

# 메타게놈 샷건 시퀀싱을 이용한 혼합 어란의 정량적 종 탐지

Quantitative detection of species on mixed fish  
eggs using shotgun metagenomic sequencing

2021. 02. 01

연구기관  
한국해양과학기술원



# 메타게놈 샷건 시퀀싱을 이용한 혼합 어란의 정량적 종 탐지

Quantitative detection of species on mixed fish  
eggs using shotgun metagenomic sequencing

2021. 02. 01

연구기관  
한국해양과학기술원

# 제 출 문

한국해양과학기술원장 귀하

본 보고서를 “메타게놈 샷건 시퀀싱을 이용한 혼합 어란의 정량적 종 탐지” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2021. 02. 01

연구 책임자: 김 성

참여 연구원: 최해영

# UST Young Scientist 양성 사업 최종보고서

UST Young Scientist Research Program Final Report

과제번호 Grant Number		2019YS11			
과제명 Project Title	국문 Korean	메타게놈 샷건 시퀀싱을 이용한 혼합 어란의 정량적 종 탐지			
	영문 English	Quantitative detection of species on mixed fish eggs using shotgun metagenomic sequencing			
스쿨·캠퍼스 School·Campus		한국해양과학기술원	전공 Major	해양과학	
UST 학생 UST Student	성명 Name	최해영	학위과정 Course	통합과정	연락처 Contact (E-mail)haeyoung@kiost.ac.kr (Mobile)010-4578-1040
지도교수 Advisor	성명 Name	김성	직급/직위 Position	책임연구원	연락처 Contact (E-mail)skim@kiost.ac.kr (Mobile)010-3337-1065
연구기간 Period	2019.09.01. ~ 2020.12.31.		총연구비 Grants	29,000,000	원 KRW

2019년도 UST Young Scientist 양성 사업 최종보고서를 붙임과 같이 제출합니다. 보고서에는 사실과 다른 내용이 포함되지 아니하였으며, 만약 허위사실이나 중대한 오류가 발견될 경우에는 그에 상응하는 불이익을 감수할 것임을 서약합니다.

I hereby submit the Final Report of UST Young Scientist Research Program 2019 as attached. To the best of my knowledge, all of the information included in my report is true and I will take any penalty if false information or serious error is found in my report.

2021. 02. 01.

UST 학생 : 최해영  
UST Student

지도교수 : 김 성  
Advisor

주관연구기관장 : 김웅서  
President

과학기술연합대학원대학교 총장 귀하

To the President of University of Science and Technology

## 요 약 문

대부분의 해양경골어류가 번식을 위해 대량으로 방출하는 어란은 어류의 산란장과 산란시기 탐색의 지표이다. 대량 어란의 종 수준의 동정을 위한 소요 시간과 비용 절약을 위한 방법으로 DNA 메타바코딩이 있다. 이 방법으로 혼합 어란의 분석을 통해 종 구성과 종별 염기서열 개수를 확보한다.

본 연구에서는 혼합 어란 DNA 메타바코딩의 종 탐지율 향상과 정량 평가의 전제 조건인 미토콘드리아(mtDNA) copy수의 일정함 검증을 위하여 특정 DNA 영역의 증폭이 필요 없는 샷건 시퀀싱을 이용하였다. 기존에 DNA 메타바코딩을 적용하였던 표본을 샷건 시퀀싱하여 두 방법의 종 탐지율을 비교하였다. COI 메타바코딩으로 탐지한 종 수의 평균 28%만을 샷건 시퀀싱으로 탐지하였다. 정량 평가의 전제 조건 검증을 위하여 발생단계별 정어리알의 mtDNA 16S 리드수 대 핵 DNA 18S 리드수의 비(16S/18S)를 비교하였다. 16S/18S는 발생 단계가 증가할수록 감소하였다. 이는 어란이 발생함에 따라 핵 DNA는 증가하지만 mtDNA는 일정함을 의미한다. 본 연구를 통해 DNA 메타바코딩의 높은 종 탐지능과 정량 평가 가능성을 확인하였다. 혼합어란의 종 분석과 정량 평가에 적합한 방법은 DNA 메타바코딩일 것이다.

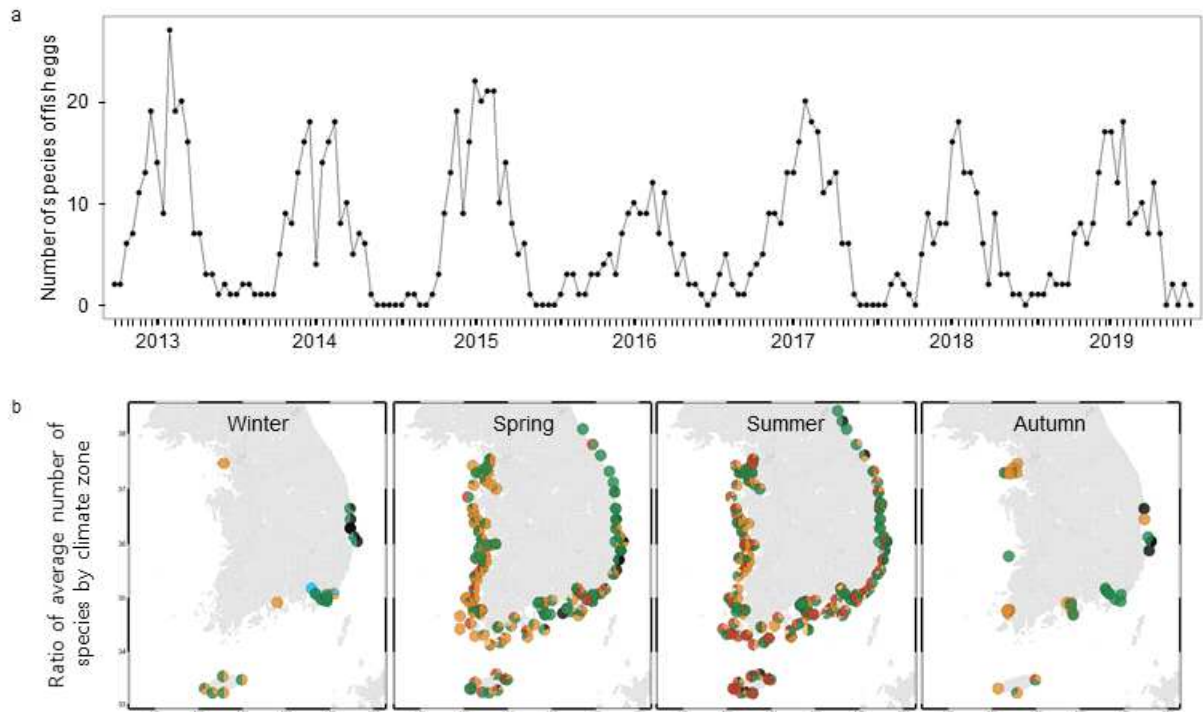
## <목 차>

I. 연구개요.....	1
II. 연구 수행내용 및 과정.....	4
III. 연구 수행결과 및 목표달성 수준.....	7
IV. 연구 성과 및 관련 분야 기여도.....	9
V. UST 학생 역량 강화 성과.....	10
VI. 연구결과의 활용방안.....	11
VII. 참고문헌.....	12
VIII. 주요 연구실적.....	14
IX. 국외출장 현황.....	14
X. 전문가 교류내역.....	14
XI. 연구비 집행 현황.....	14
XII. 지도교수 의견.....	16

## I. 연구개요

### 가. 연구의 필요성

- 어란은 어류 산란의 직접 증거이다(Kendall et al. 1984). 대부분 해양경골어류가 번식 전략으로 방출하는 대량의 부유성 어란(이하 어란)은 채집이 용이하고, 발견 확률이 높다(Houde 1987). 이러한 어란은 어류의 산란 시공간 탐색에 유용한 지표이다(Fox et al. 2008). 어류 산란 정보는 자원 보호와 관리를 위한 정책 수립의 기준이 된다.
- 어란의 가치에도 불구하고 어란의 활용은 소수 종에 제한적이다. 어란은 형태적 특징이 매우 유사하여 종 수준으로 동정하기 어렵기 때문이다(Matarese and Sandknop 1984). 한반도 주변 해역에서 형태 형질만으로 종 수준의 동정이 가능한 종은 멸치와 앨통이 등 소수에 불과하다.
- 어란 종 동정에 DNA 바코드를 도입하면서 종 수준의 자료가 증가하였다(Shao et al. 2002). 종 고유의 특징인 DNA 바코드를 기준으로 종간 종내 유전적 차이에 따라 종을 결정한다(Hebert et al. 2003). DNA 바코드로는 미토콘드리아 DNA의 COI, 16S, 12S 영역 등을 이용한다.
- 어란 DNA 바코드의 염기서열 분석에 많이 이용하는 방법은 Sanger sequencing 이다(Lewis et al. 2016; Choi et al. 2018). 이 방법으로 한 개 어란의 한 개 염기서열을 확보한다. 다량 어란의 분석에 드는 비용과 시간을 절약할 수 있는 방법으로 high-throughput sequencing 기반의 DNA 메타바코딩이 있다(Duke et al. 2020; Miranda-Chumacero et al. 2020). 어란을 혼합한 표본 다수의 염기서열을 동시에 분석하는 방법이다. 본 출연연에서는 다양한 사업에서 혼합 어란의 COI 메타바코딩을 실시하였다(Fig. 1).



**Fig. 1.** Appearance of 172 species of fish eggs analyzed by KIOST. **a**, Number of species of fish eggs biweekly collected from 2013 to 2019 off Tongyoung. **b**, Ratio of number of species by climate zones on fish eggs (2013-2014, 2017-2019). The number of species include literature information. Colors mean climate zone: ■, polar; ■, temperate; ■, temperate/subtropical, ■, subtropical; ■, temperate/tropical; ■, tropical; ■, deep-water).

- DNA 메타바코딩에서 종 탐지율을 결정하는 요인 중 하나는 DNA 바코드를 증폭하는 프라이머이다. 종을 모르는 혼합 어란의 모든 DNA 바코드에 대한 프라이머의 작용 여부를 확인하는 것은 불가능하다. 예비실험에서 종 동정된 개별 어란 79종의 gDNA를 혼합하여 COI 메타바코딩을 하였다. 종 탐지율은 평균 39% 뿐이었다(Table 1). 종 탐지율이 낮은 원인 중 하나는 COI 영역의 증폭에 이용한 프라이머이다. 이에 본 표본에 대하여 특정 영역에 대한 증폭 없이 모든 DNA 염기서열을 확보하는 샷건 시퀀싱(shotgun sequencing)을 적용하였다. 샷건 시퀀싱을 이용한 혼합 어란(79종)의 종 탐지율은 99%였다.

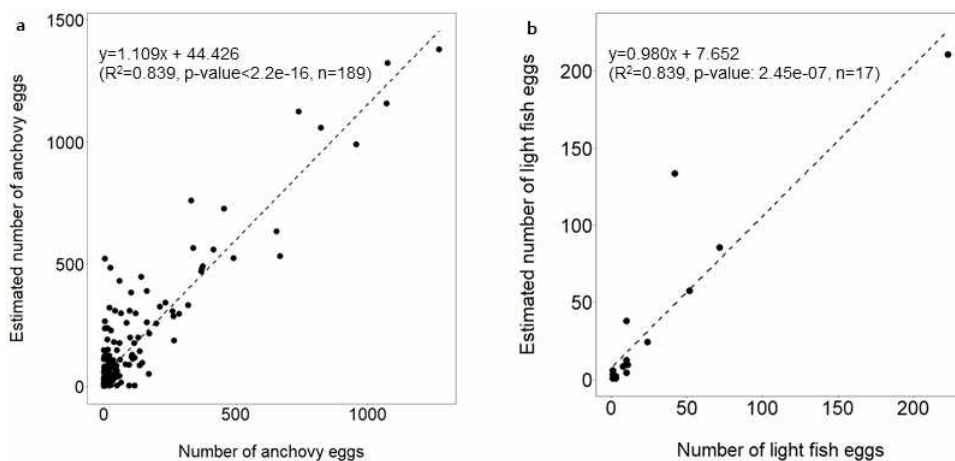


**Table 1.** Number of detected species of fish eggs according to sequencing method (KIOST, unpublished)

Classification	Sanger sequencing	COI metabarcoding*	Shotgun sequencing
Species	79 (100%)	31 ( <b>39%</b> )	78 ( <b>99%</b> )
Genus		4 (5%)	
Family		10 (13%)	
Number of taxon			
detected	79 (100%)	45 (57%)	78 (99%)
not detected	0	34 (43%)	1(1%)
false positive	0	1	NA

\*, 7 runs; Condition of confirmed as species, frequency>50% & reads>0.1%

- DNA 메타바코딩으로 얻는 자료는 위와 같은 종 조성과 종별 염기서열 개수이다. 정량 평가를 위하여 염기서열 개수와 생물량의 관계를 분석한다(Lamb et al. 2018). 본 출연연은 혼합어란 DNA 메타바코딩의 양성 대조군으로 포함한 멸치알과 앨통이알의 결과를 이용해 정량 분석을 시도하였다(Fig. 2.). 종별 어란의 개수와 종별 염기서열비로 추정된 어란 개수의 선형 회귀식은 높은 설명력을 가졌다. 선형 관계는 어란의 발생에도 바코드로 이용한 미토콘드리아 DNA의 copy수가 일정할 때 성립될 수 있다. 이 전제 조건의 증명은 DNA 메타바코딩을 이용한 혼합어란의 정량 평가를 위한 시작일 것이다.



**Fig. 2.** Relationship between number of fish eggs and estimated number of fish eggs used in COI metabarcoding as positive control with other eggs. **a**, *Engraulis japonicus*, **b**, lightfish *Maurolicus japonicus*.

## 나. 연구 목표

- 본 연구에서는 DNA 메타바코딩을 이용한 혼합 어란의 종 탐지율 향상과 정량 평가를 위한 전제 조건 검증을 위하여 샷건 시퀀싱을 도입하였다.
- 샷건 시퀀싱의 종 탐지율 확인을 위하여 COI 메타바코딩을 적용하였던 기존 표본을 샷건 시퀀싱하였다. 두 방법의 종 탐지율을 비교하였다.
- 전제 조건인 어란 발생에 따른 미토콘드리아 DNA copy 수 일정함 검증을 위하여 샷건 시퀀싱으로 발생 단계별 정어리 알의 염기서열을 확보하였다. 이 중에서 미토콘드리아 DNA 리드수와 핵 DNA 리드수의 비를 비교하였다.

## II. 연구 수행내용 및 과정

### 가. 혼합 어란 COI 메타바코딩과 샷건 시퀀싱 결과 비교

- 표본: 기존 COI 메타바코딩하였던 혼합 어란 gDNA 표본 12개 (Table 2)
  - 표본 11개는 어란 187개-15,206개에서 추출한 gDNA. 나머지 1개 표본은 예비 실험에서 제작한 표본으로 개별적으로 종을 동정한 어란 79종의 gDNA 표본을 혼합한 것(1종/표본)
- 각 표본의 라이브러리를 제작하여 HiSeq4000 (Illumina, USA)을 이용한 샷건 시퀀싱(데이터 산출량: 20 Gb/표본)
- 확보한 염기서열을 Geneious Prime 2020.0.5(<https://www.geneious.com>; Kearse et al. 2012)의 assembler를 이용해 contigs로 생성
- Contigs를 어류 COI 참조 유전체 (NCBI에서 추출한 어류 COI 염기서열; KIOST 2019)에 매핑(mapping)
- 이때 COI 영역으로 두 종간의 구분이 어려운 경우, 이 두 종의 다른 DNA 영역 (16S, cytb, ND6) 정보를 NCBI에서 확보함. 이 염기서열에 위와 같은 방법으로 매핑

**Table 2.** Sample information

Sample	Sample ID	Number of fish eggs		
		Anchovy	Other	Total
1	TY190418	9	178	187
2	TY170427	374	162	536
3	TY190830	1,077	310	1,387
4	TY190703	1,116	1,160	2,276
5	TY2016	524	4,542	5,066
6	TY2018	991	5,075	6,066
7	TY2017	1,920	4,870	6,790
8	TY2014	43	7,020	7,063
9	TY2019	4,563	7,078	11,641
10	TY2015	3,285	11,067	14,352
11	TY2013	58	15,148	15,206
12 <sup>†</sup>	FE	0	79	79

**나. 발생단계별 정어리 알 미토콘드리아 DNA copy수 변동 확인**

- 한국해양과학기술원 부근에서 정어리알 수집 후에 현미경으로 발생단계 구분(Fig. 3)
- 정어리알 전체 게놈을 REPLI-g Mini Kit (Qiagen, Germany)를 이용해 증폭
- 개별 어란의 라이브러리 제작과 HiSeq4000 (Illumina, USA)을 이용한 시퀀싱
- 미토콘드리아 DNA의 16S 리드수 대 핵 DNA의 18S 리드수 비(16S/18S)를 계산함
  - 정어리알 16S 염기서열(GenBank accession number: NC\_002616.1)에 리드를 매핑한 뒤에 평균 리드수 계산함
  - 정어리 알 핵 DNA 염기서열 정보는 공공 DB에 부재함. 다른 분류군의 18S 염기서열(*Kareius bicoloratus*, EU637075.1)에 리드를 매핑하여 정어리 알 18S 염기서열 생성
  - 본 18S 염기서열에 리드를 매핑한 뒤에 평균 리드수 계산함
- 어란 gDNA 농도를 발생단계로 이용하여(Espeland et al. 2018), 발생단계와 16S/18S를 선형 회귀 분석함



**Fig. 3.** Morphology of eggs and newly hatched larvae of *Sardinops melanosticta*. Scale bars, 1 mm.

### III. 연구 수행결과 및 목표달성 수준

#### 가. 혼합어란 COI 메타바코딩과 샷건 시퀀싱 결과 비교

- 샷건 시퀀싱 분석한 혼합 어란(sample 1~12)은 기존에 COI 메타바코딩 분석됨
- 이 혼합 어란을 샷건 시퀀싱으로 탐지한 종 수는 제작 표본인 sample 12을 제외하고 모두 COI 메타바코딩으로 탐지한 종 수 보다 적음(Table 3). COI 메타바코딩으로 탐지한 종수의 평균 28%만을 샷건 시퀀싱으로 탐지함.

**Table 3.** Comparison between number of species of mixed fish eggs identified by COI metabarcoding and shotgun sequencing

Sample	Number of fish eggs	Number of species identified by COI metabarcoding	Number of species identified by shotgun sequencing
1	187	7	3
2	536	8	4
3	1,387	9	2
4	2,276	11	5
5	5,066	27	2
6	6,066	30	6
7	6,790	36	5
8	7,063	28	12
9	11,641	23	3
10	14,352	38	9
11	15,206	36	9
12 <sup>†</sup>	79	45	78

<sup>†</sup>, Sample is made by mixing gDNA from 79 species of fish eggs in pilot experiment.

- 나. 혼합 어란 샷건 시퀀싱으로 확보한 미토콘드리아 DNA의 다른 영역으로 종 구분
- 16S, cyt b, ND6를 기반한 종 구분
  - COI 영역으로 구분이 어려운 청보리멸 *Sillago japonica*과 보리멸 *S. sihama*, 날돛양태 *Callionymus beniteguri*와 실양태 *C. valenciennesi*를 실양태로 결정 (Table 4)

**Table 4.** Species identified by COI and other regions of mitochondrial DNA

DNA regions used for species identification	
COI	Other regions
<i>Sillago japonica/sihama</i>	<i>Sillago japonica</i>
<i>Callionymus beniteguri/valenciennesi</i>	<i>Callionymus valenciennesi</i>
<i>Callionymus curvicornis/lunatus</i>	<i>Callionymus curvicornis</i>
<i>Thamnaconus modestoides/modestus</i>	<i>Thamnaconus modestus</i>

**다. 발생단계별 정어리알 미토콘드리아 DNA copy수 변화**

- 정어리알의 발생에 따른 미토콘드리아 DNA copy수 변동 확인을 위하여 미토콘드리아 DNA의 16S와 핵 DNA 18S의 비를 비교함(Fig. 4). 어란의 gDNA 농도를 발생 단계 대신 이용함. 발생에 따라 16S 대 18S 비가 감소함을 통해 핵 DNA는 증가하지만 미토콘드리아 DNA는 일정함을 확인함.

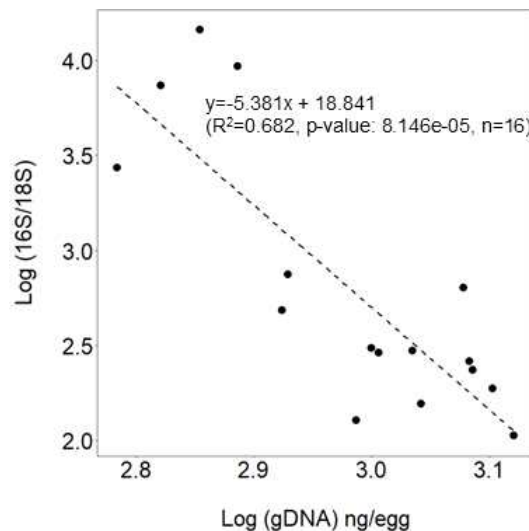


Fig. 4. Ratio of average number of mtDNA 16S reads to average number of nuDNA 18S reads according to development of eggs of *Sardinops melanosticta*. Concentration of gDNA are used instead of the developmental stages.

## IV. 연구 성과 및 관련 분야 기여도

### 가. 연구 성과

- 1) 메타바코딩을 이용한 혼합어란의 정량 평가를 위한 전제 조건 검증
  - 발생 단계가 서로 다른 혼합어란을 메타바코딩으로 정량 평가하기 위해서는 알의 발생 발생에 따라 바코드로 이용한 미토콘드리아 DNA copy수가 일정함이 성립되어야 함
  - 본 연구에서는 발생단계별 정어리 알의 미토콘드리아 DNA 16S 리드수 대 핵 DNA 18S 리드수 비의 분석으로 미토콘드리아 DNA copy수가 일정함 확인함
- 2) 혼합 어란의 정량 분석을 위한 방법으로 샷건 시퀀싱보다 메타바코딩이 유용함을 확인
  - 샷건 시퀀싱법은 프라이머의 종 특이적 반응 없이 모든 DNA 염기서열 확보가 가능함. 자치어의 경우 샷건 시퀀싱을 이용해 정량 가능성 확인(Kimmerling et al., 2018).
  - 발생 단계가 서로 다른 어란의 경우에는 발생에 따른 세포 수 증가에도 copy수가 일정한 미토콘드리아 DNA를 정량 분석에 이용하는 것이 유리함. 즉, 특정 영역의 미토콘드리아 DNA를 증폭한 뒤에 시퀀싱하는 분석법(예, COI 메타바코딩)이 혼합어란의 종 탐지와 정량 평가에 유리함.

### 나. 관련 분야 기여도

- 한국 주변 해역의 어란 분석을 위하여 대부분 Sanger sequencing을 활용함(Jang et al. 2020). 분석에 이용하는 표본은 형태별로 구분한 뒤에 대표적인 소수 개체임. 본 연구와 같이 대량의 표본 분석을 위해 혼합한 어란을 DNA 메타바코딩한다면 분석에 드는 비용과 시간 절약이 가능할 것임.

## V. UST 학생 역량 강화 성과

### 가. 연구수행역량

- DNA 농도가 적은 어란 표본의 전체 게놈 증폭을 위한 실험 조건을 확인함. 이 개별 어란의 샷건 시퀀싱을 통해 미토게놈을 작성함. 본 방법을 다른 표본에 적용하여 논문을 투고함.

### 나. 문제해결 역량

- 샷건 시퀀싱으로 혼합 어란의 정량적 종 탐지가 가능함을 예상하였으나, 종 탐지율이 DNA 메타바코딩보다 낮았음. 종 탐지율이 낮은 원인을 또 다른 연구 목표였던 어란 발생단계별 미토콘드리아 DNA copy수 분석을 통해 확인함. 어란의 발생이 진행될수록 증가하는 핵 DNA의 영향으로 미토콘드리아 DNA 염기서열의 충분한 확보가 어려움. 혼합 어란의 종 분석법은 샷건 시퀀싱보다 DNA 메타바코딩이 유용함을 확인함.

### 다. 전공 기본 지식 역량

- 정어리알의 미토콘드리아 DNA copy수 변화 분석 결과의 해석을 위해 문헌 조사를 실시함. 이때 정어리알과 같이 쥐, 개구리, 제브라피쉬 등의 수정란도 발생 중에 미토콘드리아 DNA copy수의 복제가 일어나지 않음을 확인함(Chase and Dawid, 1972; Piko and Taylor, 1987; Artuso et al., 2012)



## VI. 연구결과의 활용방안

### 가. 학위 논문 진행과 논문 투고 예정

- 정어리알 발생단계별 미토콘드리아 DNA copy 수 분석 결과를 학위 논문에 추가 작성
- 위의 결과를 DNA 메타바코딩을 이용한 혼합 어란의 정량 평가 전제 조건 검증에 대한 내용의 투고 논문에 일부 결과로 이용

### 나. 후속과제 기획

- 지구온난화에 따른 어류 산란장 변화 예측
  - 어류의 산란 활동은 수온 상승에 취약함. 어류 산란장은 기후 변화에 따른 수온 상승으로 변동이 예상됨
  - 어란 출현 정보 기반의 어류 산란장과 산란 수온은 산란장 변동 예측에 유용한 자료임

## VII. 참고문헌

- Artuso, L., Romano, A., Verri, T., Domenichini, A., Argenton, F., Santorelli, F. M., Petruzzella, V. (2012). Mitochondrial DNA metabolism in early development of zebrafish (*Danio rerio*). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1817(7), 1002-1011.
- Chase, J. W., Dawid, I. B. (1972). Biogenesis of mitochondria during *Xenopus laevis* development. *Developmental biology*, 27(4), 504-518.
- Choi, H. Y., Oh, J., Kim, S. (2018), Genetic identification of eggs from four species of Ophichthidae and Congridae (Anguilliformes) in the northern East China Sea, *PloS one*, 13(4), e0195382.
- Duke, E. M., Burton, R. S. (2020), 'Efficacy of metabarcoding for identification of fish eggs evaluated with mock communities', *Ecology and evolution*, 10(7), 3463-3476.
- Espeland, S. H., Sannæs, H. (2018). Estimating cod egg developmental stage based on DNA concentration. *ICES Journal of Marine Science*, 75(2), 825-830.
- Fox, C. J., Taylor, M., Dickey-Collas, M., Fossum, P., Kraus, G., Rohlf, N., Munk, P., van Damme, C. J. G., Bolle, L. J., Maxwell D. L., Wrigh P. J. (2008), Mapping the spawning grounds of North Sea cod (*Gadus morhua*) by direct and indirect means, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275, 1543-1548.
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., Dewaard, J. R. (2003), Biological identifications through DNA barcodes, *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313-321.
- Houde, E. D. (1987), Fish early life dynamics and recruitment variability, *American Fisheries Society Symposium*, 2, 17-29.
- Jang, S. H., Kim, J. K., Ryu, J. H. (2020), 'First Report on the Occurrence of Eggs of the Small Yellow Croaker *Larimichthys polyactis* from Chilsan-do Island, Jeollanam-do, Korea', *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53(4), 650-655.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Meintjes, P., Drummond, A. (2012), 'Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data'. *Bioinformatics*, 28(12), 1647-1649.
- Kendall A. W., Ahlstrom E. H., Moser H. G. (1984), Early life history stages of fishes and their characters. In: Moser H. G., Richards W. J., Cohen D. M.,

- Fahay M. P., Kendall A. W., Richardson S. L. (eds) *Ontogeny and systematics of fishes*. Kansas:American Society of Ichthyologists and Herpetologists.
- Kimmerling, N., Zuercher, O., Amitai, G., Gurevich, T., Armoza-Zvuloni, R., Kolesnikov, I., Berenshtein, I., Melamed, S., Gilad, S., Benjamin, S., Rivlin, A., Ohavia, M., Paris, C. B., Holzman, R., Kiflawi, M., Sorek, R. (2018), Quantitative species-level ecology of reef fish larvae via metabarcoding, *Nature ecology & evolution*, 2(2), 306-316.
- Lamb, P. D., Hunter, E., Pinnegar, J. K., Creer, S., Davies, R. G., Taylor, M. I. (2019), How quantitative is metabarcoding: A meta-analytical approach, *Molecular Ecology*, 28(2), 420-430.
- Lewis, L. A., Richardson, D. E., Zakharov, E. V., Hanner, R. (2016), Integrating DNA barcoding of fish eggs into ichthyoplankton monitoring programs, *Fishery Bulletin*, 114, 153-165.
- Matarese, A. C., Sandknop, E. M. (1984), Identification of fish eggs. *Ontogeny and systematics of fishes*, 27-31.
- Miranda-Chumacero, G., Mariac, C., Duponchelle, F., Painter, L., Wallace, R., Cochonneau, G., Molina-Rodriguez, J., Garcia-Davila, C., Rennoce, J. F. (2020), Threatened fish spawning area revealed by specific metabarcoding identification of eggs and larvae in the Beni River, upper Amazon, *Global Ecology and Conservation*, 24, e01309.
- Pikó, L., & Taylor, K. D. (1987). Amounts of mitochondrial DNA and abundance of some mitochondrial gene transcripts in early mouse embryos. *Developmental biology*, 123(2), 364-374.
- Shao, K. T., Yang, J. S., Chen, K. C., Lee, Y. S. (2001), *An identification guide of marine fish eggs from Taiwan*, Taipei:Institute of Zoology Academia Sinica and Taiwan Power Company.

## VIII. 주요 연구실적

### 1. 연구실적 요약

학술지 논문	학회논문	특허 출원	특허 등록	대내외 수상
-	-	-	-	-

### 2. 학술지 논문

No.	논문제목	학회명	저자순	게재연월	국내/국외	SCI 여부

### 3. 학회 논문

No.	논문제목	학회명	저자순	게재연월	국내/국외	발표 유형

### 4. 특허출원·등록

No.	특허명	출원연월	등록연월	출원등록국	출원등록번호

### 5. 대내·외 수상

No.	수상명	수상등급	수여기관	수여연월

### IX. 국외출장 현황

No.	출장기간	출장자	국가/지역	출장목적	학회/행사명	발표제목	연구비 사용여부	
							참가비	여비

### X. 전문가 교류내역

No.	전문가 정보			교류내용	교류일자	비고
	성명	소속	직위			

### XI. 연구비 집행 현황

(단위 : 원)

세목	예산금액(A)	집행금액(B)	집행률(B/A)
인건비	5,800,000	5,800,000	100%
연구장비·재료비	1,312,530	734,250	55.94%
연구활동비	18,460,070	14,346,470	77.72%
연구과제추진비	527,400	290,200	71.23%
간접비	2,900,000	2,900,000	100%
<b>합 계</b>	<b>29,000,000</b>	<b>24,070,920</b>	<b>83%</b>

## XII. 지도교수 의견

어란은 어구 선택성이 매우 적어 다양한 어종의 산란장 탐색과 산란시기 규명에 매우 좋은 연구 소재이다. 하지만 형태적 종 동정의 어려움 때문에 이용률이 매우 낮다. 최근 Sanger sequencing 기반의 DNA 바코드 분석으로 어란의 이용도가 증가하고 있다. 여전히 분석 가능한 어란 표본의 수는 매우 제한적이다. 이를 극복하기 위해 대량의 어란 표본(1 정점에 채집 가능한 어란의 수는 많은 경우 수 천에서 수십 만개; 어류의 산란 특성임) 분석을 시도하였다. 분석에 도입한 방법은 high throughput sequencing에 기반한 메타바코딩이다. 이 방법을 사용하기 위한 전제 조건은 종내 변이가 적은 DNA 마커가 필요하다. 사실 어란 배아의 세포 수는 수정란 1세포에서 부화 직전 수만 세포까지 증가한다. 그런데 발생단계를 알 수 없는 멸치와 앨통이 알을 이용한 mtDNA 메타바코딩에서 정량 분석의 가능성을 확인하였다. 그 이유를 알기 위해 발생단계를 구분한 정어리 알을 이용하여 발생단계별 mtDNA/nuDNA의 비율 변화를 측정하였다. 이를 통해 mtDNA copy 수는 nuDNA와 달리 어란의 배아 발생 중 증가하지 않음을 확인하였다. 즉, 미토콘드리아는 DNA 메타바코딩을 이용한 어란의 정량 분석 지표로 이용할 수 있다는 결론에 도달하였다. 이와 같은 결과가 빛을 발하기 위해서는 학술지 투고가 필요하다.



## 주 의

1. 이 보고서는 한국해양과학기술원에서 수행한 주요사업의 연구결과보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 한국해양과학기술원에서 수행한 주요사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.