



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0105670  
(43) 공개일자 2011년09월27일

(51) Int. Cl.

C12Q 1/68 (2006.01) C12N 15/11 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0024940

(22) 출원일자 2010년03월19일

심사청구일자 2010년03월19일

(71) 출원인

한국해양연구원

경기 안산시 상록구 사동 1270번지

(72) 발명자

이택견

경기도 안성시 석정동 우남퍼스트빌 107-301

박소윤

경상남도 거제시 상동동 433번지 동하파로스빌 101동 402호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

진천용, 정종욱, 조현동

전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 대한민국 연안 해파리류의 종 판별 방법과 이에 따른 해파리류의 종 판별용 폴리뉴클레오티드 프로브, DNA 칩 및 키트

(57) 요약

본 발명은 한국 연안에 서식하는 해파리류의 종(species)을 판별하는 방법과, 이를 위한 해파리류의 종 판별용 폴리뉴클레오티드 프로브, DNA 칩 및 키트에 대한 것으로, 해파리류에서 추출한 DNA에 대해 중합효소연쇄반응(PCR)을 수행하여 PCR 산물을 얻는 단계; 상기 PCR 산물을, 서열번호 3 내지 서열번호 20 중 하나 이상의 각 DNA 서열과 동일하거나 그에 상보적인(complementary) 염기서열을 각각 포함하는 프로브에 결합시키는 단계; 및, 상기 결합 여부에 따라 상기 해파리류가 속하는 종을 판별하는 단계;를 포함하는 것이 특징이다. 이러한 본 발명은 다양한 해파리류 종의 단염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNPs)을 기반으로, 한국 연안에 서식하는 해파리류에 대한 유전자형을 분석하고, 간단하고 신속, 정확하게 그것의 종을 판별할 수 있는 효과가 있다.

대표도 - 도7

	<p>1, 2, 39, 40 : Position marker                  3, 4, 5, 6, 7, 8 : <i>Aequorea coerulescens</i>                  9,10,11,12,13,14 : <i>Aurelia aurita</i>                  15,16,17,18,19,20: <i>Bolinopsis sp.</i>                  21,22,23,24,25,26: <i>Cyanea nozakii</i>                  27,28,29,30,31,32: <i>Dactylometra quinquecirrha</i>                  33,34,35,36,37,38: <i>Nemopilema nomurai</i></p>
--	--

(72) 발명자

**황진익**

부산광역시 동래구 명장2동 305-21번지

**이우진**

경상남도 거제시 수월동 거제자이 111-1801

**이윤호**

서울특별시 강남구 도곡1동 961번지 현대아파트 2  
동 1011호

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

해파리류(jellyfish)에서 추출한 DNA에 대해 중합효소연쇄반응(PCR)을 수행하여 PCR 산물을 얻는 단계;  
 상기 PCR 산물을, 서열번호 3 내지 서열번호 20 중 하나 이상의 각 DNA 서열과 동일하거나 그에 상보적 인(complementary) 염기서열을 각각 포함하는 프로브에 결합시키는 단계; 및,  
 상기 결합 여부에 따라 상기 해파리류의 종(species)을 판별하는 단계;를 포함하는 해파리류의 종 (species) 판별 방법.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 해파리류는 대한민국 연안에 서식하는 것을 특징으로 하는 해파리류의 종 판별 방법.

### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 해파리류는 평면해파리(*Aequorea coerulea*), 보름달물해파리(*Aurelia aurita*), *Bolinopsis sp.*, 유령해파리(*Cyanea nozakii*), 커튼원양해파리(*Dactyloctenopsis quinquecirrha*) 및 노무라입깃해파리(*Nemopilema nomurai*) 로 이루어진 군에서 적어도 하나 이상이 선택된 것을 특징으로 하는 해파리류의 종 판별 방법.

### 청구항 4

제1항에 있어서, 상기 추출한 DNA는 상기 해파리류의 미토콘드리아 DNA 중 COI 유전자 부위의 단염기다형성 (single nucleotide polymorphism, SNPs)을 포함하는 것을 특징으로 하는 해파리류의 종 판별 방법.

### 청구항 5

제1항에 있어서, 상기 프로브는 상기 해파리류의 미토콘드리아 DNA 중 COI 유전자 부위의 단염기다형성 부위와 결합하고, 상기 결합은 상기 해파리류의 종에 따라 다르게 이루어지는 것을 특징으로 하는 해파리류의 종 판별 방법.

### 청구항 6

제5항에 있어서, 상기 결합이 상기 해파리류의 종에 따라 다르게 이루어진다는 것은, 서열번호 3의 염기서열을 포함하는 프로브는 평면해파리 종의 미토콘드리아 DNA 중 COI 유전자 부위의 654-669번째 DNA 서열과 특이적으로 결합하고, 서열번호 4의 프로브는 평면해파리 종의 588-603번째 DNA 서열, 서열번호 5의 경우는 평면해파리 종의 500-515번째 DNA 서열, 서열번호 6의 경우는 보름달물해파리 종의 654-669번째 DNA 서열, 서열번호 7의 경우는 보름달물해파리 종의 633-648번째 DNA 서열, 서열번호 8의 경우는 보름달물해파리 종의 589-604번째 DNA 서열, 서열번호 9의 경우는 *Bolinopsis sp* 종의 669-684번째 DNA 서열, 서열번호 10의 경우는 *Bolinopsis sp* 종의 628-643번째 DNA 서열, 서열번호 11의 경우는 *Bolinopsis sp* 종의 600-615번째 DNA 서열, 서열번호 12의 경우는 유령해파리 종의 663-678번째 DNA 서열, 서열번호 13의 경우는 유령해파리 종의 588-603번째 DNA 서열, 서열번호 14의 경우는 유령해파리 종의 500-515번째 DNA 서열, 서열번호 15의 경우는 커튼원양해파리 종의 658-673번째 DNA 서열, 서열번호 16의 경우는 커튼원양해파리 종의 592-607번째 DNA 서열, 서열번호 17의 경우는 커튼원양해파리 종의 542-557번째 DNA 서열, 서열번호 18의 경우는 노무라입깃해파리 종의

661-676 번째 DNA 서열, 서열번호 19의 경우는 노무라입깃해파리 종의 575-590 번째 DNA 서열, 서열번호 20의 경우는 노무라입깃해파리 종의 538-553 번째 DNA 서열과 특이적으로 결합하는 것을 특징으로 하는 해파리류의 종 판별 방법.

**청구항 7**

제1항에 있어서, 상기 PCR 산물을 프로브에 결합시키는 단계는 적어도 2회 이상 수행되는 것을 특징으로 하는 해파리류의 종 판별 방법.

**청구항 8**

제1항에 있어서, 상기 중합효소연쇄반응(PCR)을 수행하는 것은, 서열번호 1 또는 서열번호 2의 각 DNA 서열과 동일하거나 그에 상보적인(complementary) 염기서열을 각각 포함하는 폴리뉴클레오티드를 정방향 프라이머 또는 역방향 프라이머로 사용하는 것을 특징으로 하는 해파리류의 종 판별 방법.

**청구항 9**

서열번호 3 내지 서열번호 20 중에서 선택된 적어도 하나 이상의 각 DNA 서열과 동일하거나 그에 상보적인(complementary) 염기서열을 각각 포함하는 적어도 하나 이상의 폴리뉴클레오티드로 이루어진 해파리류의 종(species) 판별용 프로브.

**청구항 10**

서열번호 3 내지 서열번호 20 중에서 선택된 적어도 하나 이상의 각 DNA 서열과 동일하거나 그에 상보적인(complementary) 염기서열을 각각 포함하는 적어도 하나 이상의 프로브를 포함하는 해파리류의 종(species) 판별용 DNA 칩.

**청구항 11**

제10항에 있어서, 위치 마커(position marker)를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 해파리류의 종(species) 판별용 DNA 칩.

**청구항 12**

해파리류의 미토콘드리아 DNA 중 COI 유전자의 단염기다형성(SNP) 부위 DNA 서열과 결합하는 것으로, 서열번호 3 내지 서열번호 20 중 어느 하나의 DNA 서열과 동일하거나 상보적인(complementary) 15-30개의 연속 염기서열로 이루어진 것을 특징으로 하는 폴리뉴클레오티드 프로브와;

상기 해파리류의 미토콘드리아 DNA를 중합효소연쇄반응(PCR)으로 증폭시키기 위한 프라이머를 포함하는 것을 특징으로 하는 해파리류의 종(species) 판별용 키트.

**청구항 13**

제12항에 있어서, 상기 프라이머는 서열번호 1 또는 서열번호 2의 각 DNA 서열과 동일하거나 그에 상보적인(complementary) 염기서열을 각각 포함하는 정방향 프라이머 또는 역방향 프라이머인 것을 특징으로 하는 해파리류의 종(species) 판별용 키트.

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 대한민국 연안에 서식하는 6종의 주요 해파리류의 종(species)을 판별하기 위한 것으로, 특히 다양한 해파리류 종의 단염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNPs)을 기반으로, 대한민국 연안에 서식하는 해파리류에 대한 유전자형을 분석하고, 간단하고 신속, 정확하게 그것의 종을 판별할 수 있는 해파리류의 종 판별 방법과 이에 따른 종 판별용 폴리뉴클레오티드 프로브, DNA 칩 및 키트에 대한 것이다.

**배경기술**

[0002] 지구 온난화로 인한 수온 증가 등의 해양환경 변화로 인해 해파리의 개체수가 기하급수적으로 늘어나고 있다. 해파리는 주로 동물플랑크톤과 작은 어류를 포식하기 때문에 해파리의 증가로 인한 동물플랑크톤의 감소는 식물플랑크톤의 증식을 유발할 수도 있다. 해파리가 대량 번식할 경우 바다 어장의 어망과 어획물의 상품성에도 피해를 끼치며 어업을 생계로 하는 어민들에게 큰 피해를 가져다준다. 또한 해파리 일부 종들은 아주 강한 독을 가지고 있기 때문에 해파리에 쏘인 사람들은 경련, 구토를 일으키며 심할 경우 사망하기도 한다.

[0003] 해파리는 수정란, 플라눌라, 폴립, 스토로피라, 에피라의 단계를 거쳐 성체 해파리로 성장한다. 해파리 일생 중 성체의 형태를 갖추었을 때 비로소 육안으로 종동정이 가능하다고 할 수 있다. 폴립이나 에피라 단계의 해파리 시료를 가지고도 해파리 종 판별이 가능하게 하기 위해선 분자마커를 이용한 DNA 바코드 정보 분석 및 DNA 칩 개발을 이용한 정확한 동정이 필요하다.

[0004] 하지만, 우리나라 생물다양성과 관련하여 중요 어장으로 꼽히는 대한민국 연안의 다양한 해파리류에 대하여, 생물다양성 조사를 위한 다양한 생물종을 한번에, 그리고 신속 정확하게 판별할 수 있는 분자 생물학적인 연구는 국내외에서 그 사례를 찾기 어려운 실정이다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0005] 본 발명은 대한민국 연안에 서식하는 주요 해파리류에 대하여 유전자형을 분석하여, 간단하고 신속, 정확하게 상기 해파리류의 종을 판별할 수 있는 방법을 제공하는 것이 목적이다.

[0006] 해당하는 종을 구분하는 데 있어서, 염기서열의 차이가 밝혀졌다고 하더라도 이를 신속 정확하게 분석할 수 있는 표준화된 방법이 있으면 많은 시간과 인적 자원, 비용이 줄어들 수 있다. 본 발명에서는 대한민국 연안에 서식하는 해파리류의 주요 어종 36종 염기서열의 차이를 정확히 파악하고, 이를 근거로 하여 각 종마다 차이가 나도록 폴리뉴클레오티드 프로브를 제작하기 위한 것이며, 이를 포함하는 DNA칩 또는 키트를 이용하여 해당 종에 따른 염기서열 차이를 신속, 정확하게 분석할 수 있는 방법을 제공하고자 한다.

[0007] 또한, 본 발명의 다른 목적은 종간에 염기서열 차이가 있는 부위를 포함하는 15개 내지 30개의 연속적인 뉴클레오티드로 구성된 프로브와, 이것으로 구성된 DNA칩 그리고 이것들을 포함하는 키트를 제공하는 것이다. 이러한 본 발명에 의해, 하나의 슬라이드 위에서 다수의 해당 생물종에 대한 유전자형 분석을 간단하고 신속, 정확하게 검사하는 방법을 제공하기 위한 것이다.

[0008] 본 발명자들은 다양한 종의 미토콘드리아 DNA 중 COI유전자의 단염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNPs) 부위를 근거로 하여, 각 종마다 특이적으로 결합할 수 있는 최적의 폴리뉴클레오티드 프로브를 제작하고

자 한다.

**과제의 해결 수단**

- [0009]           상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명에 따른 해파리류의 종(species) 판별 방법은, 해파리류에서 추출한 DNA에 대해 중합효소연쇄반응(PCR)을 수행하여 PCR 산물을 얻는 단계; 상기 PCR 산물을, 서열번호 3 내지 서열번호 20 중 하나 이상의 각 DNA 서열과 동일하거나 그에 상보적인(complementary) 염기서열을 각각 포함하는 프로브에 결합시키는 단계; 및, 상기 결합 여부에 따라 상기 해파리류의 종(species)을 판별하는 단계;를 포함하여 이루어지는 것이 특징이다.
- [0010]           그리고, 본 발명의 다른 실시형태는, 서열번호 3 내지 서열번호 20 중에서 선택된 적어도 하나 이상의 각 DNA 서열과 동일하거나 그에 상보적인(complementary) 염기서열을 각각 포함하는 적어도 하나 이상의 폴리뉴클레오티드로 이루어진 해파리류의 종(species) 판별용 프로브일 수 있다.
- [0011]           또한, 본 발명의 또 다른 실시형태는           서열번호 3 내지 서열번호 20 중에서 선택된 적어도 하나 이상의 각 DNA 서열과 동일하거나 그에 상보적인(complementary) 염기서열을 각각 포함하는 적어도 하나 이상의 프로브를 포함하는 해파리류의 종(species) 판별용 DNA 칩인 것도 가능하다.
- [0012]           이와 함께, 본 발명의 또 다른 실시형태는 해파리류의 미토콘드리아 DNA 중 COI 유전자의 단염기다형성(SNP) 부위 DNA 서열과 결합하는 것으로, 서열번호 3 내지 서열번호 20 중 어느 하나의 DNA 서열과 동일하거나 상보적인(complementary) 15-30개의 연속 염기서열로 이루어진 것을 특징으로 하는 폴리뉴클레오티드 프로브와; 상기 해파리류의 미토콘드리아 DNA를 중합효소연쇄반응(PCR)으로 증폭시키기 위한 프라이머를 포함하는 것을 특징으로 하는 해파리류의 종(species) 판별용 키트일 수도 있다.
- [0013]           기타 본 발명의 다른 실시형태는 후술하는 본 발명의 실시를 위한 구체적인 내용 및 첨부된 도면에 널리 기재되어 있다.

**발명의 효과**

- [0014]           상기한 본 발명은 대한민국 연안에 서식하는 해파리류의 다양한 종에 대한 유전자형을 분석하여, 상기 해파리류의 단염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNPs)을 기반으로, 간단하고 신속, 정확하게 종을 판별할 수 있는 효과가 있다.
- [0015]           즉, 본 발명은 해파리류의 유전자형으로 구별하기에 가장 적합한 유전자군으로서, 미토콘드리아 DNA 중 COI 유전자를 선택하였고, 거기에 존재하는 특정한 단염기다형성(SNPs) 부위를 찾아내었으며, 이를 바탕으로 다양한 해파리류의 종 간에 구별되는 DNA 서열을 임의의 만들어, 해파리류의 종 판별을 간단하고 용이하게 하였다.
- [0016]           또한, 본 발명은 해파리류 종 판별용 프로브, 또는 상기 프로브를 포함하는 DNA 칩이나 키트로 제작되어, 육안으로는 종을 분별하기 힘든 유생, 조미 가공물 또는 분말가루 등에 대해서도, 하나의 슬라이드 위에 시료를 올려놓는 것만으로도 그 종을 판별할 수 있는 것이다.
- [0017]           또한, 본 발명에 따른 프로브를 사용하여 마이크로어레이 방법을 활용하면, 종래의 방법에 비해 시료를 분석하는 시간이 크게 단축되어, 다량의 시료를 짧은 시간 내에 검사할 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

- [0018] 도 1 내지 도 6은 각각 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 해파리류의 미토콘드리아 DNA 중 COI(Cytochrome oxidase subunit I)유전자의 단일염기다형성 부위가 포함된 염기서열을 연속적으로 도시한 모식도이고,
- 도 7은 상기 도 1 내지 6에 나타난 단일염기다형성에 근거하여 제작된 올리고뉴클레오티드 프로브를 포함하는, 본 발명의 일 실시예에 따른 해파리류 중 판별용 DNA칩의 구조를 도시화한 모식도이고,
- 도 8 내지 도 13은 각각 상기 도 7의 DNA칩을 이용하여 본 발명에 따른 올리고뉴클레오티드 프로브와 특정 해파리류의 PCR 증폭산물을 결합시킨 후의 반응 결과를 나타내는 사진이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0019] 이하에서는 본 발명의 바람직한 하나의 실시형태를 첨부된 도면을 참조하여 상세하게 설명하기로 한다.
- [0020] 본 발명에 따른 해파리류의 종(species) 판별 방법은, 먼저 해파리류에 속하는 다양한 해양생물 시료에서 DNA를 추출하고, 이렇게 추출한 DNA에 대해 중합효소연쇄반응(PCR)을 수행하여 PCR 산물을 얻는 단계를 거친다.
- [0021] 상기 시료에서 DNA를 추출하는 것은 시료의 각 조직 혹은 다양한 가공물 등으로부터 다양한 방법에 의해 DNA를 추출할 수 있고, 이는 추출된 DNA를 분석하여 종을 판별하기 위한 것이기 때문에, 상기 시료의 어느 부위에서 DNA를 추출하는지 또는 어떠한 방법으로 추출하는지는 특별히 제한되지 않는다.
- [0022] 그리고, 이렇게 추출한 DNA를 PCR로 증폭하는 것 또한 검사 표본을 늘이기 위한 것으로, 증폭산물을 얻는 방법은 특별히 제한되지 않는다. 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자에게 알려진 다른 DNA 추출방법이나 증폭방법 또한 본 발명의 범주에 속한다는 것은 명백하다.
- [0023] 본 발명자들은 해파리류의 유전자형으로 구별하기에 가장 적합한 유전자군으로서, 미토콘드리아 DNA 중 COI 유전자를 선택하였고, 거기에 존재하는 특정한 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNPs) 부위를 찾아내었으며, 이를 바탕으로 해당 종마다 특이적으로 결합할 수 있는 폴리뉴클레오티드 프로브를 제작할 수 있게 되었다. 이러한 폴리뉴클레오티드 프로브는 해당 생물종의 단일염기다형성(SNP) 부위를 근거로 제작되었기 때문에, 의도한 종의 DNA와는 결합하지만 이외에 다른 종에는 결합하지 않는 것이 특징이다.
- [0024] 특히, 본 발명자들은 수많은 연구와 노력 끝에, 대한민국 연안에 서식하는 주요 해양생물 6종의 미토콘드리아 DNA 중 COI 유전자에서 서열번호 3 내지 서열번호 20에 해당하는 DNA서열이 각 생물종을 구별하기에 최적으로 적합하다는 것을 확인하였고, 상기 서열번호 3 내지 서열번호 20의 DNA서열과 동일하거나 상보적인 염기서열을 가진 폴리뉴클레오티드 프로브를 사용하면, 종래의 다른 어떤 방법보다 현저히 우수하게 각 해당 생물종을 판별할 수 있음을 알 수 있었다.
- [0025] 이에 따라, 본 발명의 대상이 되는 해파리류는 특별히 제한되는 것은 아니지만, 대한민국 연안에 서식하는 어종인 것이 바람직하고, 더욱 바람직하게는 대한민국의 남해 해역을 포함하는 것이 적합하다. 본 명세서에 있어서, "대한민국" 또는 "대한민국 연안"이라 함은 대한민국 국토에 인접한 바다로서, 대체로 수륙의 경계를 이루고 선(해안선이나 호안선 등)을 기준으로 일반적으로 여겨지는 정도의 근접한 바다를 포함한다. 또한, "남해" 또는 "남해 해역"이라 함은 한국 남쪽에 있는 바다로서, 대체로 동쪽은 쓰시마섬[對馬島], 서쪽은 흑산도, 남쪽은 제주도를 연결하는 해역을 뜻한다.

[0026] 본 발명은 특별히 미토콘드리아 DNA상의 COI 유전자 부위에 존재하는 단염기다형성(SNPs) 부위를 이용한 것이며, 이에 따라 상기 해파리류에서 추출한 DNA는 해파리류의 미토콘드리아 DNA 중 COI 유전자 부위의 단염기다형성(SNPs)을 포함하는 것이 바람직하다.

[0027] 본 명세서에서 '다형성(polymorphism)'이란 유전학적으로 결정된 집단 내에서 2 이상의 대체적 서열 또는 대립형질의 발생을 의미한다. 다형 마커 또는 부위는 발산이 일어나는 위치(locus)이다. 바람직한 마커는 선택된 집단에서 1% 이상, 더욱 바람직하기로는 10% 또는 20% 이상의 발생 빈도를 나타내는 두개 이상의 대립형질을 가진다. 다형성 부위는 단일 염기쌍일 수도 있다.

[0028] 도 1 내지 도 6은 각각 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 대한민국 연안에 서식하는 주요 해파리류 6종의 미토콘드리아 DNA 중 COI(Cytochrome oxidase subunit I) 유전자의 단일염기다형성 부위가 포함된 염기서열을 연속적으로 도시한 모식도이다.

[0029] 본 발명자들은 수많은 연구와 노력 끝에 갈치 DNA의 COI 유전자 중에서, 상기 단염기다형성(SNPs) 부위에 속하는 염기서열을 프로브로 이용하면, 상기 해파리류의 종을 구별하기에 가장 적합하다는 것을 확인하였다.

[0030] 이에 따라, 본 발명은 상기 단염기다형성(SNPs) 부위에 속하는 염기서열, 즉 후술하는 서열번호 3 내지 서열번호 20 중 하나 이상의 각 DNA 서열과 동일하거나 그에 상보적인(complementary) 염기서열을 프로브로 이용한 것이다. 이러한 프로브는 해파리류가 속하는 종에 따라 다른 단염기다형성(SNP) 부위를 근거로 제작되었기 때문에, 의도한 해파리류에 속하는 PCR 시료 산물과는 결합하지만 이외에 다른 종에 속하는 해파리류의 그것과는 결합하지 않는 것이 바람직하다.

[0031] 본 발명에 따른 서열번호 3 내지 서열번호 20의 DNA 서열은 하기의 표 1에 나타난 바와 같다.

**표 1**

[0032] [대한민국 연안에 서식하는 주요 해파리류의 종 판별을 위한 DNA 서열]

프로브 명칭	DNA서열	반응 해파리 종명	DNA 서열 위치
J1(서열정보 3)	CTGGAGGAGGTGATCCTGTTTTA	<i>Aequorea coerulescens</i> (평면해파리)	654-669
J2(서열정보 4)	TCCTAGCAGGAGCTATAACTATG		588-603
J3(서열정보 5)	GAGCTCCAGGATTAACAATGGAT		500-515
J4(서열정보 6)	CTGGAGGAGGAGATCCAATTTTA	<i>Aurelia aurita</i> (보름달물해파리)	654-669
J5(서열정보 7)	ATACATCCTTCTTTGACCCCTGCT		633-648
J6(서열정보 8)	CTTGGCTGGGGCTATTACAATGT		589-604
J7(서열정보 9)	CAGTCTGTTCAGCACATTTTC	<i>Bolinopsis sp.</i> (국명없음)	669-684
J8(서열정보 10)	CTTCGGCACCAGCTTCTTCTCAG		628-643
J9(서열정보 11)	CAGTCACTATGATGCTGATGGAC		600-615
J10(서열정보 12)	GAGACCCTATTTTATCCAACAC	<i>Cyanea nozakii</i> (유령해파리)	663-678
J11(서열정보 13)	TGTTGGCAGGAGCAATAACTATG		588-603
J12(서열정보 14)	GAGCTCCTGGAATGACTATGGAT		500-515
J13(서열정보 15)	GGGAGGAGATCCTGTTTTGTTTC	<i>Dactylometra quinquecirrha</i> (커튼원양해파리)	658-673
J14(서열정보 16)	GGCTGGAGCCATTACAATGTTAT		592-607
J15(서열정보 17)	GGTCTGTTTTTCATAACCGCAATA		542-557
J16(서열정보 18)	GGGAGACCCAATATTATTTC AAC	<i>Nemopilema nomurai</i> (노무라입깃해파리)	661-676
J17(서열정보 19)	CTATCATTACCTGTTTTAGCTGG		575-590
J18(서열정보 20)	GTTTGATCAGTTTTAGTTACCGC		538-553



- [0033] 본 발명은 상기 서열번호 3 내지 서열번호 20 중 하나 이상의 각 DNA 서열과 동일하거나 그에 상보적인 (complementary) 염기서열을 각각 포함하도록 다수의 프로브를 제작할 수 있고, 이러한 프로브 중 적어도 하나 이상을 상기에서 얻은 PCR 산물과 결합시킴으로서, 그 결합 여부에 따라 해파리류의 종을 판별할 수 있는 것이다.
- [0034] 본 발명에 있어서, 상기 상기 해파리류는 평면해파리(*Aequorea coerulescens*), 보름달물해파리(*Aurelia aurita*), *Bolinopsis sp*, 유령해파리(*Cyanea nozakii*), 커튼원양해파리(*Dactylometra quinquecirrha*) 및 노무라입깃해파리(*Nemopilema nomurai*) 로 이루어진 군에서 적어도 하나 이상이 선택된 것일 수 있다.
- [0035] 그래서, 상기 결합 여부에 따라 해파리류가 속하는 종을 판별하는 것은, 상기 결합되는 서열번호를 근거로 하여, 서열번호 3 내지 서열번호 5 중 하나 이상의 프로브와 결합하면 평면해파리 종, 서열번호 6 내지 서열번호 8 중 하나 이상의 프로브와 결합하면 보름달물해파리 종, 서열번호 9 내지 서열번호 11 중 하나 이상의 프로브와 결합하면 *Bolinopsis sp* 종, 서열번호 12 내지 서열번호 14 중 하나 이상의 프로브와 결합하면 유령해파리 종, 서열번호 15 내지 서열번호 17 중 하나 이상의 프로브와 결합하면 커튼원양해파리 종, 서열번호 18 내지 서열번호 20 중 하나 이상의 프로브와 결합하면 노무라입깃해파리 종인 것으로 판별할 수 있다.
- [0036] 또한, 본 발명에 따른 상기 프로브는 해파리류의 미토콘드리아 DNA 중 COI 유전자 부위의 단염기다형성 부위와 결합하고, 상기 결합은 상기 해파리류의 종에 따라 다르게 이루어지는 것이 바람직하다.
- [0037] 예를 들어, 상기 결합이 상기 해파리류의 종에 따라 다르게 이루어진다는 것은, 서열번호 3의 염기서열을 포함하는 프로브는 평면해파리 종의 미토콘드리아 DNA 중 COI 유전자 부위의 654-669번째 DNA 서열과 특이적으로 결합하고, 서열번호 4의 프로브는 평면해파리 종의 588-603번째 DNA 서열, 서열번호 5의 경우는 평면해파리 종의 500-515번째 DNA 서열, 서열번호 6의 경우는 보름달물해파리 종의 654-669번째 DNA 서열, 서열번호 7의 경우는 보름달물해파리 종의 633-648번째 DNA 서열, 서열번호 8의 경우는 보름달물해파리 종의 589-604번째 DNA 서열, 서열번호 9의 경우는 *Bolinopsis sp* 종의 669-684번째 DNA 서열, 서열번호 10의 경우는 *Bolinopsis sp* 종의 628-643번째 DNA 서열, 서열번호 11의 경우는 *Bolinopsis sp* 종의 600-615번째 DNA 서열, 서열번호 12의 경우는 유령해파리 종의 663-678번째 DNA 서열, 서열번호 13의 경우는 유령해파리 종의 588-603번째 DNA 서열, 서열번호 14의 경우는 유령해파리 종의 500-515번째 DNA 서열, 서열번호 15의 경우는 커튼원양해파리 종의 658-673번째 DNA 서열, 서열번호 16의 경우는 커튼원양해파리 종의 592-607번째 DNA 서열, 서열번호 17의 경우는 커튼원양해파리 종의 542-557번째 DNA 서열, 서열번호 18의 경우는 노무라입깃해파리 종의 661-676 번째 DNA 서열, 서열번호 19의 경우는 노무라입깃해파리 종의 575-590 번째 DNA 서열, 서열번호 20의 경우는 노무라입깃해파리 종의 538-553 번째 DNA 서열과 특이적으로 결합하는 것일 수 있다.
- [0038] 나아가, 상술한 본 발명에서, 상기 PCR 산물을 프로브에 결합시키는 단계는 적어도 2회 이상 수행되는 것이 바람직하는데, 이와 같이 상기 결합을 확인하는 단계 이전에, 추출된 DNA와 본 발명에 따른 프로브의 결합 과정을 반복적으로 수행한다면, 상기 결합을 더욱 확실하게 하여 프로브와 대상 DNA 산물의 결합을 더욱 견고히 할 수 있기 때문이다.
- [0039] 한편, 본 발명의 다른 실시형태는, 상술한 해파리류의 종 판별 방법에 있어서, 상기 증합효소연쇄반응 (PCR)을 수행하는 것은, 서열번호 1 또는 서열번호 2의 각 DNA 서열과 동일하거나 그에 상보적인 (complementary) 염기서열을 각각 포함하는 폴리뉴클레오티드를 정방향 프라이머 또는 역방향 프라이머로 사용하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0040] 즉, 본 발명에 따른 6종의 해파리류에서 DNA 시료를 채취하고, 이를 증폭시켜서 PCR 산물을 증폭시키는데 있어서, 상기 해파리류의 종에 적합한 특별한 염기서열을 상기 증폭을 위한 프라이머로 사용하는 것이다. 이러한 특정한 프라이머는 해파리류의 미토콘드리아 DNA 중 COI 유전자의 단염기다형성(SNP) 부위 DNA 서열에 부합하는

것으로써, 상기 추출한 DNA를 더욱 우수하게 증폭시킬 수 있다. 이를 위해 상기와 같이 혈액, 세포 또는 조직으로부터 추출된 DNA는 COI 유전자의 단염기다형성(SNP) 부위를 포함하는 것이 바람직하다.

[0041] 예를 들어, 상기 해파리류에 속하는 종에 대해서는, 하기 표 2에 기재된 서열번호 1과 서열번호 2의 염기서열을 포함하는 프라이머를 정방향 프라이머와 역방향 프라이머로 이용하는 것이 바람직하다.

**표 2**

[0042] [해파리류의 판별을 위한 프라이머 서열]

프 라이 머	염 기 서 열
전위 프라이머(서열번호1)	GGTCAACAAATCATAAAGATGTTGG
역위 프라이머 (서열번호2)	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA

[0043] 상기한 바와 같이, 본 발명은 서열번호 3 내지 서열번호 20 중 하나 이상의 각 DNA 서열과 동일하거나 그에 상보적인(complementary) 염기서열을 각각 포함하는 프로브를 이용하는 것이 특징이고, 이에 따라 본 발명의 다른 실시형태는 상기한 프로브, 이러한 프로브를 포함하는 DNA 칩 및 키트일 수 있다. 상기 DNA 칩 및 키트에는 프로브와의 결합 및 검출의 정확성을 높이기 위하여, 특정한 염기서열로 표시되는 별도의 위치마커(position marker)가 추가로 고정되어 있는 것도 가능하다.

[0044] 이러한 본 발명은 DNA 마이크로어레이 기술에 따라 하나의 슬라이드 위에서 다수 해파리류의 종을 동시에 판별할 수 있다. 본 발명에 따른 DNA 칩 및 키트는 상기한 프로브를 포함하여, 종 특이적 단염기다형성을 DNA의 혼성화 가부에 따라 판별함으로써, 염기서열을 분석하지 않고도 분석하고자 하는 해파리류의 유전자형과 그 종을 신속히 판정할 수 있는 효용성을 가지고 있다. 또한 상기 해파리류에 속하는 어종을 한 번의 실험으로 정확한 유전자형을 분석할 수 있어, 상기 해파리류의 유전자형과 종을 판별하는 방법을 표준화 및 자동화하는 것도 가능하다.

[0045] 본 발명은 하기의 실시예에 의하여 보다 더 잘 이해 될 수 있으며, 하기의 실시예는 본 발명의 예시 목적을 위한 것이며, 첨부된 특허청구범위에 의하여 한정되는 보호범위를 제한하고자 하는 것은 아니다.

[0046] 실시예 1: 프라이머의 합성

[0047] 먼저, 해파리류에서 추출한 DNA를 증폭시키기 위한 프라이머를 합성하였다. 본 실시예에서 사용한 해파리류와 이에 따른 프라이머는 상기 표 1에 기재된 것과 같은 것을 사용하였다.

[0048] 대칭 또는 비대칭 PCR에 사용하는 역방향(엔티센스) 프라이머는 교잡화 반응 후에 형광을 확인하기 위하여, 말단에 로다민, cy3, cy5를 부착시켜서 제작하거나 바이오틴을 부착시켰고, 교잡화 반응 후 Syreptavidin-Cyanine 과 결합하도록 제작하여 사용하였다.

[0049] 실시예 2: 해파리류의 DNA 추출과 PCR 반응

[0050] 대한민국 연안에 서식하는 주요 해파리류 6종, 즉 *Aequorea coerulea*, *Aurelia aurita*, *Bolinopsis* sp, *Cyanea nozakii*, *Dactylometra quinquecirrha*, *Nemopilema nomurai* 종의 DNA는 INTRON 의 G-spin™ Genomic DNA extraction kit 을 사용하여 추출하였다.

[0051] 하기의 표 3과 같은 조건의 방법으로 PCR 반응을 DNA Engine(MJ Research사, 미국)으로 PCR 반응을 시행하였다.

**표 3**

[프라이머 정상 증폭 확인 조건]

[0052]

반응조성		반응 조건	
멸균증류수	9.5 ul	94℃, 5분	1 cycle
10X PCR buffer	2 ul		
2.5mM dNTP	2 ul		
10 uM forward	1 ul	94℃, 30초	40 cycle
10 uM reverse	1 ul		
lunit Hot start Taq	0.5 ul	72℃, 1분	1 cycle
정제 DNA	4 ul	72℃, 7분	

[0053]

[0054] PCR 산물은 EtBr이 함유된 아가로스젤에 전기영동하고 UV transilluminator가 부착된 Image analyzer를 이용하여 확인하였다.

[0055] 실시예 3: 서열번호 3 내지 20의 프로브 제작

[0056] 본 실시예에서는 6종 각각의 해파리류에 대한 프로브를 합성하였다. 교잡화 반응을 위한 프로브의 서열정보는 상기 표 1에 나타난 것과 같다. 해파리류 각 종의 미토콘드리아 COI 유전자 염기서열의 다중 비교를 통해 가장 상동성이 낮은 염기서열 부위를 바탕으로 종 특이적인 프로브의 염기서열을 결정하였다.

[0057] 먼저, 알데히드 작용기가 처리되어 있는 글라스 위에, 상기한 서열정보를 가지는 폴리뉴클레오티드의 5'말단에 아미노 링크를 수식하고, 교잡화 반응시 슬라이드 글라스 위에 집적되어 있는 프로브 간의 공간적인 방해로 최소화시키기 위하여, 10-20 개의 올리고(dT)를 추가하여 본 발명에 따른 프로브를 완성하였다.

[0058] 실시예 4: DNA 칩 제작

[0059] 실시예 3에서 제조된 아미노 링크가 수식되어 있는 해파리류 종 판별용 프로브 50 μM을 동일한 양의 3X SSC와 혼합하여 집적하였고, 이를 16시간 동안 실온에서 반응시켰다. 반응이 완료된 슬라이드는 0.1 % SDS로 5분간 2회 세척한 다음 소듐 보로하이드리드 용액 (1.3g NaBH4, 375ml PBS, 125ml EtOH)에 5분간 반응시키고 증류수로 세척한 후 진공 원심분리기에서 800 rpm 속도로 10분간 회전시켜 건조하고 상온에 보관하였다. 이렇게 제작된 DNA 칩 구조의 모식도는 도 7에 도식화하였다.

[0060] 도 7은 상기 도 1 내지 도 6에 나타난 단염기다형성에 근거하여 제작된 올리고뉴클레오티드 프로브를 포함하는, 본 발명의 일 실시예에 따른 해파리류 종 판별용 DNA칩의 구조를 도식화한 모식도이고, 여기에 도시된 바와 같이, 본 발명은 DNA 칩을 제작하기 위해 칩의 기판으로 사용된 슬라이드 상의 각 도트에 하나의 프로브만이 함유 되도록 집적하고, 왼쪽 위와 오른쪽 아래 도트에는 위치 마커 (position marker)의 프로브를 집적하여 형광스캔 결과와 비교분석하는데 사용할 수 있도록 구성하였다.

[0061] 실시예 5: 교잡화 반응

[0062] 실시예 2에서 얻은 PCR 산물 10  $\mu$ 를 99°C에서 3분간 변성시키고 90  $\mu$ 의 혼성화용액과 혼합하여 실시예 4에서 제작된 DNA 칩에 도포하고, 55°C 습윤 반응기에서 1시간 동안 반응시켰다. 혼성화 반응 후 1X SSC와 0.1 % sarcosyl 혼합용액에 5분, 1X SSC 용액에 5분, 0.1X SSC 용액에서 1분간 교반 세척하고 진공 원심분리기에서 800 rpm 속도로 5분간 회전시켜 건조하였다.

[0063] 그런다음, GenePix 4000B 스캐너 (Molecular Device, 미국)를 이용하여 혼성화 결과를 분석하여 해파리류 종에 따라 칩 상에 나타난 형광의 분포가 다르게 나타나며, 종 사이의 판별력이 있음을 확인하였다. 그 결과는 도 8 내지 도 13에 나타낸 바와 같다.

[0064] 도 8 내지 도 13은 각각 상기 도 7의 DNA칩을 이용하여 본 발명에 따른 올리고뉴클레오티드 프로브와 특정 해파리류의 PCR 증폭산물을 결합시킨 후의 반응 결과를 나타내는 사진이다.

[0065] 여기서, 도 8은 평면해파리(*Aequorea coerulea*), 도 9는 보름달물해파리(*Aurelia aurita*), 도 10은 *Bolinopsis* sp, 도 11는 유령해파리(*Cyanea nozakii*), 도 12는 커튼원양해파리(*Dactyloctenella aequorea*), 도 13은 노무라입깃해파리(*Nemopilema nomurai*)에 대한 결과이다.

[0066] 여기에 도시된 것과 같이, 본 발명에 의하는 경우 해당 생물 종에 따라 형광 표지가 다르게 나타나므로, 이에 따라 해당 종을 판별할 수 있음을 확인하였다.

[0067] 한편, 상기에서는 본 발명을 특정의 바람직한 실시예에 관련하여 도시하고 설명하였지만, 이하의 특허 청구범위에 의해 마련되는 본 발명의 기술적 특징이나 분야를 이탈하지 않는 한도 내에서 본 발명이 다양하게 개조 및 변화될 수 있다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명백한 것이다.

### 산업상 이용가능성

[0068] 본 발명에 의하는 경우, 하나의 슬라이드 위에서 다수의 해양 생물 종에 대한 유전자형 분석을 간단하고 신속, 정확하게 판별할 수 있는 효과가 있다. 본 발명에 따라 해양 생물의 미토콘드리아 COI 지역을 유전자 표지로 사용하면, 종래의 형태학적 구별법으로 해당 종을 판별하는 지금까지의 방법이 가졌던 낮은 분해능의 문제점을 해결 할 수 있다. 종래와 같이, 형태학적인 차이점을 기초로 판별하는 것 보다 본 발명에 따라 단염기다형성을 근거로한 DNA칩 방법을 이용하면, 종래기술보다 한 단계 진보된 형태의 유전자 분석법을 제공하여, 더욱 효과적으로 해양 생물종을 판별할 수 있고, 분해능도 현저히 증가시킬 수 있다.

[0069] 그리고 본 발명에 따라 상기한 폴리뉴클레오티드 프로브를 사용하여 마이크로어레이 방법을 활용하면, 종 특이적 단염기다형성을 DNA의 혼성화 가부에 따라 판별함으로써, 염기서열을 분석하지 않고도 각 생물종의 유전자형을 신속히 판정할 수 있는 적용성을 갖고 있다. 또한 다수의 생물종을 한 번의 실험으로 정확한 유전자형을 분석할 수 있어, 해당 생물종의 유전자형을 표준화, 자동화할 수 있도록 기술 개발의 적용성을 극대화시켰다. 즉, 본 발명은 종래의 방법에 비해 시료를 분석하는 데 걸리는 시간을 크게 단축시켰으며, 다량의 시료를 짧은 시간 내에 처리할 수 있는 효과가 있다.

도면

도면1

*Aequorea coerulescens*

GGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTACATTATATATTGTTTCGGAGCATTTTCCGGAATGGTAGGAACAGCTCTAAGTATGT  
 TAATTAGATTAGAATTAGCTGGACCTGGTCCAATGTTGGAGATGATCACTTATATAATGTTATCGTGACAGCTCATGCTTTTG  
 TCATGATTTTCTTTTAGTAAATGCCAGTGTAAATAGGAGGGTTTGGGAATTGATTATACCATTATATATAGGAGCCCAGATA  
 TGGCATTCCCAAGATTAATAAATTAAGTTTTGATTACTCCTCCGGCATTATTGTTATTATTAGGATCTTCTTAATAGAAC  
 AAGGAGCAGGAACGGATGAACAGTTTATCCACCTCTATCAGGTCCTCAAACCTATTCTGGAGGTTCTGTTGATATGGCTATTT  
 TCAGTTTGCATTGTGCAGGTGCTTCTTCTATTATGGGAGCTATAAAATTTTACTACTATTTTAAACATGAGAGCTCCAGGAT  
TAACAATGGATAAATTACCTTTATCGTTTGTATGATTAATACAGCCTTTTATTATTATATCATTACCAGTCCTAGCAT  
GAGCTATAACTATGTTATTAACGTAGGAATTTAATACTACTTCTTTGACCCAGCTGGAGGAGGTGATCCGTGTTTTATATC  
 AACATCTTTTCTGATTTTTGGTCACCCTGAAGTTA

도면2

*Aurelia aurita*

GGTCAACAAATCATAAAGATATTGGAACATTATATCTAATATTCCGGTCTTTCTCTGCTATGGTAGGAACCTGCTTTAGTATGA  
 TTATAAGATTGGAACCTGTCAGGACCTGGATCTATGCTAGGAGATGACCAATTATACAATGTTGTAGTAACTGCACATGCTCTAA  
 TAATGATTTTCTTTTGTATGCCCCGCTTAAATAGGGGGTTTGGAAATTGACTGGTTCATTATATATTGGAGCCCAGATAAT  
 GGCTTTCCCAAGGCTTAACAATATTAGTTTTGATTACTACCCAGCTCTGCTTTACTATTAGGGTCTTCTTATAGAACA  
 GGGAGCAGTACTGGATGAACAATTTATCCCCCTAAGCGCAATTCAGGCCATTCCGGTGGTTCAGTAGATATGGCTATATT  
 TAGTTTGCATCTAGCAGGGGCTCCTCAATAATGGGAGCTATAAAATTTTACTACTACCATATTAATATGAGGGCCCCGGAAT  
 GACTATGGATAAAAATACCTCTATTCTGATGATCCGACTGTTAACCAGCAATATTATTGTTATTATCTTTACCTGTCTTGGCTGG  
GGCTATTACAATGTTATTAACCGACAGAACTTTAATACATCCTTCTTTGACCCTGCTGGAGGAGGAGATCCAATTTTTATTCA  
 GCATCTTTTCTGATTTTTGGTCACCCTGAAGTTA

도면3

*Bolinopsis sp.*

GGTCAACAAATCATAAAGATATTGGAATCATGTACTTGTGGTTTTCTTTTCAATGTTTCATTTTGGGCGGCGCCTTCGCAATGA  
 TCATTGTCGCCAGCTGTTCCAGCCCGGTATGCAATTGATCGAGCCCGCATTCTTTAACCAAATGACAACCTTGACCGCTTGA  
 TTATGGTCTTCCGGTGCCATCATGCCGTCTTTGTGGGCTTGGCTAACTGGATGATCCGGTGATGATCGGTGCCAGACATGG  
 CATTGCCACGTATGAATAATTGGTCGTTCTGGTTGTGCCCCCGCCTTTTGATTTTGGCAGGGACGCTGTTATGGAAGGTG  
 GAGCGCCCGCATTTGGTTGGACTTTTTATGCGCCTCTGTGACCCAGTATGCACCGCCCTCGGTCACTTATTTCATTTTCTCAA  
 TCCACGTGCTAGGCATGCTTCTATTATGGGAGCGATTAACATCATCGGACCATTATGAACATGCGCGCGCTGGTATGACCT  
 ACATGAAAAATGCCACTGTTGCTTTGGACATGGTTGATTACCGCATTTTGTCTTGTGCTGTGATGCCGGTTTTGGCGGGCGCAG  
TCACTATGATGCTGATGGACATCCACTTCGGCACCAGCTTCTTCTCAGCTGCGGGTGGTGGTACCAGTCTTGTTCACGACA  
TTTTCTGATTTTTTGGTCACCCTGAAGTTA

도면4

*Cyanea nozaki i*

GGTCAACAAATCATAAAGATATTGGAACCTTATATATTATTTTTGGTGCATTCTCTGCTATGGTGGGTACCGCCTTTAGTATGA  
 TTATTAGATTAGAATTATCTGGTCTGGCTCCATGTTAGGAGATGATCAAAATCTATAATGTTGTAGTAAACAGCTCACGCTCTAG  
 TTATGATATTTTCTCGTAATGCCGTCTTATAGGAGGATTTGGTAACTGACTTATACCTTTGATGATAGGAAGTCTGATA  
 TGGCTTTCCCAGACTTAACAATATTAGCTTCTGGCTTTTACCACCTGCTCTTATTATTATTAGGATCAGCTTTAATAGAAC  
 AAGGTGCAGGAACAGGATGAACGTTTATCCACTTTAGCATCTATTCAATTTCACTCAGGAGGATCTGTAGACATGGCAATAT  
 TTAGTTTACATTTAGCAGGAGCTTCTTCAATAATGGGAACAATAAATTTTATCACAACAATATTGAATATGAGAGCTCCTGGAA  
TGACTATGGATAGAATTCCTTTATTTGTTGATCAGTTTTAATCAGCAATATTACTATTGTTATCTTTACCTGTGTTGGCAG  
GAGCAATAACTATGTTATTGACAGATAGAAACTTTAATACATCTTTTTTGACCTGCCGGGGAGGAGACCCTATTTTATTTC  
AACACTGTTTTGATTTTTTGGTCACCCTGAAGTTA

도면5

*Dactylometra quinquecirrha*

GGTCAACAAATCATAAAGATATTGGAACCTTTATACCTTATATTTGGAGCATTCTCCGCAATGATAGGAACAGCATTTAGCATGA  
 TTATAAGACTAGAACTATCTGGACCTGGATCAATGTTAGGGGATGACCAAATCTACAACGTAGTCGTGACTGCCACGCCTTAA  
 TTATGATATTCTTCTTTGTTATGCCTGTGTTAATAGGCGGATTCGGAAATGATTGTTCCCTTATATATAGGAAGCCAGATA  
 TGGCTTTTCTAGATTAACAATATTAGCTTTTGAATTTCTACCCCTGCCTACTATTATTATTAGGATCCTCCCTAATTGAAC  
 AAGGAGCTGGAACAGGTTGAACAATATATCCCCCTTATCAGCTATACAAGCTCACTCAGGAGGATCTGTTGATATGGCTATTT  
 TTAGTTTACTTACTAGCTGGTCTCATCTATAATGGGAGCTATAAATTTTATTACAACCATTATTAATATGAGAGCCCTGGAA  
 TGACAATGGACAGAGTACCTTTATTTGTATGGTCTGTTTTTCATAACCGCAATATTATTATTGTTATCTTTACCTGTATTGGCTG  
GAGCATTACAATGTTATTAACCGATAGAAAATTTAATACATCATTTTTTGACCCTGCTGGGGGAGGAGATCCTATTTTGTTC  
AACATTTATTTTGATTTTTTGGTCACCCTGAAGTTA

도면6

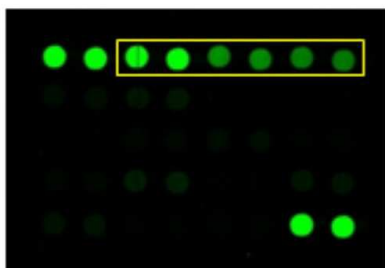
*Nemopilema nomurai*

GGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTACTTTATATCTTATTTTTGGGGCATTTTCCGCTATGATAGGAACTGCCTTTAGTATGA  
 TTATAAGGCTAGAATTATCTGGCCAGGATCAATGTTAGGTGATGACCAACTTTATAACGTAGTTGTCACAGCACACGCATTAA  
 TAATGATATTTTTCTTTGTTATGCCTGTTTTAATAGGAGGGTTGGAACTGGTTAGTTCCCTTTATATAGGAGCTCCGGACA  
 TGGCCTTCCCTAGGTTAAACAATATTAGTTTTTGGTTATTACCTCCAGCTTATTATTACTATTAGGATCATCCTTAGTTGAAC  
 AAGGAGCAGGAACAGGATGAACATCTACCCCTCCCTTAGTTCTATACAAGCTCACTCAGGAGGGTCCGTTGATATGGCTATAT  
 TTAGCCTCCATTTAGCAGGAGCTCCTCTATTATGGGAGCTATCAATTTTATTACAACAATTTTAAATATGAGAGCACCAGGAA  
 TGACTATGGATAAATTACCTTTATTTGTTGATCAGTTTTAGTTACCGCAATTTCTTCTATTACTATCATTACCTGTTTTAGCTG  
 GTGCAATTACTATGTTATTAACAGATAGAAACTTTAATACTTCTTTCTTTGACCAGCTGGAGGGGGAGACCCAATATTATTTC  
AACATTTATTTTGATTTTTTGGTCACCCTGAAGTTA

도면7

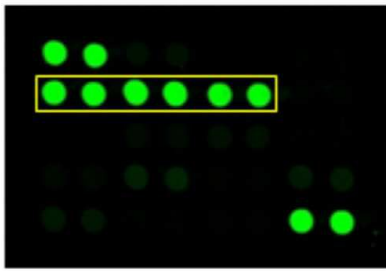
	1, 2, 39, 40 : Position marker 3, 4, 5, 6, 7, 8 : <i>Aequorea coerulescens</i> 9,10,11,12,13,14 : <i>Aurelia aurita</i> 15,16,17,18,19,20: <i>Bolinopsis</i> sp. 21,22,23,24,25,26: <i>Cyanea nozakii</i> 27,28,29,30,31,32: <i>Dactylometra quinquecirrha</i> 33,34,35,36,37,38: <i>Nemopilema nomurai</i>
--	---

도면8



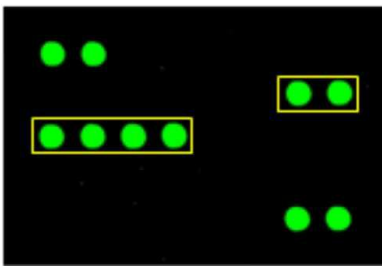
*Aequorea coerulescens*

도면9



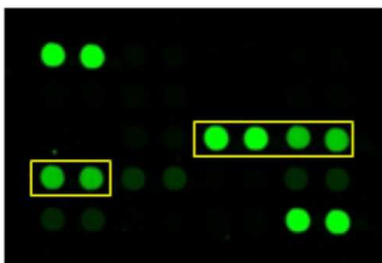
*Aurelia aurita*

도면10



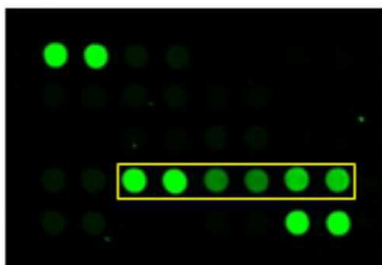
*Bolinopsis sp.*

도면11



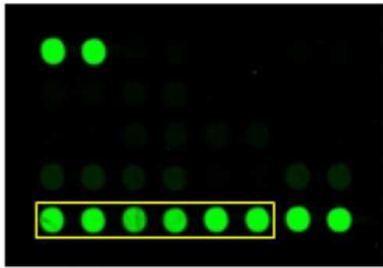
*Cyanea nozakii*

도면12



*Dactylometra quinquecirrha*

도면13



*Nemopilema nomurai*

서열 목록

- <110> Korea Ocean Research & Development Institute
- <120> Identifying Method of jellyfish in Southern Sea of Korea,  
Polynucleotide Probe, DNA Chip and Kit for Identifying The Same
- <130> 0001
- <160> 20
- <170> Kopatent In 1.71
- <210> 1
- <211> 25
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> forward primer
- <400> 1
- ggtcaacaaa tcataaagat gttgg 25
- <210> 2
- <211> 26
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> reverse primer
- <400> 2
- taaacttcag ggtgacacaaa aatca 26
- <210> 3
- <211> 23
- <212> DNA
- <213> Aequorea coerulescens
- <220><221> gene



<222> Complement((1)..(23))  
 <223> 654-669  
 <400> 3  
 ctggaggagg tgatcctggt tta 23  
 <210> 4  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Aequorea coerulescens  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))  
 <223> 588-603  
 <400>  
 > 4  
 tcctagcagg agctataact atg 23  
 <210> 5  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Aequorea coerulescens  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))  
 <223> 500-515  
 <400> 5  
 gagctccagg attaacaatg gat 23  
 <210> 6  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Aurelia aurita  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))  
 <223> 654-669  
 <400> 6  
 ctggaggagg agatccaatt tta 23  
 <210> 7  
 <211> 23

<212> DNA  
 <213> Aurelia aurita  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))  
 <223> 633-648  
 <400> 7  
 atacatcctt cttgaccct gct 23  
 <210> 8  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Aurelia aurita  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))  
 <223> 589-604  
 <400> 8  
 cttggctggg gctattaca tgt 23  
 <210> 9  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213>  
 Bolinopsis sp.  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))  
 <223> 669-684  
 <400> 9  
 cagtcttggt ccagcacatt ttc 23  
 <210> 10  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Bolinopsis sp.  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))  
 <223> 628-643  
 <400> 10  
 cttcggcacc agcttcttct cag 23

<210> 11  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Bolinopsis sp.  
 <220><221> gene  
 <222>  
 > Complement((1)..(23))  
 <223> 600-615  
 <400> 11  
 cagtcactat gatgctgatg gac 23  
 <210> 12  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Cyanea nozakii  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))  
 <223> 663-678  
 <400> 12  
 gagaccctat tttattccaa cac 23  
 <210> 13  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Cyanea nozakii  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))  
 <223> 588-603  
 <400> 13  
 tgttggcagg agcaataact atg 23  
 <210> 14  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Cyanea nozakii  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))

<223> 500-515  
 <400> 14  
 gagctcctgg aatgactatg gat 23  
 <210> 15  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Dactylometra quinquecirrha  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))  
 <223> 658-673  
 <400> 15  
 gggaggagat cctgttttgt ttc 23  
  
 <210> 16  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Dactylometra quinquecirrha  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))  
 <223> 592-607  
 <400> 16  
 ggctggagcc attacaatgt tat 23  
 <210> 17  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Dactylometra quinquecirrha  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))  
 <223> 542-557  
 <400> 17  
 ggtctgtttt cataaccgca ata 23  
 <210> 18  
 <211>  
 23  
 <212> DNA

<213> Nemopilema nomurai  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))  
 <223> 661-676  
 <400> 18  
 gggagacca atattatttc aac 23  
 <210> 19  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Nemopilema nomurai  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))  
 <223> 575-590  
 <400> 19  
 ctatcattac ctgttttagc tgg 23  
 <210> 20  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Nemopilema nomurai  
  
 <220><221> gene  
 <222> Complement((1)..(23))  
 <223> 538-553  
 <400> 20  
 gtttgatcag ttttagttac cgc 23