종명이 정확히 제시되면 그 종의 서식지 정보를 참고하여 원산지 표시의 진위 여부를 쉽게 판별할 수 있음
- 수입수산물에 일반명과 학명의 표기를 의무화함으로써 부정확한 영문 일반명으로 인한 혼동을 피할 수 있음

2) 각 생물종의 DNA바코드 정보 표기

- DNA바코드는 염기서열의 차이를 이용하여 생물 개체, 집단, 종을 구분하는 방법으로 숙련도에 관계없이 판별의 객관적 기준을 제공함; 따

라서 생물 종 표기의 허위 여부를 객관적으로 판단할 수 있음

- 수산물의 일반명, 종명, 원산지 표기와 함께 표준 DNA바코드 정보를 2D-바코드나 RFID를 이용하여 표기하는 유전자신분증제도 실시
- 성체 뿐만아니라 가공되어 형태를 알 수 없거나 유생, 어란 등도 DNA 바코드를 이용하여 종명을 정확히 판별함
- 국제적으로 동물의 표준 DNA바코드로 COI 유전자 염기서열을 채택하고 데이터베이스를 구축하고 있어 이를 활용하면 수입수산물의 종명도 객관적으로 판별할 수 있음
 - 수입수산물의 경우 생물명에 대한 불확실성이 상존하므로 표준 DNA 바코드 표기를 의무화하여 문제를 해결함
- DNA바코드를 이용한 수입수산물 검역시스템은 향후 국제적 표준으로 채택될 것으로 예상됨
 - 미국은 The National Safety Inspection Lab에서 DNA에 기반한 종 판별과 관련 데이터베이스를 구축하고 있으며, FDA가 주체가 되어 Federal labs, NOAA와 함께 종판별을 위한 DNA바코딩 기술을 개발 중: 2020년까지 종판별을 위한 DNA 휴대기기 산업화 계획을 진행

3) 분자마커를 이용한 신속한 수산물 종과 원산지 판별 기술의 활용

- DNA바코드 분석 기술의 도입
 - 수산물 종명의 허위표기 여부를 검증하기 위해 DNA 염기서열 분석 기술을 활용
 - DNA바코드에 기반한 DNA칩을 활용하여 수산물의 종 판별 시간을 줄이고 검역현장이나 유통현장에서 종명 표기를 검증함
- 마이크로새틀라이트 마커를 이용한 동일종내 집단 분석과 원산지 판별
 - 동일 종내의 원산지가 다른 집단의 구분은 DNA바코드로써 쉽지 않으며, 마이크로새틀라이트 마커를 이용하면 가능함
 - 다만, 집단별 분석 개체수를 20개체 이상 선정하고, 다수의 마커를 사용해야 분석 결과의 신뢰성을 담보할 수 있음

- 4) 수산물 증명, 분자마커, 원산지 정보 데이터베이스 확립과 정보서비스
- 기 구축된 수산물유통정보시스템에 수산물의 일반명, 증명(학명), DNA바코드 등 분자마커 정보, 원산지 정보를 체계적으로 수록하여 웹기반 정보서비스를 실시
 - 해양생물의 DNA바코드가 수록된 타 데이터베이스와 연계: 해양생물 지리정보시스템 (KOBIS), 해양생물다양성정보시스템(KOMBIS), BOLD (barcode of life database) 등
 - 모바일 정보서비스를 실시하여 언제 어디서나 수산물 정보를 검색하여 유통 수산물의 허위 표기를 검증할 수 있도록 함
- 5) RFID를 이용한 수산물 정보 관리 및 생산 이력과 유통경로 추적
- RFID는 마이크로 칩을 내장한 태그에 다량의 정보를 저장하고 무선 주파수를 이용하여 데이터를 주고 받는 자동 무선인식 시스템임
 - RFID칩은 저장용량이 크기 때문에 종 정보, DNA바코드 정보, 원산지 정보, 생산자 정보, 유통 과정 정보 등을 모두 담을 수 있음
 - RFID 리더기를 통해 무선으로 데이터를 주고 받음으로써 수산물에 대한 정보를 쉽게 볼 수 있고, 개별상품에 대한 식별이 가능하여 개별상품 단위로 관리가 가능함

제4장 연구개발 목표 달성도 및 대외기여도

제 4 장 연구개발 목표 달성도 및 대외기여도

제 1 절 연구개발 목표의 달성도

세부연구개발 목표	평가의 착안점 및 기준	달성도 (%)	비고
한국, 중국, 인도, 인도네시아, 일본의 갈치류의 원산지와 종판별 분자마커 및 DNA칩 개발	갈치류의 원산지와 종판별 분자마커 개발 및 DNA칩 개발 여부	100%	
한국, 멕시코, 페루, 남대서양의 조미 찢은 오징어의 원산지와 종판별 분자마커 및 DNA 칩 개발	오징어류의 원산지와 종판별 분자마커 개발 및 DNA 칩 개발 여부	100%	
한국, 중국, 일본의 참돔에 대한 분자마커 (Micro-satellite과 단백질) 개발	한국,중국,일본 참돔 종묘에 대한 분자마커 개발 여부	100%	
분석된 수산물의 유전자 인식마커 DB를 구축하여 유통관리시스템으로 활용	DB 구축 및 활용도	100%	
수입수산물 종판별과 원산지 구분 제도 정책방향 제시	수입수산물 종판별과 원산지 구분 제도 정책방향 제시 여부	100%	

Table 38. 연구개발 목표의 달성도

제 2 절 관련 분야 기술 발전의 기여도

가. 기술적 측면

- 수출입 참돔, 갈치 및 조미 찢은 오징어의 종판별과 원산지 구분의 객관화와 표준화
- 판별 오류 가능성의 해소와 정확한 원산지 판별로 인해 소비자 보호
- 원산지 표시제 시행과 검사과정에서 발생할 수 있는 관-민 마찰의 해소
- 분자동정과 DNA칩을 이용한 신속 정확한 통관절차 가능
- 수산자원에 대한 국가 통합관리시스템 구축의 기초가 되는 자료 제공

나. 경제 산업적 측면

- DNA칩의 상용화로 수산자원 관리, 유통 및 수출입 관리 등에 활용
- 갈치, 오징어 수출입 및 유통과정에서 종과 원산지 판별 과정의 객관화와 간소화에 따른 경제적 효과
- 수산물 생물지리정보 및 유전자정보 통합 DB 구축과 유비쿼터스 네트워크를 통한 정보서비스 체계는 생물자원 관리 및 활용에 대한 새로운 모델을 제시하게 되며, 새로운 BT-IT산업의 발달 유발
- 원산지 및 생물 종의 허위 표시를 방지하여 생산자 및 소비자의 경제적 이득 보장
- 세계 표준이 될 수 있는 수산물 검역과 유통관리 시스템 제시

다. 사회 문화적 측면

- 건강에 대한 관심과 함께 증대되는 소비자의 수산물 소재, 품질, 유통 과정에 대해 정보 요구 해소
- 과학적이고 체계적인 수산물 유통질서의 확립과 효율화를 통해 소비자에게 안전한 먹거리 제공
- 국가의 수산물 검역과 유통, 원산지 표시제 방향 제시
- 국가적 차원에서 수입수산물 유전자 검사에 대한 정책방향이 결정되므로 일관되고 신속한 대응이 가능해짐.

제5장 연구개발 결과의 활용계획

제 5 장 연구개발 결과의 활용계획

- 분석된 COI 유전자 염기서열(DNA바코드)은 갈치와 오징어가 포함된 다양한 수산물의 종과 원산지 판별에 직접 이용되어 수산물 유통질서를 확립하는데 이용됨
- 갈치와 오징어의 DNA칩은 국립수산물품질검사원이 다량의 수출입 갈치와 오징어 수산물을 검사하거나 유통현장에서 수산물의 종과 원산지 표시에 대한 진위를 신속히 판정하는데 활용됨
- 참돔의 마이크로새틀라이트 마커는 같은 종이라 할지라도 한국, 일본, 중국산을 구분할 수 있는 유용한 지시자로 활용 가능함
- 단백질 enolase3의 항체는 자연산 참돔을 양식산과 구분하는 데 적용 가능함
- 수산물의 DNA정보와 원산지 정보를 담은 RFID 전자칩은 수산물 유통체계의 혁신을 가져올 것이며, 유통의 효율화와 수산물에 대한 소비자의 신뢰를 높이는 계기가 될 것임
- 수산물의 유전자 정보와 서식지 지리정보의 통합 DB는 유비쿼터스 시대에 국가 수산물통합관리시스템으로 적합한 모델을 제시함
- 본 연구에서 개발된 분자마커와 DNA칩은 검역이나 유통 현장에서 종 판별 과정에 적용될 수 있으며, RFID를 활용한 수산물의 유통과 유무선 정보 네트워크를 통해 종과 원산지에 대한 정보를 검색할 수 있는 DB와 연계하면 우리나라 수산물 유통, 관리 및 원산지 검증에 대한 첨단 시스템을 확립할 수 있을 것임
- 한편, 본 연구에서 적용한 단백질체학 기술을 이용한 단백질 비교분석 방법은 종의 판별뿐 아니라 환경과 생물상태의 변화 (생체리듬, 질병, 영양상태, 노화 등)에 따른 생물의 세포내 생화학적 변화를 연구하는데 활용될 수 있음

제6장 참고문헌

제 6 장 참고문헌

- 김익수, 최윤, 이충렬, 이용주, 김병직, 김지현, 원색 한국어류대도감. Illustrated Book of Korean Fishes. 교학사 (2005)
- 김진백, 이동호, 이준섭, 무선인식기술(RFID)을 이용한 수입수산물 의 원산지 표시방안. RFID-based Origin Marking of Imported Fishery Products. 동명대학교 (2006)
- 이윤호 외 24인, 국가 해양 생태계/생물자원 통합 관리 유비쿼터스 시스템 개발. Development of Ubiquitous System for Management of National Marine ecology/ Marine Resource. 한국해양연구원 (2006)
- Anirban Chakraborty, Futoshi Aranishi², and Yukio Iwatsuki. Genetic Differentiation of *Trichiurus japonicus* and *T. lepturus* (Perciformes: Trichiuridae) Based on Mitochondrial DNA Analysis. Zoological Studies 45(3): 419-427 (2006)
- Chiba SN, Iwatsuki Y, Yoshino T, Hanzawa N. Comprehensive phylogeny of the family Sparidae (Perciformes: Teleostei) inferred from mitochondrial gene analyses. Genes Genet Syst.84:153-70 (2009)
- Day IN, Peshavaria M, Quinn GB. A differential molecular clock in enolase isoprotein evolution. J Mol Evol. 36:599-601 (1993)
- Fagerquist, C.K., Miller, W.G., Harden, L.A., Bates, A.H., Vensel, W.H., Wang, G., Mandrell, R.E. Genomic and proteomic identification of a dna-binding protein used in the "fingerprinting" of campylobacter species and strains by maldi-tof-ms protein biomarker analysis. Analytical Chemistry. 77:4897-4907 (2005)
- Gay S, Binz PA, Hochstrasser DF, Appel RD. Peptide mass fingerprinting peak intensity prediction: extracting knowledge from spectra. Proteomics.2:1374-91. (2002)
- Gravel A, Wilson JM, Pedro DF, Vijayan MM. Non-steroidal anti-inflammatory drugs disturb the osmoregulatory, metabolic

- and cortisol responses associated with seawater exposure in rainbow trout. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.*149: 481-90 (2009)
- Hanel R, Sturmbauer C. Multiple Recurrent Evolution of Trophic Types in North-eastern Atlantic and Mediterranean Sea breams (Sparidae, Percoidae). *J Mol Evol.* 50:276-83 (2000)
- Jean CT, Hui CF, Lee SC, Chen CT. Variation in mitochondrial DNA and phylogenetic relationships of fishes of the subfamily Sparinae (Perciformes: Sparidae) in the coastal waters of Taiwan. *Zoological Studies.*34:270-280 (1995)
- Kikuchi K, Itoi S, Watabe S. Increased levels of mitochondrial ATP synthase α -subunit in fast skeletal muscle of carp acclimated to cold temperature. *Fisheries Science.*65:629-636 (1999)
- Kwon YS, Moon JY, Kwon YS, Park DY, Yoon WM, Song IH, Yi SI AFRP analysis for cultivar discrimination in radish and chinese cabbage. *Korean J. Breed.* 35 (5), 198-210 (1999)
- Mozdziak PE, Dibner JJ, McCoy DW. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase expression varies with age and nutrition status. *Nutrition.*19:438-40 (2003)
- Mylonas CC, Papadaki M, Divanach P. Seasonal changes in gamete production and quality in the red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture Research.* 34:1161-1170 (2003)
- Pappin DJ, Hojrup P, Bleasby AJ. Rapid identification of proteins by peptide-mass fingerprinting. *Curr Biol.* 3:327-32 (1993)
- Patterson HG, Graves S. DNAssist: the integrated editing and analysis of molecular biology sequences in windows. *Bioinformatics.* 16(7): 652-653 (2000)
- Perez-Enriquez R, M. Takemura, K. Tabata and N. Taniguchi. Genetic Diversity of Red Sea Bream *Pagrus major* in western Japan in relation to Stock enhancement. *Fisheries Science.* 67: 71 - 78 (2001)
- Perez-Enriquez R, Taniguchi N. Genetic Structure of Red Sea Bream

- (*Pagrus major*) Population off Japan and the Southwest Pacific, Using Microsatellite DNA Markers. *Fisheries Science*. 65(1): 23 - 30 (1999)
- Pineiro C, Vazquez J, Marina AI, Barros-Velazquez J, Gallardo JM. Characterization and partial sequencing of species-specific sarcoplasmic polypeptides from commercial hake species by mass spectrometry following two-dimensional electrophoresis. *Electrophoresis*. 22:1545-52 (2001)
- Rider CC, Taylor CB. Hybridization studies, developmental and phylogenetic aspects. *BiochimBiophysActa*.1975;405:175-87.
- Robert D. Ward, Tyler S. Zemplak, Bronwyn H. Innes, Peter R. Last Paul D. N. Hebert. DNA barcoding Australia's fish species. *Phil. Trans. R. Soc. B* 360, 1847 - 1857 (2005)
- Roth S, Fromm B, Gade G, Predel R. A proteomic approach for studying insect phylogeny: CAPA peptides of ancient insect taxa (Dictyoptera, Blattoptera) as a test case. *BMC Evol Biol*. 9:50 (2009)
- Sanz L, Escolano J, Ferretti M, Biscoglio MJ, Rivera E, Crescenti EJ, Angulo Y, Lomonte B, Gutierrez JM, Calvete JJ. Snake venomomics of the South and Central American Bushmasters. Comparison of the toxin composition of *Lachesis muta* gathered from proteomic versus transcriptomic analysis. *J Proteomics*. 71:46-60 (2008)
- Sauer S, Freiwald A, Maier T, Kube M, Reinhardt R, Kostrzewa M, Geider K. Classification and Identification of Bacteria by Mass Spectrometry and Computational Analysis. *PLoS One*. 3:e2843 (2008)
- Seo H, Ferree AW, Isacson O. Cortico-hippocampal APP and NGF levels are dynamically altered by cholinergic muscarinic antagonist or M1 agonist treatment in normal mice. *Eur J Neurosci*. 15:498-506 (2002)

- Shibata M, Matsumoto K, Oe M, Ohnishi-Kameyama M, Ojima K, Nakajima I, Muroya S, Chikuni K. Differential expression of the skeletal muscle proteome in grazed cattle. *J Anim Sci.* 87:2700-8 (2009)
- Tamura K, Dudley J, Nei M & Kumar S, MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596-1599 (2007)
- Timm W, Scherbart A, Bocker S, Kohlbacher O, Nattkemper TW. Peak intensity prediction in MALDI-TOF mass spectrometry: A machine learning study to support quantitative proteomics. *BMC Bioinformatics.* 9:443 (2008)
- Timperio AM, D'Alessandro A, Pariset L, D'Amici GM, Valentini A, Zolla L. Comparative proteomics and transcriptomics analyses of livers from two different *Bos taurus* breeds: "Chianina and Holstein Friesian". *J Proteomics.* 73:309-22 (2009)
- Tracy MR, Hedges SB. Evolutionary history of the enolase gene family. *Gene.* 259:129-38 (2000)
- Vornanen M, Hassinen M, Koskinen H, Krasnov A. Steady-state effects of temperature acclimation on the transcriptome of the rainbow trout heart of the rainbow trout heart. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 289:R1177-84 (2005)

<출원 혹은 등록된 특허>

이윤호, 김충곤, 김고은, 서현석, 정다금, 황승용, 정진욱, 윤현규, 이창현. 2006. 05. 02. 연어 종 또는 계군의 판별 방법과 이에 따른 연어 종 또는 계군 판별용 폴리뉴클레오티드 프로브, DNA 칩 및 키트. 특허 등록: 제82942호.

김충곤, 이윤호, 정다금, 김성, 황승용, 정진욱, 윤현규, 이창현. 2006. 08. 05. 홍어과, 가오리류 판별 방법과 이에 따른 종 판별용 폴리뉴클레오티드 프로브, DNA 칩 및 키트. 특허등록: 제806208호.

이윤호, 김충곤, 배세진, 정다금, 김고은, 박홍식, 황승용, 정진욱, 김예림, 윤현규. 2009. 07. 17. 해양생물의 종 판별 방법과 이에 따른 종 판별용 폴리뉴클레오티드 프로브, DNA 칩 및 키트. 특허 출원 제2009-0065213호.

이윤호, 김충곤, 김성, 정다금, 황창남, 황승용, 정진욱, 정인혁. 2009. 12. 30. 오징어류의 종 판별방법과 이를 위한 오징어 종 판별용 폴리뉴클레오티드 프로브, DNA칩 및 키트. 특허 출원 제2009-0099541호.

이윤호, 김충곤, 김성, 정다금, 황창남, 황승용, 정진욱, 정인혁. 2009. 10. 20. 갈치류의 종 또는 원산지 판별방법과 이에 따른 갈치류의 종 또는 원산지 판별용 폴리뉴클레오티드 프로브 DNA칩 및 키트. 특허 출원 제2009- 01633653호.

이윤호, 김성, 정다금, 오지나. 2010. 03. 22. 대한민국 남해 어류의 종 판별방법과 이에따른 어류의 종 판별용 폴리뉴클레오티드 프로브, DNA칩 및 키트. 특허 출원 제2010-0025431호.

<웹사이트>

<http://portal.nfrdi.re.kr/oceanlife/index.jsp>

http://barcoding.si.edu/index_detail.htm

<http://kobis.kordi.re.kr>

<http://kombis.kordi.re.kr>

<http://www.barcodeoflife.org/>

<http://www.coml.org/>

<http://www.fifis.kr/>

<http://www.iobis.org/>

<http://www.law.go.kr/LSW/LsInfoP.do?lsiSeq=90394#0000>

<http://www.seafood.nmfs.noaa.gov/>

<http://www.ubinews.kr>

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구개발임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.