



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년03월05일
(11) 등록번호 10-1954583
(24) 등록일자 2019년02월26일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/6895 (2018.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C12Q 1/6895 (2018.05)</p> <p>(21) 출원번호 10-2018-0119745</p> <p>(22) 출원일자 2018년10월08일
심사청구일자 2018년10월08일</p> <p>(56) 선행기술조사문헌
NCBI REFERENCE SEQUENCE: NC_021189.1
(뒷면에 계속)</p> | <p>(73) 특허권자
재단법인 전남생물산업진흥원
전남 나주시 동수농공단지길 30-5, (동수동)</p> <p>(72) 발명자
김영옥
전라남도 장흥군 장흥읍 동교3길 53
최성제
전라남도 완도군 완도읍 개포로135번길 26 무등그린빌6차 103호
최철웅
광주광역시 서구 풍암순환로 10 호반중흥1단지 아파트 105-203</p> <p>(74) 대리인
최석진</p> |
|--|---|

전체 청구항 수 : 총 2 항

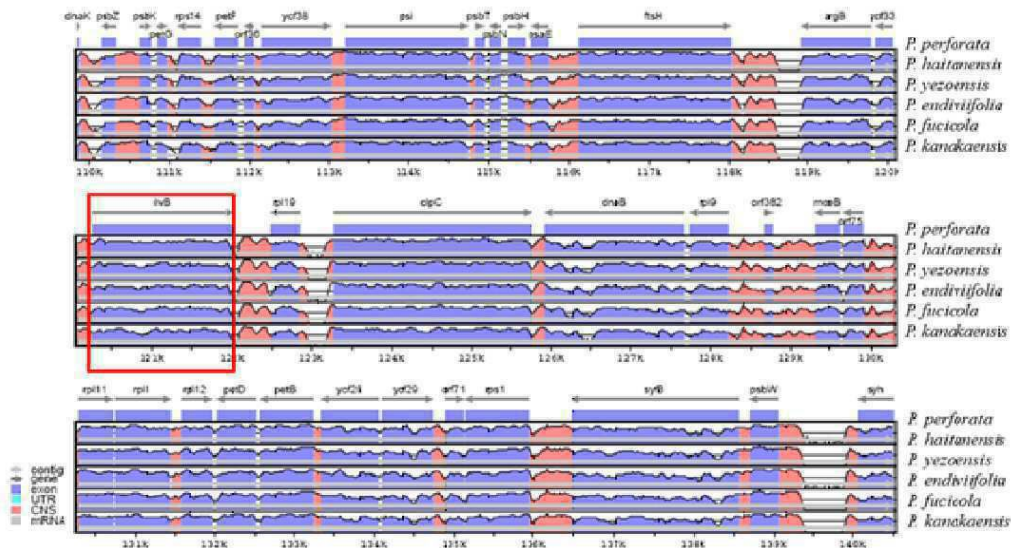
심사관 : 이재영

(54) 발명의 명칭 김속(Pyropia) 선별용 분자 마커 및 이를 이용한 선별 방법

(57) 요약

본 발명은 분자 마커를 이용하여 김 6종을 감별하는 마커 및 이를 이용한 감별방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 NCBI genebank에 등록되어 있는 김 속 6종의 전장 염색체 지놈 정보를 활용하여 중간 hypervariable한 영역을 생물정보학을 통해 탐색하여 InDel 영역을 포함하는 김 6종에 특이적인 ilvB 유전자 정보를 획득하였고 consensus 프라이머 세트를 제작하여 PCR 증폭 통한 김 6종을 판별 할 수 있는 마커 및 판별 방법을 제공한다. 이로부터 김 육종 및 양식에서 6종의 김 감별이 가능하다.

대표도 - 도1



(56) 선행기술조사문헌

NCBI REFERENCE SEQUENCE: NC_007932.1

WANG L, ET.AL., PLOS ONE. 2013 MAY 29;8(5)

KR1020130001398 A

KR1020180027391 A

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 1 및 2의 올리고뉴클레오티드를 포함하며, 방사무늬김(*P. yezoensis*,) 잇바디돌김(*P. dentata*), 하이타넨시스김(*P. haitanensis*), 모무늬돌김(*P. seriata*), 둥근돌김(*P. suborbiculata*), 긴잎돌김(*P. pseudolinearis*) 중에서 선택되는 어느 하나의 김 종을 특이적으로 판별하기 위한 김종 판별용 프라이머 세트

청구항 2

김에서 게놈 DNA를 분리하는 단계(가);

상기 (가)단계에서 분리된 게놈 DNA를 주형으로 하고, 제1항에 따른 프라이머 세트를 이용하여 증합효소연쇄반응을 수행하여 표적 서열을 증폭하는 단계;

상기 증폭 산물을 분석하여 방사무늬김(*P. yezoensis*,) 잇바디돌김(*P. dentata*), 하이타넨시스김(*P. haitanensis*), 모무늬돌김(*P. seriata*), 둥근돌김(*P. suborbiculata*), 긴잎돌김(*P. pseudolinearis*) 중에서 선택되는 어느 하나의 김 종을 판별하는 단계를 포함하는 김 종 판별 방법

청구항 3

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 국내 김속(Pyropia) 6종을 선별하는 마커와 이를 이용한 선별 방법에 관한 것으로, 염록체 내의 hyper-variable하고 종 특이적인 *ilvB* 유전자영역을 증폭시켜 국내 주요 김 6종을 판별할 수 있는 마커와 이를 이용한 선별 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 2012년에 해조류를 비롯한 모든 식물로 품종보호제도가 확대된 이래, 김을 포함하는 해조류의 종 판별과 보호에 관심이 높아지고 있다. 김은 홍조식물 보라털목 보라털과 김속에 속하는 해조의 총칭으로 한국, 일본, 중국의 바다에서 암초 위에 자라난다. 마치 이끼처럼 자라나며 길이는 14~25 cm 너비 5~12 cm정도이다. 긴 타원 모양이며 가장자리에 주름이 있고 윗부분은 갈색 아랫부분은 푸른 녹색이다. 10월 무렵부터 보이기 시작하여 겨울에서 봄을 거치는 동안 자라나고 날이 따뜻해지면 보이지 않는다.

[0003] 김은 김속의 해조류를 넓은 곳에 평평하게 퍼서 말려서 사각형으로 잘라서 먹는 음식이다. 그냥 먹거나 소금을 치거나 참기름을 발라서 구워 먹는다. 주로 요리의 부재료로 쓰이며 밥을 싸 먹거나, 김밥으로 만들어 먹거나, 잘게 썰어 국이나 탕 위에 고명으로 뿌려 먹기도 한다. 청태, 감태, 해우(海羽), 해의(海衣), 해태(海苔)라고도 부르며, 한국과 일본 사람들에게 인기 있는 음식재료이다. 한국에서는 삼국시대부터 먹었으며 조선시대에는 진상품과 무역품으로 귀하게 여겨졌다. 17세기부터 양식되었으며 한국에서는 주로 경상남도와 전라남도 지역에서 만든다.

[0004] 김에는 단백질이 많이 들어 있는데, 마른 김 5장에 들어 있는 단백질 양이 달걀 1개에 들어 있는 양과 비슷하다. 그러나 품질이 나쁜 김에는 단백질보다 탄수화물이 더 많이 들어 있다. 또한, 필수 아미노산을 비롯하여 비타민도 많이 들어 있으며, 소화도 잘 되기 때문에 아주 좋은 영양식품으로 알려져 있다. 한편, 동맥경화와 고혈압을 일으키는 원인으로 알려진 콜레스테롤을 몸 밖으로 내보내는 성분도 함유하고 있는 것으로 알려져 있다.

[0005] 한국과 일본은 김의 주요 생산이며 소비국이기도 하다. 일본은 방사무늬김(*Porphyra yezoensis*)을 주생산품으로 하고 있으며, 중국은 방사무늬김(*P.yezoensis*)의 생산을 증대시키고 있다. 한국은 참김(*P. tenera*), 방사무늬김, 잇바디돌김(*P. dentata*) 및 모무늬돌김(*P. seriata*)을 생산하고 있다. 특히, 전 세계적으로 가장 많이 소비되고 있는 방사무늬김과 참김은 육상식물과 달리 재배 시 생체로도 그 구별이 불가능하며, 건조된 김에서는 더욱 불가능하다.

[0006] 김의 종관별에 관하여는 종래에는 기존에 핵 유전자인 액틴(actin)관련 유전자(ARP4)를 이용한 참김과 방사무늬김의 CAPS 마커가 보고된 바 있다(Park et al. 2008 Fisheries Science 74: 613-620). 또한 한국 등록특허 제 10-1291609호에서 엽록체 DNA *psaA-psaB-(rps10-tufA)* 구간의 염기서열을 증폭하고 구간 내 제한효소 HindIII 효소처리로 생성된 제한단편길이다형성(RFLP, restrictionfragment length polymorphism)을 관찰하여 참김(*P. tenera*), 방사무늬김(*P.yezoensis*), 잇바디돌김(*P. dentata*) 및 모무늬돌김(*P. seriata*) 4 종을 판별하는CAPS 마커가 기술되어 있다.

[0007] 그러나 상기 선행문헌들에는 본 발명의 엽록체 내의 hyper-variable한 *ilvB* 유전자영역을 특이적으로 증폭시켜 판별할 수 있는 프라이머에 관한 구성은 개시되지 않아 차이를 보인다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-1291609호에서는 생육 상태 또는 건조된 김으로 그 구별이 용이하지 않은 주요 식용 4종인, 참김(*Porphyra tenera*), 방사무늬김(*P. yezoensis*), 잇바디돌김(*P. dentata*), 모무늬돌김(*P.seriata*)을 대상으로 제안된 프라이머 세트로 PCR을 하여, 그 PCR 산물을 제한효소로 자르는 PCR-RFLP 방법으로 쉽게 구분할 수 있는 분자 마커를 제공하는 김 종 구분용 엽록체 CAPS 마커를 개시하고 있다.

(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 제10-1725316호에서는 (A) 방사무늬김에서 분리된 게놈 DNA를 주형으로 하고, 4개의 엑손으로 구성된 방사무늬김 미토콘드리아 *rnl*(large subunit ribosomal RNA) 유전자의 하나의 엑손 *e(n)* 서열에 매칭되는 프라이머와, 상기 엑손과 인접한 엑손 *e(n+1)*의 상보서열에 매칭되는 프라이머로 이루어지는 프라이머 세트 3쌍을 이용하여 미토콘드리아 *rnl* 유전자의 구조변이를 활용한 방사무늬김 품종의 한국산 자생품종 구별방법을 개시하고 있다.

(특허문헌 0003) 대한민국 등록특허 제10-1734847호에서는 붉은갯병 감염 의심 시료에 대해 김 붉은갯병을 진단하고, 붉은갯병의 원인이 되는 병원균 유전자를 감별할 수 있는 프라이머 세트 및 상기 프라이머 세트를 이용하여 붉은갯병을 진단하고 원인 병원균을 정확하게 판정하기 위한 김 붉은갯병 병원균 유전자 감별을 위한 진단용 프라이머 세트를 개시하고 있다.

(특허문헌 0004) 대한민국 공개특허 제10-2006-0025662호에서는 한국산 김붉은갯병 병원균(*Pythium porphyrae*)의 검출 또는 동정용 올리고뉴클레오타이드 프라이머(oligonucleotide primers), 이를 이용한 한국산 김 붉은갯병 병원균의 검출또는 동정방법 및 유주자(zoospores) 수 정량방법, 및 이를 포함하는 것을 특징으로 하는 한국산 김 붉은갯병 병원균의 검출을 위한 프라이머 및 이를 이용한 검출방법 및 키트를 개시하고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 형태적으로 선별이 어려운 김속 6개 종의 종관별 시 선별용 분자 마커를 이용하여 엽록체 내의 hyper-variable한 InDel 영역을 증폭시켜 김의 종을 판별할 수 있는 마커와 이를 이용한 종관별 방법을 제공하는 데에 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 일 실시예에 따른 김 종관별용 프라이머 세트는 서열번호 1 및 2의 프

라이머 세트에 이루어진 것일 수 있다.

[0011] 상기 김은 방사무늬김(*P. yezoensis*,) 잇바디돌김(*P. dentata*), 하이타넨시스김(*P. haitanensis*), 모무늬돌김(*P. seriata*), 둥근돌김(*P. suborbiculata*), 긴잎돌김(*P. pseudolinearis*) 중 선택되는 어느 하나인 것을 포함하는 것일 수 있다.

[0012] 본 발명의 다른 일 실시예에 따른 김 종 판별 방법은 김에서 게놈 DNA를 분리하는 단계(가); 상기 (가)단계에서 분리된 게놈 DNA를 주형으로 하고, 제1항에 따른 프라이머 세트를 이용하여 중합효소연쇄반응을 수행하여 표적 서열을 증폭하는 단계; 상기 증폭 산물을 분석하는 단계를 포함하는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0013] 본 발명에 따른 김속 선별용 분자 마커 및 이를 이용한 선별 방법을 이용함으로써 육안으로 구분하기에 어려운 김속의 6개 종의 판별을 신속 및 용이하게 수행할 수 있어 김 양식, 종의 보호 및 신제품 개발에 도움이 된다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 NCBI genebank에 등록되어 있는 *P. perforata*(KF515973), *P. haitanensis*(KC464603), *P. yezoensis*(KC517072), *P. endiviifolia*(KT716756), *P. fucicola*(KJ776837), *P. kanakaensis*(KJ776836) 김속 6종의 약 190kb 크기의 엽록체 지놈을 multiple alignment를 통해 유전 정보를 재배열하여 hypervariable한 영역 중 각각의 김 종을 특이적으로 구분할 수 있는 conserved한 ilvB 유전자(120,239-122,011bp) 부위를 나타낸다.

도 2는 김속 6종에서 추출한 genomic DNA를 주형으로 하여 서열번호 1과 2를 프라이머 세트에 하여 1.5% 아가로스 겔 전기영동 상의 PCR 증폭한 결과이다.

도 3은 김속 6종에서 추출한 genomic DNA를 주형으로 하여 서열번호 1 내지 2를 프라이머 세트에 PCR 증폭하여 PyilvB 유전자의 염기서열을 재배열한 결과이다.

도 4는 제시한 11개의 김 시료에서 추출한 genomic DNA를 주형으로 하여 consensus한 서열번호 1 내지 2를 이용하여 PCR 증폭 후 증폭산물을 아가로스겔 전기영동으로 분석한 결과를 나타낸다.

도 5는 방사무늬김(*P. yezoensis*,) 잇바디돌김(*P. dentata*), 하이타넨시스김(*P. haitanensis*)을 본 발명의 서열번호 1 내지 2를 이용하여 증폭시킨 ilvB영역의 염기서열을 낸다.

도 6은 모무늬돌김(*P. seriata*), 둥근돌김(*P. suborbiculata*), 긴잎돌김(*P. pseudolinearis*)을 본 발명의 서열번호 1내지 2를 이용하여 증폭시킨 ilvB영역의 염기서열을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 본 발명은 엽록체 내의 hyper-variable한 유전자 영역을 증폭시켜 김의 종을 판별할 수 있는 InDel 마커와 이를 이용한 선별 방법을 제공하기 위한 것이다. 이하 본 발명의 구체적인 예와 도면을 참조하여 상세히 설명하면 다음과 같다.

[0016] 홍조식물문(Rhodophyta), 원시홍조강(Bangiophyceae), 김과래목(Bangiales)에 속하는 김속(Porphyra)에는 전세계적으로 74종 이상이 있으며, 국내에는 14종 정도가 알려져 있다. 본 발명은 국내의 대표적인 김 6종을 형태학적인 분류로 인한 오류를 최소화하고 또한 병행해서 진행이 가능한 방법으로 김 종 분석뿐만 아니라 양식 및 김 가공 산업에서도 간편하게 사용할 수 있는 방법을 제공한다.

[0017] 본 발명에 따라 판별 가능한 김 6종은 방사무늬김(*P. yezoensis*,) 잇바디돌김(*P. dentata*), 하이타넨시스김(*P. haitanensis*), 모무늬돌김(*P. seriata*), 둥근돌김(*P. suborbiculata*), 긴잎돌김(*P. pseudolinearis*) 중 선택되는 1종 이상을 포함하는 것일 수 있다.

[0018] 1. 김의 종판별 가능한 hyper-variable한 유전자 영역의 설정

[0019] 하기의 표 1은 NCBI genebank에 등록되어 있는 6종의 전장 엽록체 지놈 정보를 나타낸 것이다. NCBI의 genebank에 등록되어 있는 김속의 chloroplast 지놈 유전정보를 탐색하였고, Mega 7.0 과 CLC viewer 8.0 소프트웨어 및 mVISTA 알고리즘을 사용하여 multiple sequence alignment를 통해 중간에 hyper-variable한 유전자 부위를 검색하였다. 그 결과, 중간 변이가 심하고 중 특이적인 유전 부위 및 위치를 확인하였다.

표 1

[0020] NCBI genebank의 6종 전장 엽록체 지놈 정보

No.	Species	Source	Size(bp)	Accession number
1	<i>P. perforata</i>	Mathematics and Sciences, Hartnell College, 411 Central Ave., Salinas, CA 93901, USA	189788	KF515973
2	<i>P. haitanensis</i>	College of Marine Life Sciences, Key Laboratory of Marine Genetics and Breeding of Ministry of Education, Ocean University of China, No. 5 Yushan Road, Qingdao, Shandong 266003, P.R. China	195597	KC464603
3	<i>P. yezoensis</i>	Mathematics and Sciences, Hartnell College, 411 Central Ave., Salinas, CA 93901, USA	191975	KC517072
4	<i>P. endiviifolia</i>		195784	KT716756
5	<i>P. fucicola</i>	Mathematics and Sciences, Hartnell College, 411 Central Ave., Salinas, CA 93901, USA	187282	KJ776837
6	<i>P. kanakaensis</i>	Mathematics and Sciences, Hartnell College, 411 Central Ave., Salinas, CA 93901, USA	189931	KJ776836

[0021] 여러 엽록체 유전자 부위 중 hypervariable한 8개의 유전자 부위, apcF_orf121, rpl4_dnaK, petF_orf36_ycf38 사이의 IGS(intergenic space region) 영역, ilvB, clpC 유전자부위, trnR_groEL, nblA_cpeB, ycf26_ycf63사이의 IGS 영역을 찾아냈으며, 각 유전자 및 IGS 부위별 consensus primer set을 제작하여 NCBI primer-BLAST를 통해 NCBI에 등록되어 있는 여러 김종에서 특이적으로 증폭됨을 확인하였다.

[0022] 실제 PCR 증폭을 통해 김 6종간의 염기서열차이 유무를 확인하였으며, 총 8개의 유전자 부위 중 김 6종을 모두 구분할 수 있는 중 특이적인 ilvB 유전자(120239-122011bp) 부위를 확인하였다. 도 1은 NCBI genebank에 등록되어 있는 약 190kb 크기의 김 6종의 엽록체 전장 지놈을 multiple alignment를 통해 유전자 정보를 재배열하여 hypervariable한 InDel 영역을 포함하고 중 특이적인 양상을 보이는 ilvB 유전자(120239-122011bp) 부위를 나타낸다.

[0023] 김 6종을 구분할 수 있는 ilvB 유전자의 hypervariable한 영역은 TA cloning 및 sequencing을 통해 염기서열 정보를 확인하였다. 도 2 는 PyilvB 유전자의 PCR증폭 산물을 아가로스겔 전기영동으로 확인한 결과를 나타낸다. 아가로스겔 전기영동을 통해 확인한 6종의 밴드를 gel elution 및 gel extraction을 통해 증폭산물을 회수하였고, 회수한 증폭산물을 TA cloning 및 대장균 형질전환을 통해 다량 확보하였으며, 확보한 Plasmid 내 insert DNA를 illumina sequencing을 통해 염기서열을 확인하였다. 도 3은 김 6종의 PyilvB 유전자 염기서열을 재배열 한 것이다.

[0024]

[0025] **2. Genomic PCR을 통한 김의 종판별**

[0026] 생물정보분석을 통해 확인된 ilvB 부위를 김 6종에 대해 특이적인지 여부를 확인하는데 전남 해양수산과학원 해남지원으로부터 분양받은 6종에 대한 11개의 시료로 genomic PCR을 실시하였다. 하기의 표 2는 PCR에 사용한 11개의 김 샘플의 입수정보를 나타낸다.

[0027] 김 엽상체 시료는 액체질소에서 유발을 사용하여 분쇄 후, QIAGEN사의 DNeasy[®] Plant mini Kit를 이용하여 지놈 DNA를 추출하였다.

[0028] PCR 증폭 조건은 총 50 μ l에 25 μ l의 Taq polymerase mixture(EmeraldAmp[®] PCR master mix, TaKaRa, Japan), 50 ng의 genomic DNA와 1 μ l (10pM)의 프라이머세트를 혼합하여 95 $^{\circ}$ C에서 3분간 초기 변성 후, 95 $^{\circ}$ C에서 30초, 55 $^{\circ}$ C에서 30초, 72 $^{\circ}$ C에서 1분간 40회 반응시킨 후 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 신장 반응을 PCR thermal cycler(BIORAD, USA)에서 진행하였다.

표 2

[0029]

11종의 김 정보

No.	Scientific Name	Common Name	Collection site	Location
1	<i>P. yezoensis</i>	방사무늬김	Songji-myeon, Haenam-gun, Jeollanam-do	34° 21'05.92"N 126° 27'40.76"E
2				
3			Soan-myeon, Wando-gun, Jeollanam-do	34° 08'53.12"N 126° 41'10.12"E
4				
5	<i>P. dentata</i>	잇바디돌김	Yuldo-dong, Mokpo-si, Jeollanam-do	34° 48'13.22"N 126° 18'34.88"E
6				Palgeum-myeon, Sinan-gun, Jeollanam-do
7	<i>P. haitanensis</i>	하이타넨시스김	Uisin-myeon, Jindo-gun, Jeollanam-do	34° 19'07.66"N 126° 17'31.87"E
8				Songji-myeon, Haenam-gun, Jeollanam-do
9	<i>P. seriata</i>	모무늬돌김	Songji-myeon, Haenam-gun, Jeollanam-do	34° 45'49.37"N 126° 07'50.54"E
10	<i>P. suborbiculata</i>	둥근돌김	Nam-myeon, Yeosu-si, Jeollanam-do	34° 25'32.73"N 127° 47'31.33"E
11	<i>P. pseudolinearis</i>	긴잎돌김	Ulleung-gun, Gyeongsangbuk-do	37° 27'31.55"N 130° 54'14.98"E

[0030]

PCR을 위하여 김 6종에 특이적인 chloroplast DNA의 *ilvB* 영역을 증폭하기 위하여 Mega 7.0 소프트웨어를 사용하여 multiple alignment로 지놈 염기서열을 재배열하여 consensus primer인 정방향 프라이머 5' - TGAGCTACTGAGCCATAATA-3' 및 역방향 프라이머 5' -CTGATCAAGGTATTGGCTCGAT-3' 를 디자인하였으며, 증폭산물은 1.5% 아가로스 겔에서 40분간 loading하여 확인하였다. 상기에서 사용한 프라이머를 표 3에 나타내었다.

표 3

[0031]

chloroplast DNA *ilvB* 영역 증폭 프라이머

서열번호	타겟부위	방향	서열
1	chloroplast	정방향	5' TGAGCTACTGAGCCATAATA-3'
2	<i>ilvB</i>	역방향	5' CTGATCAAGGTATTGGCTCGAT-3'

[0032]

하기의 표 4는 본 발명의 김 6종의 PCR 증폭산물을 나타낸다. 도 4는 제시한 11개의 김 시료에서 추출한 genomic DNA를 주형으로 하여 consensus한 서열번호 1 내지 2를 이용하여 PCR 증폭 후 증폭산물을 아가로스겔 전기영동으로 분석한 결과를 나타낸다.

[0033]

도 5는 597bp 크기의 방사무늬김(*P. yezoensis*), 629bp 크기의 잇바디돌김(*P. dentata*), 484bp 크기의 하이타넨시스김(*P. haitanensis*)을 본 발명의 서열번호 1 내지 2를 이용하여 PCR 증폭 후 그 증폭산물을 시퀀싱하여 확보한 *PyilvB*영역의 종 특이적인 염기서열을 나타내고, 도 6은 341bp 크기의 긴잎돌김(*P. pseudolinearis*), 696bp 크기의 모무늬돌김(*P. seriata*), 484bp 크기의 둥근돌김(*P. suborbiculata*)을 본 발명의 서열번호 1 내지 2를 이용하여 PCR증폭 후 그 증폭산물을 시퀀싱하여 확보한 *PyilvB* 영역의 종 특이적인 염기서열을 나타낸다.

[0034]

PCR결과 방사무늬김(*P. yezoensis*)은 597bp, 잇바디 돌김(*P. dentata*)은 629bp, 하이타넨시스김(*P. haitanensis*)은 484bp, 긴잎돌김(*P. pseudolinearis*)은 341bp, 모무늬돌김(*P. seriata*)은 696bp, 둥근돌김(*P. suborbiculata*)는 655bp 크기의 증폭산물을 얻었으며, 각각의 종 특이적인 차이를 나타냈다.

[0035]

엽상체에서 추출한 genomic DNA를 주형으로 하여 서열번호 1 및 2를 프라이머 세트로 PCR 증폭하여 1.5% 아가로스 겔 전기영동으로 100V에서 40분간 loading하여 UV illuminator로 확인한 결과, 본 발명에 따른 프라이머 세트는 김 6종을 특이적으로 구별할 수 있는 분자마커임으로 사료된다.

표 4

[0036]

PCR 증폭산물 크기

No.	Species	PCR product size(bp)
1	<i>P. yezoensis</i>	597
2	<i>P. dentata</i>	629
3	<i>P. haitanensis</i>	484
4	<i>P. pseudolinearis</i>	341
5	<i>P. seriata</i>	696
6	<i>P. suborbiculata</i>	655

[0037]

상기 결과를 통해 김 6종을 중 특이적인 PyilvB 유래 InDel 마커를 통해 PCR 기법으로 간편하고 정확하게 감별이 가능함을 확인하였으며, 본 발명의 방법을 통해서 김 양식장 내 혹은 김 가공식품 내 종간 혼입여부까지도 정확하게 판별이 가능하다.

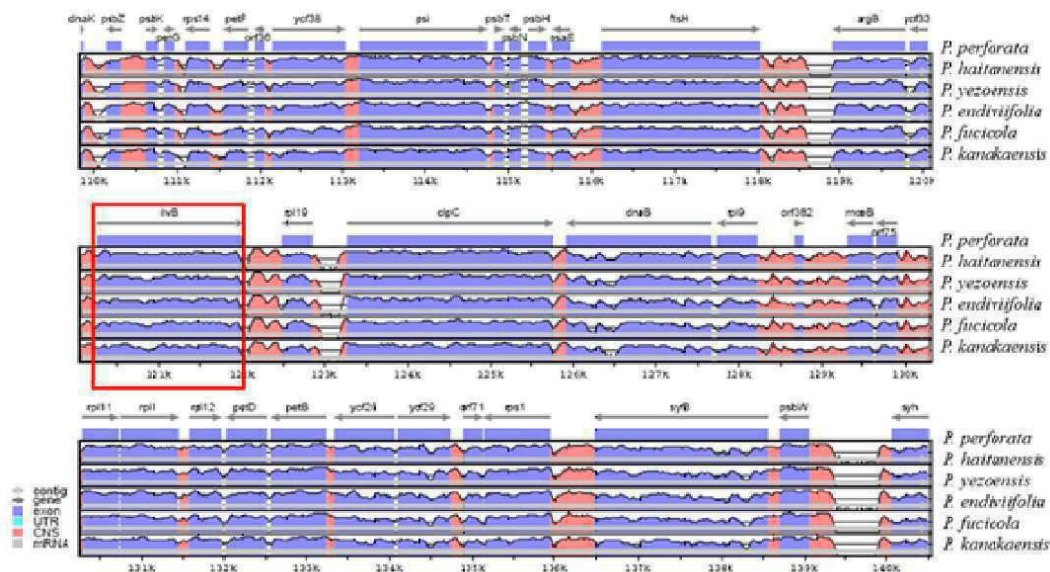
산업상 이용가능성

[0038]

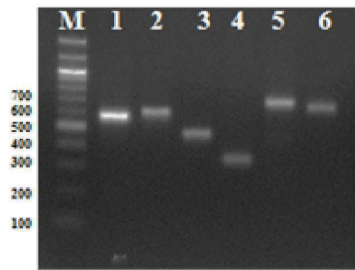
본 발명은 형태적으로 선별이 어려운 김속 6개 종의 종판별 시 선별용 분자 마커를 이용하여 염색체내의 영역을 증폭시키고 김의 종을 판별할 수 있는 마커와 이를 이용한 판별 방법을 제공하고 있어, 본 발명에 따른 김속 6개 종의 종판별은 신속 및 간편하게 김 제품의 수입수출 관리, 김 양식, 김 종의 보호 및 신제품 개발 등에 이용될 수 있으므로 산업상 이용가능성이 있다.

도면

도면1



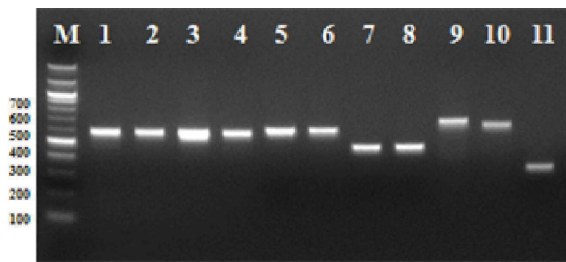
도면2



도면3



도면4



도면5

> *P. yezoensis* (597bp)

TGAGCTACTGAGCCATAGTATAAAATATTATACCATAAAATTATGGTCAAATATAAATCAATAAAAGAATAAT TACT
ATCATTAC TACTTTTGTGC AAGT TG TAAATATTCGAATAAAATTCAAAAT TAAAATGTCTTTAACTTTT TGTTA
GAATATTGATTACGAAAGTATTGATATTAGAATTAACAATAAATTTTGCTTTAATTTGTAGACACAAAAATATT
GGAAATTTTCATCAATTAATTAGTTAAACTATAACCGACATACAAGAATTATTGAACTACGTTAAATTTGTGATGC
ATTGGGCTTGATCAAAACTTCTCTAAAATCAATAGAATATAGTAAATCAAGTAGATCAAACTAACAAATGTGA
CAAACGCTTAAAAAATAATACAATTAGAATCGTAAAAATTTGGTTTTTGACTGTGTTAAATAAATTTGATTATC
ATAGATTTAATATTTAAAAGTGTCTATTACTTGATTGAGTAATGTAATATTAAATATCTTCTTTTITAGATAACA
ATCATAATATAAGCTAAAAAATAGTTTTATTAAACAAC TAGCATAGAGCCAAATACCTTGATCAG

> *P. dentata* (629bp)

TGAGCTACTGAGCCATAATAAAAAC TATTGCTAAATACTATACCATAAAATACGTC AAAATATAGATCAACAAAA
AAGTATTACTACAAAGTGCCTCAATTTATATTATCTAAAATTTGGCATTAAAAAGATATTC AATTGTCTTTTACGATA
TACTTTGAGTCTCTTTATTTGATTGGGAGTATTCAATATTAACTTGCAAAAATAGATACTGTTTTTCAAGAATA
CATAGAATTTTACCACATACTTATATGTTTTAAACAATTAGCTTCTGATAAACTATAGATTACCAATTATAGTAG
ATTAGACTAAATAATATGTTTCTTTAATTAAGCAAAAAGTAAAGAAAGTATATAAGTAAATATATTACTTTCTTAT
CGATATAATTTATTTAACAGATTATCAATAAGCAAAAATTACATAATCAATATATACATATCTATGAAATCAAGAT
GATGTAATCTTATTTGTTGAATATTAAGTAGACTTAAGATTATAAATCTATAGTTAAAAGATATTTGTTAATTC
CACTTAGTAATATTTTTTCTAGGGAGTAAATGAAAGCTAAATAAATATCTAATATCTTATACAACCAACATCGAG
CCAATGCCTTGATCAG

> *P. haijanensis* (484bp)

TGAGCTACTGAGCCATAATAAAAACGATTGATAAAATAC TATACCATAAATTTATCTTAAAATATAAATCAATAAAAA
AGTCTTTACTACAAGTACATAGATCTTATATTGTC CAGATTAACATTTCAAAGATATTAATACCCTCTACGATAT
ACTCTCAATCTTTTCACTTTATTTGGCAGTATTTCAATATCAGCTTGTA AAAATAAGTAATTTTTTGCAAGAATAT
ATAGAATCTTGCTACATATTTACATTTATGTTAATAATTAGCCTTTGCTAAACTATAAATCTATGAATTTTAGTAGAT
TAGACTAAATAATTATGCTTTTAAATTAGGTA AAAAGTAAAGAAAGTATGTGAGCAAAAATATCTAATTTTTTTAG
AAATATTTTATTTTCAACATTTTTTTATAATAGAGCAGTTAAAAC TGAATAAATAGCTAATATCTTATACAACCA
ACATCGAGCCAATGCCTTGATCAG

도면6

> *P. pseudolinearis* (341bp)

TGAGCTACTGAGCCGTAATATCAACTATTAAACCAATATTATACCATAAATTATATGAAATATAAATCAATAAAAA
 AAGAATTTAGAGAATATTTCTAAGTAACCATATTATAATCCAATGGACAAGCTAAACTACAAGTTAAC TAAGTAT
 AGTAAGTCAGAGTTAATCAATAGTTATCTCTAACTATCAAAAAATTAAGAAGGTATATTAATCAAGGAACTCAA
 CATGCAAGTTGGACCTCTTTTACTATTAAATAAATTTTATGAGATAGTAGT TACTAGCTAGATAAATAATAAAT
 ATTTTATACAACAAGCATCGAATCCAATACCTTGATCAGT

> *P. seriata* (696bp)

TGAGCTACTGAGCCATAATACAAACACTACCAAAATATTATACCATAAATTACCTCAAACATAAATCAATGAAA
 AAATATTTACTACATTAATATGATTTCACTATATAAACTATATTTCAAAAAATCTTGATTTTCATGCTTCCCTTC
 GTAGCCGAAAGAATATAAAAAATTTTGTAACAATACTTCAAGGTAATTTTCATTTAATATAAATGCTCAATAT
 CGACTTGCAGAAATAAAGAATTTTCTACAAGAATATATAGAATACGCGGAGTATGCATATGTCTCTAATATAAT
 AGAGCAGTCTATAGATTGGCCAATTTTGTGATTATGCTGAACAATAATATCTTTACTTAACAAAAGCAAA
 GAAAATATATACATAGAATACCTCATTTTTTTATTAATAATAATTAATTCAGGTTTCATTATTAGAGTGATATATA
 TATAAAGAATCTAAATATACAAAAATTTATGTATAAAATAGATAATAACAAGTCTCATTTTTCAATATGTCAA
 AATAACTTAAAGTCTTTAAATCTATATTAAAGAGATATTCATTAATTTCTCTCAGTAATATTGATTTTAGCAGTT
 TTTTGATAGTGAGTAGCTAAGAGTTAGATAAATAAATAAATAATGCTTATACAACCTAGCATTTGAACCAATACCTT
GATCAG

> *P. suborbiculata* (655bp)

TGAGCTACTGAGCCATCATATAAAATATTATTCAATATTATACCATAAACTATGGTCAAATATAAATCAGTAAAAA
 AATATTTACTATATGTCATTGCTTTAAACCTAAACCACCTAAAAGTCGTCGATTTTTAAGCGCTGATTGAGAGTTA
 AAAAAATTTTCAACTTTTCGTTAGTATATACTATCAATATTTTTTTATTATAAGTATATTAGTCTGAATTTCAA
 AATGAATTTTTAATTATTATATTAGCTTGAATAATTAGGCTAAAACCTAATGTACGTGAATTGATTAACCTATTT
 TATTATAATACAGAAGCCTTGATAAACAGTTCCTTTGACTGGAAAAAATAGTTTAGGCATATAATCAAAATATGC
 CGACCAAAGCTTGTTTTTGAATATAAATTAGTTCAGATTGTATTGAATAAATAATGCAAAATATAACAAAGAT
 TAAACGGTAGAATGAAGATCTTTAGGAAGTCAGGATGGTAAAAATTTTCATTTTTTGAATATGTCAAAATAACTTA
 AGTATCATAGATTAATAATGAAGCGCTGTATTAATTTTAAACATTTGTTTTAGAAATTATCAATTGACCAA
 AATAATCTATATACATAACAACAGCATCGAGCCAATACCTTGATCAG

서열목록

- <110> JEONNAM BIOINDUSTRY FOUNDATION
- <120> Molecular marker for distinguishing Korean 6 Pyropia species and
 PCR method using the same
- <130> P18-1005043
- <160> 2
- <170> KoPatentIn 3.0
- <210> 1
- <211> 20
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> Primer
- <400> 1

tgagctactg agccataata

- <210> 2
- <211> 22
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> Primer
- <400> 2

ctgatcaagg tattggctcg at

22