

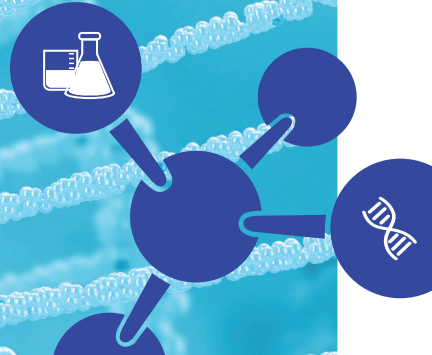
발 간 등 록 번 호

11-1471057-000111-14



식품 중 사용원료 진위 판별 지침서

| 유전자 분석법 활용



2014. 12.



식품의약품안전평가원

NATIONAL INSTITUTE OF FOOD AND DRUG SAFETY EVALUATION

발 간 사

최근 부당이익을 얻기 위하여 값싼 원료를 사용하거나 표시사항을 허위로 기재하는 등의 불량식품 제조·유통 사례가 증가하고 있는 실정입니다. 특히 고추양념을 혼합한 불량고춧가루, 다진 마늘에 양파 혼합, 홍삼분말에 마 분말 혼합 등의 사례가 언론 등을 통하여 보도되면서 식품에 대한 불안감이 있는 실정입니다.

이에 소비자를 기만하는 행위 근절을 위하여 불량식품 판별을 위한 검사지침 마련이 요구되어 식품의약품안전처에서는 불량식품 유통사례에 대한 정보를 바탕으로 시급히 마련되어야 할 판별 목록을 선정하여 불량식품 판별법을 마련한 것입니다.

본 지침서에 수록되어 있는 판별법은 불량식품 등의 식품원료를 확인하는 방법으로는 이화학적인 분석법도 있으나 더 정밀한 판단을 위하여 유전자 분석법을 마련하여 추가 보정하였습니다. 원료농산물 또는 단순 가공식품에는 일반 프라이머(Universal primer) 또는 종 특이 프라이머(Species-specific primer)를 사용하는 방법 모두 적용이 가능하나 가공식품의 경우에는 제조 시 가열, 압력 등에 의하여 식품 중 유전자의 손상이 발생하고 유전자 분석과정에서 추출되는 유전자의 크기가 작아지기 때문에 종 특이 프라이머를 사용하는 방법을 선택하였습니다.

동물성과 식물성 사용원료 총 164종에 대한 판별법이 수록되었으며 불량식품 판별 및 식품 중 이물 동정 등에 유용하게 활용되기를 기대합니다.

2014. 12.

식품의약품안전평가원장 **왕진호**

Chapter

I

지침서에 사용된 동물성, 식물성 원료 목록과 학명 6

시료 전처리 및 유전자 추출

- 1. 시료 전처리 14
- 2. 유전자 추출 15
- 3. 추출 유전자 확인 17

Chapter

II

종 특이 프라이머를 이용한 유전자 증폭(PCR)

II- I. 동물성 원료

- 1. 가축류 20
- 2. 가금류 34
- 3. 민물어류 44
- 4. 해양어류 53
- 5. 회유어류 86
- 6. 다랑어류 및 새치류 91
- 7. 심해성 어류 94
- 8. 갑각류 98
- 9. 패류 102
- 10. 두족류 106

II- II. 식물성 원료

- 1. 곡류 112
- 2. 서류 117
- 3. 콩류 120
- 4. 견과 종실류 124
- 5. 과실류 133
- 6. 채소류 145
- 7. 근채류 158
- 8. 버섯류 171
- 9. 기타 179

Chapter

III

일반(universal) 프라이머를 이용한 유전자 증폭(PCR)

Ⅲ- I . 동물성 원료

1. LC01490/HC02198 프라이머를 이용한 방법	188
2. VF2(I)/FISH R2 프라이머를 이용한 방법	190
3. VF2(II)/FISH R1 프라이머를 이용한 방법	192
4. L14724/H15915 프라이머를 이용한 방법	194

Ⅲ- II . 식물성 원료

1. psbA/trnH 프라이머를 이용한 방법	196
2. rpoB 프라이머를 이용한 방법	198
3. rbcL 프라이머를 이용한 방법	200
4. ITS1/4 프라이머를 이용한 방법	202

Chapter

IV

유전자 증폭산물의 확인

1. 전기영동에 따른 결과의 판정	206
--------------------	-----

Chapter

V

유전자 증폭산물의 결과 판정

1. 결과 판정	210
----------	-----

Chapter

VI

참고문헌

214

Chapter

VII

부록

226

지침서에 사용된 동물성, 식물성 원료 목록과 학명

동물성 시료

분류	원료명 (학명)	비고
가축류	소 (<i>Bos taurus</i>)	p20 ~p33
	돼지 (<i>Sus scrofa</i>)	
	염소 (<i>Capra hircus</i>)	
	사슴 (<i>Cervus elaphus</i> , <i>Cervus nippon</i>)	
	양 (<i>Ovis aries</i>)	
	말 (<i>Equus caballus</i>)	
	캥거루 (<i>Macropus fuliginosus</i> , <i>Macropus giganteus</i>)	
	토끼 (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	
	여우 (<i>Silurus asotus</i>)	
	고양이 (<i>Felis catus</i>)	
	개 (<i>Canis lupus familiaris</i>)	
	곰 (반달가슴곰, <i>Ursus thibetanus ussuricus</i>)	
	흑염소 (<i>Capra hircus</i>)	
	고라니 (<i>Hydropotes inermis</i>)	
노루 (<i>Capreolus capreolus</i>)		
가금류	닭 (<i>Gallus gallus</i>)	p34 ~p43
	오리 (<i>Anas platyrhynchos</i>)	
	칠면조 (<i>Meleagris gallopago</i>)	
	타조 (<i>Struthio camelus</i>)	
	거위 (<i>Anser anser</i>)	
	평 (<i>Phasianus colchicus</i>)	
	집비둘기 (<i>Columba livia</i>)	
	멧비둘기 (<i>Columba rupestris</i>)	
	메추리 (<i>Coturnix coturnix</i>)	
	참새 (<i>Passer montanus</i>)	
제비 (<i>Hirundo rustica</i>)		

분류	원료명(학명)	비고
민물어류	잉어 및 향어 (<i>Cyprinus carpio</i> , <i>Cyprinus carpio nudus</i>)	p44 ~p52
	붕어 (<i>Carassius auratus</i>)	
	미꾸라지 (<i>Misgurnus mizolepis</i>)	
	미꾸리 (<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>)	
	가물치 (<i>Channa argus</i>)	
	메기 (<i>Silurus asotus</i>)	
	쏘가리 (<i>Siniperca scherzeri</i>)	
	동자개 (<i>Pelteobagrus fulvidraco</i>)	
	산천어 (<i>Oncorhynchus masou masou</i>)	
해양어류	대구 (<i>Gadus macrocephalus</i>)	p53 ~p85
	청대구 (<i>Micromesistius poutassou</i>)	
	명태 (<i>Theragra chalcogramma</i>)	
	틸라피아 (<i>Oreochromis niloticus</i>)	
	꽁치 (<i>Cololabis saira</i>)	
	고등어 (<i>Scomber japonicus</i>)	
	다금바리 (<i>Niphon spinosus</i>)	
	자바리 (<i>Niphon spinosus</i>)	
	능성어 (<i>Epinephelus septemfasciatus</i>)	
	날치 (<i>Cheilopogon agoo</i>)	
	열빙어 (<i>Mallotus villosus</i>)	
	청어 (<i>Clupea pallasii</i>)	
	까나리 (<i>Ammodytes hexapterus</i>)	
	멸치 (<i>Engraulis japonicus</i>)	
	참조기 (<i>Larimichthys polyactis</i>)	
	넙치 (괭어, <i>Paralichthys olivaceus</i>)	
	조피볼락 (우럭, <i>Sebastes schlegelii</i>)	
	홍어 (<i>Okamejei kenajei</i>)	
가오리 (<i>Urolophus aurantiacus</i>)		
말쥐치 (<i>Thamnaconus modestus</i>)		
농어 (<i>Lateolabrax japonicus</i>)		
성게 (<i>Strongylocentrotus intermedius</i>)		

분류	원료명 (학명)	비고
해양어류	상괘이고래 (<i>Neophocaena phocaenoides</i>)	p53 ~p85
	밍크고래 (<i>Balaenoptera acutorostrata</i>)	
	긴부리참돌고래 (<i>Delphinus capensis</i>)	
	상어류 5종 [환도상어 (<i>Alopias pelagicus</i>), 청상아리상어 (<i>Isurus oxyrinchus</i>), 청새리상어 (<i>Prionace glauca</i>), 흑기흉상어 (<i>Carcharhinus melanopterus</i>), 귀상어 (<i>Sphyrna zygaena</i>)]	
	해삼 (<i>Apostichopus japonicus</i>)	
	긴가이석태 (<i>Pseudolithus elongatus</i>)	
	영상가이석태 (<i>Pseudolithus typus</i>)	
	전어 (<i>Konosirus punctatus</i>)	
	먹장어 (<i>Eptatretus burgeri</i>)	
	붕장어 (<i>Astroconger myriaster</i>)	
	뱀장어 (<i>Anguilla japonica</i>)	
	복어류 7종 [흑밀복 (<i>Lagocephalus gloven</i>), 민밀복 (<i>Lagocephalus inermis</i>), 까치복 (<i>Takifugu xanthopterus</i>), 은밀복 (<i>Lagocephalus wheeleri</i>), 참복 (<i>Takifugu chinensis</i>), 검복 (<i>Takifugu porphyreus</i>), 자주복 (<i>Takifugu rubripes</i>)]	
	강도다리 (<i>Platichthys stellatus</i>)	
검정가자미 (<i>Reinhardtius hippoglossoides</i>)		
도다리 (<i>Pleuronichthys cornutus</i>)		
회유어류	연어 (<i>Salmo salar</i>)	p86 ~p90
	송어 (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	
	송어 (<i>Mugil cephalus</i>)	
가송어 (<i>Chelon haematocheilus</i>)		
다랑어류 및 새치류	다랑어류 4종 [눈다랑어 (<i>Thunnus obesus</i>), 참다랑어 (<i>Thunnus thynnus</i>), 황다랑어 (<i>Thunnus albacares</i>), 가다랑어 (<i>Katsuwonus pelamis</i>)]	p91 ~p93
	새치류 3종 [돛새치 (<i>Istiophorus platypterus</i>), 청새치 (<i>Tetrapturus audax</i>), 황새치 (<i>Xiphias gladius</i>)]	
심해성 어류	기름갈치꼬치 (<i>Ruvettus pretiosus</i>)	p94 ~p97
	흑갈치꼬치 (<i>Lepidocybirium flavobrunneum</i>)	
	아귀류 2종 [아귀 (<i>Lophiomus setigerus</i>), 황아귀 (<i>Lophius litulon</i>)]	

분류	원료명(학명)	비고
갑각류	게(<i>Portunus trituberculatus</i>)	p98 ~p101
	새우(<i>Marsupenaeus japonicus</i> , <i>Penaeus monodo</i>)	
	바닷가재(<i>Homarus americanus</i>)	
패류	전복(<i>Haliotis discus</i> , <i>Haliotis madaka</i> , <i>Haliotis gigantea</i>)	p102 ~p105
	백합(<i>Meretrix petechialis</i>)	
	소라(<i>Turbo cornutus</i>)	
두족류	오징어(<i>Sepia esculenta</i>)	p106 ~p110
	한치(<i>Loligo bleekeri</i>)	
	주꾸미(<i>Octopus ocellatus</i>)	
	낙지(<i>Octopus minor</i>)	

식물성 시료

분류	원료명 (학명)	비고
곡류	쌀(<i>Oryza sativa</i>)	p112 ~p116
	밀(<i>Triticum aestivum</i>)	
	메밀(<i>Fagopyrum esculentum</i>)	
서류	고구마(<i>Ipomoea batatas</i>)	p117 ~p119
	타피오카(<i>Manihot esculenta</i>)	
콩류	검정콩(<i>Glycine max</i> MERR.)	p120 ~p123
	녹두(<i>Vigna radiata</i>)	
	팥(<i>Vigna angularis</i>)	
견과 종실류	땅콩(<i>Arachis hypogaea</i> L.)	p124 ~p132
	참깨(<i>Sesamum indicum</i> L.)	
	들깨(<i>Perilla frutescens</i> var. <i>japonica</i> (Hassk.) Hara)	
	올리브(<i>Olea europaea</i> L.)	
	아몬드(<i>Prunus dulcis</i> (Miel) Wedd.)	
	해바라기(<i>Helianthus annuus</i> L.)	
	밤(<i>Castanea crenata</i> Sieb)	
	잣(<i>Pinus koraiensis</i>)	
	호두(<i>Juglans regi</i>)	
	복숭아(<i>Prunus persica</i> Batch var. <i>vulgaris</i>)	
과실류	딸기(<i>Fragaria ananassa</i> Duch)	p133 ~p144
	앵두(<i>Prunus tomentosa</i> Thunb)	
	포도(<i>Vitis vinifera</i> L.)	
	대추(<i>Ziziphus jujuba</i>)	
	복분자류 (나무딸기류, <i>Rubus</i> spp.)	
	복분자(<i>Rubus coreanus</i>)	
	라즈베리(<i>Rubus idaeus</i>)	
	블랙라즈베리(<i>Rubus occidentalis</i>)	
	블루베리(<i>Vaccinium myrtillus</i>)	
	블랙초크베리 (아로니아, <i>Aronia melanocarpa</i>)	
아사이베리(<i>Euterpe oleracea</i>)		

분류	원료명(학명)	비고
채소류	배추 (<i>Brassica campestris</i> L.)	p145 ~p157
	파 및 쪽파 (<i>Allium fistulosum</i> L. & <i>Allium ascalonicum</i>)	
	토마토 (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	
	호박 (<i>Cucurbita moschata</i> Duch)	
	알로에 (<i>Aloe vera</i>)	
	미나리 (<i>Oenanthe javanica</i>)	
	부추 (<i>Allium tuberosum</i>)	
	오이 (<i>Cucumis sativus</i>)	
	고추냉이 (<i>Eutrema wasabi</i>)	
	겨자 (<i>Brassica juncea</i>)	
	참나물 (<i>Pimpinella brachycarpa</i>)	
	파드득나물 (<i>Cryptotaenia japonica</i>)	
	고려엉겅퀴(곤드레, <i>Cirsium setidens</i>)	
근채류	인삼 (<i>Panax schinseng</i>)	p158 ~p170
	도라지 (<i>Platycodon grandiflorum</i>)	
	더덕 (<i>Nopsis lanceolata</i>)	
	마 (<i>Dioscorea batatas</i>)	
	마늘 (<i>Allium sativum</i>)	
	양파 (<i>Allium cepa</i>)	
	무 (<i>Raphanus sativus</i> L.)	
	생강 (<i>Zingiber officinale</i> ROSC.)	
	당근 (<i>Daucus carota</i> L.)	
	한국참(갈근, <i>Pueraria lobata</i>)	
	천마 (<i>Gastrodia elata</i>)	
	하수오 (<i>Polygonum multiflorum</i>)	
	백수오 (<i>Cynanchum wilfordii</i>)	
이엽우피소 (<i>Cynanchum auriculatum</i>)		
버섯류	팽이버섯 (<i>Flammulina velutipes</i>)	p171 ~p178
	표고버섯 (<i>Lentinula edodes</i>)	
	양송이버섯 (<i>Agaricus bisporus</i>)	
	영지버섯 (<i>Ganoderma lucidum</i>)	
	새송이버섯 (<i>Pleurotus eryngii</i>)	
	느타리버섯 (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	
	목이버섯 (<i>Auricularia auricula-judae</i>)	
	송이버섯 (<i>Tricholoma matsutake</i>)	
능이버섯 (<i>Sarcodon aspratus</i>)		

분류	원료명 (학명)	비고
기타	녹차(<i>Camellia taliensis</i>)	p179 ~p185
	시금치(<i>Spinacia oleracea</i> L.)	
	클로렐라(<i>Chlorella</i> spp.)	
	태국취(<i>Pueraria mirifica</i>)	
	과라나(<i>Paullinia cupana</i>)	
	흰만들레(<i>Taraxacum coreanum</i>)	
	만들레(<i>Taraxacum platycarpum</i>)	
아파니조메논 플로스아쿠아(<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> , AFA)		

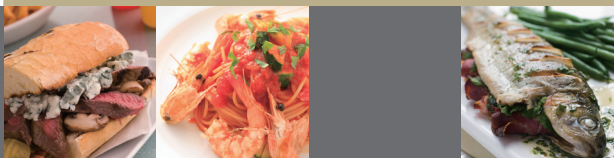
※ 아파니조메논 플로스아쿠아: *Aphanizomenon flos-aquae* (AFA), 남조류 (미세조류)의 일종, 독성물질 생성하여 식품에 사용할 수 없는 원료임

NATIONAL INSTITUTE OF FOOD AND DRUG SAFETY EVALUATION

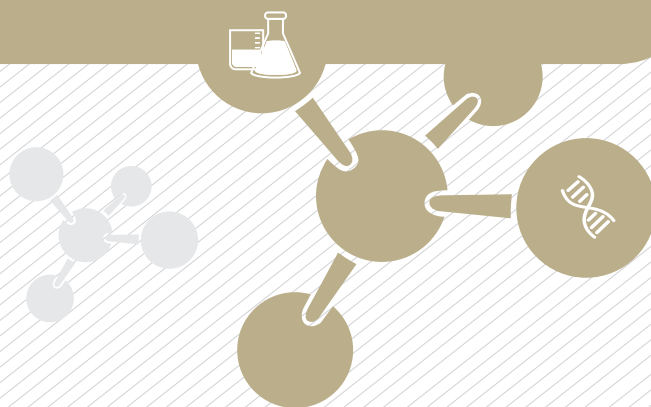
식품 중 사용원료 진위 판별 지침서
- 유전자 분석법 활용 -

Chapter

I



시료 전처리 및 유전자 추출



I

시료 전처리 및 유전자 추출

1. 시료 전처리

1-1 시료 이미지 촬영

필요시 의뢰된 시료는 디지털카메라 등의 영상처리장치를 이용하여 사진을 촬영한다. 육안으로 구분이 어려운 경우 실체현미경, 광학현미경 등을 통하여 사진을 촬영할 수 있다.

1-2 식품 유형별 전처리

- 가) **건어포류** : 식품 중 어육, 패육 등의 판별법을 적용하기 위한 북어채 등의 경우에는 소량의 혼입량도 확인하여야하기 때문에 가급적 많은 양을 이용하여 유전자추출에 사용한다. 또한 염 농도가 높은 제품은 일정시간동안 멸균증류수에 침지하여 탈염과정을 반복하면 효율적이다.
- 나) **떡류** : 식품 중 곡류 등의 판별법을 적용하기위한 떡국떡 등의 경우에는 유전자추출의 효율을 높이기 위하여 아밀라제(α -amylase) 등의 효소를 이용할 수 있다.
- 다) **분말류** : 원료 중 근채류 등의 판별법을 적용하기 위한 홍삼분말 등의 경우에는 모든 내용물을 시료로 선택하여야 한다.
- 라) **전류** : 식품 중 어류판별법을 적용하기 위한 대구전, 동태전 등의 경우 밀가루 부분을 제거하고 내부의 어육부분만을 시료로 선택할 수 있다.
- 마) **젓갈류** : 원료 중 어류, 패류 등의 판별법을 적용하는 경우 젓갈류에 사용된 고춧가루 등의 양념류는 증류수로 세척하여 내용물만을 시료로 선택할 수 있다.
- 바) **죽류** : 전복죽 중 패류 등의 판별법을 적용하는 경우 육안판별이 가능한 경우 전복 등의 내용물만을 시료로 선택할 수 있다. 다만, 육안판별이 어렵거나 미세하게 분쇄된 경우에는 전체를 시료로 선택하여야 한다.
- 사) **수분함량이 많은 검체** : 건조기 등을 이용하여 수분을 제거한다.
- 아) **당분 또는 염 농도가 높은 검체** : 멸균증류수로 희석 후 원심 분리하여 침전물을 검체로 사용한다.
- 자) **액상 제품** : 원심분리 후 침전물을 검체로 사용한다.
- 차) 기타 유전자추출 효율을 높이기 위하여 식품유형별 전처리 조건을 다양하게 할 수 있다.

2. 유전자 추출

2-1 유전자 추출 I (CTAB 완충용액 사용법)

- 가) 균질하게 분쇄된 검체 2 g을 폴리프로필렌 튜브(50 mL용)에 넣고, CTAB 완충액 15 mL를 가하여 교반기(vortex mixer)로 잘 섞은 후 추가로 CTAB 완충액 30 mL를 가하고 55°C에서 30분간 반응시킨다(10분마다 10초간 교반기를 사용하여 충분히 혼합한다).
- 나) 균질화한 용액 600 μ L를 1.5 mL 튜브에 넣고 P : C : I 용액 500 μ L를 가하여 잘 혼합한 후 원심분리(12,000 rpm, 15분, 실온) 한다.
- 다) 상층액을 새로운 1.5 mL 튜브에 옮긴 후 C : I 용액 500 μ L를 가하여 교반기를 이용하여 잘 혼합한 후 원심분리(12,000 rpm, 15분, 실온) 한다.
- 라) 상층액을 새로운 1.5 mL 튜브에 옮기고 동량의 이소프로판올을 가하여 혼합 후 원심분리 (12,000 rpm, 10분, 실온) 한다.
- 마) 상층액을 버리고, 침전물에 500 μ L의 70% 에탄올을 벽면으로 천천히 가한 후 원심분리 (12,000 rpm, 1분, 실온)하여 상층액을 제거한 후 건조시킨다.
- 바) TE 완충액(pH 8.0) 50 μ L를 가하여 잘 녹인다. 단, 추출된 DNA를 정제하기 위하여 가)의 용액에 RNase A (10 mg/mL) 1 μ L를 가하여 37°C에서 30분간 정치한 경우에는 나) ~ 바) 항을 반복할 수 있다.

2-2 유전자 추출 II (Lysis 완충용액 사용법)

- 가) 시료를 액체질소나 드라이아이스를 이용하여 잘 갈아준다(파쇄 입자가 적을수록 DNA 추출 수율이 좋다).
- 나) DNA Extraction buffer를 첨가(1 g : 1 mL)하여 잘 섞어준다.
- 다) 65°C 항온수조에서 60분간 처리한다(5분 간격으로 흔들어준다).
- 라) 튜브를 항온수조에서 꺼내어 첨가한 DNA Extraction buffer와 동량의 P : C : I 용액을 넣고 잘 섞어준 후 원심분리(13,000 rpm, 20분, 4°C)한다.

- 마) 상층액을 새 튜브에 옮긴 후 동량의 C : I 용액을 넣고 원심분리(13,000 rpm, 15분, 4°C)한다.
- 바) 상층액을 새 튜브에 옮겨준 후 동량의 이소프로판올을 첨가한 후 잘 섞어 원심분리(13,000 rpm, 15분, 4°C) 한다.
- 사) 상층액을 버리고 1 mL 70% 에탄올을 넣고 10~15초 동안 잘 섞고 원심분리(13,000 rpm, 10분) 한다.
- 아) 상층액은 버리고 침전물(pellet)을 상온에서 하룻밤 방치하거나 건조기기를 이용하여 완전히 건조시킨다(Pellet에 알코올이 완전히 제거될 때까지 건조시킨다).
- 자) 건조가 끝나면 100 μ l의 TE buffer를 첨가 후 pellet을 완전히 녹인다.
- 차) RNase A (10 mg/mL) 1 μ l를 첨가하여 잘 섞어준 후 37°C 배양기에서 30분 반응시킨다(필요시).

2.3 상업용 추출 키트 사용

실리카 겔 막법(Silica gel membrane method), 마그네틱 비드법(Magnetic bead method) 등을 이용한 시중에 유통되는 상용화된 키트를 사용할 수 있다.

2.4 Whole Genome Amplification (WGA) kit 사용

- 가) Fragmentation 단계
 - DNA(1ng/ μ l) 10 μ l에 10 X Fragmentation Buffer 1 μ l를 넣고 정확히 4분 동안 95°C에서 반응시킨 후 얼음에 방치한다.
- 나) Library Preparation 단계
 - 1 X Library Preparation Buffer 2 μ l를 넣고 Library Stabilization Solution 1 μ l를 혼합 후 95°C에서 2분간 반응시킨 후 얼음에 방치한다.
 - Library Preparation Enzyme 1 μ l를 넣고 16°C에서 20분, 24°C에서 20분, 37°C에서 20분, 75°C에서 5분간 반응시킨 후 4°C에서 저장한다.
- 다) Amplification 단계
 - 상기 반응액 약 15 μ l에 10 X Amplification Master Mix 7.5 μ l, 물 47.5 μ l, WGA DNA Polymerase 5 μ l를 넣고 95°C에서 3분간 반응시킨 후 94°C에서 15초, 65°C에서 5분간의 반응을 14회 연속 반응시킨 후 PCR Purification 키트를 사용하여 유전자를 정제한다.

[용액 조성]

- CTAB 완충액 : 0.5 M EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetic acid, pH 8.0) 8 mL, 1 M Tris-HCl (pH 8.0) 20 mL, 5 M NaCl 56 mL를 넣고 증류수로 약 150 mL가 되도록 한 후, CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) 4 g을 가하여 완전히 용해시킨다. 그리고 증류수를 넣어 전체 양을 200 mL로 조정 후 멸균한다.
- DNA Extraction buffer : 100 mM Tris (pH 8.0), 500 mM NaCl, 50 mM EDTA, 1.2% SDS (w/v), β -mercaptoethanol 0.2% (w/v) (단, β -mercaptoethanol은 사용하기 전에 첨가).
- TE buffer : 10 mM Tris (pH 8.0), 1 mM EDTA
- P : C : I 용액 : Phenol : Chloroform : Isoamylalcohol = 25 : 24 : 1
- C : I 용액 : Chloroform : Isoamylalcohol = 24 : 1

3. 추출 유전자 확인

3.1 DNA의 농도 및 순도 확인

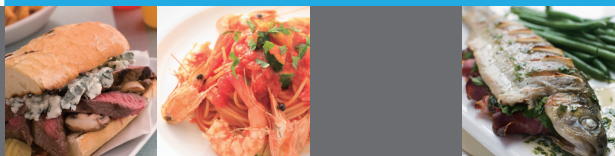
DNA 원액의 농도는 TE 완충액 (pH 8.0) 또는 멸균증류수로 적절히 희석한 후 분광광도계를 사용하여 260 nm에서 흡광도 (Absorbance, A)를 측정하고, 그 값이 1일 때 DNA 농도가 50 ng/ μ L인 것으로 하여 계산한다. 한편, 추출된 DNA의 순도를 확인하기 위하여 230, 260, 280 nm에서 흡광도를 각각 측정한다. A260/A280과 A260/A230이 1.7~2.0일 경우 PCR에 적합한 DNA로 판단한다. 다만, 가공식품의 경우 이러한 순도 적용이 어려운 경우가 있으므로 반드시 적용되는 것은 아니다. 만일 A260/A280이 낮아 단백질 유래 불순물의 혼입이 우려되는 경우 단백질 분해효소 (protease)로 처리한 후 DNA를 회수하며, A260/A230이 낮을 경우 전분 분해효소 (amylase)로 처리한 후 DNA를 회수하여 PCR에 사용할 수 있다.

DNA 원액에 대한 DNA 농도로부터 PCR에 필요한 DNA 농도가 되도록 TE 완충액 (pH 8.0) 또는 멸균증류수로 희석하여 PCR용 DNA로 하고, 20 μ L씩 0.5 mL 튜브에 분주하여 -20°C 이하에서 냉동 보존한다. 소분 보관 중인 PCR용 DNA는 사용 전 실온에서 서서히 녹여 사용한다.

3.2 추출 DNA의 농축

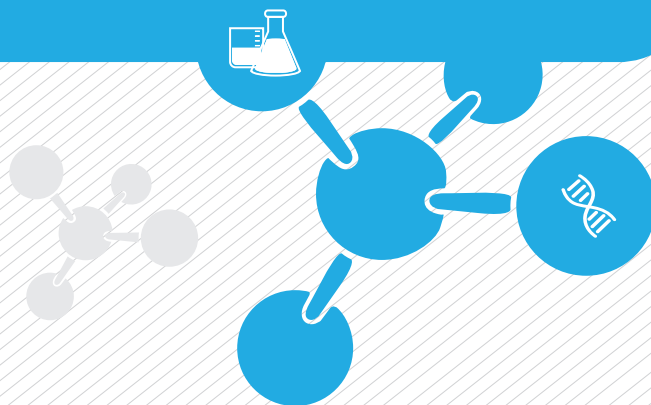
DNA 원액의 농도가 PCR에 필요한 농도보다 낮을 경우 재 추출하고, 그래도 PCR에 필요한 농도보다 낮을 경우 원액을 PCR용 DNA로 사용하거나 아래와 같은 농축과정을 실시하여 사용할 수 있다.

추출 DNA 원액의 농축은 시중에 판매되고 있는 DNA 농축키트를 사용하거나, 다음과 같은 방법에 의한다. 3 M 초산나트륨 (pH 5.2)을 DNA 용액량의 1/10배 (10 M 초산암모늄을 사용할 경우에는 1/5배를 첨가)를 첨가하고 차게 한 에탄올을 2배량 가한 후 12,000 rpm에서 15분간 원심분리 한다(이소프로판올을 사용할 경우에는 1배량을 첨가한 후 상온에서 원심분리 한다). 원심분리 후 상층액은 버리고 염(salt)을 제거하기 위하여 침전물을 70% 에탄올로 세척하고, TE 완충액(pH 8.0) 또는 멸균증류수 적당량으로 녹인 후 사용한다(최초의 DNA 원액이 소량일 경우에는 멸균증류수를 사용하여 시작하는 양을 300~400 μ 로 한 후 농축할 수 있다).



종 특이 프라이머를 이용한 유전자 증폭(PCR)

II - I . 동물성 원료



III

종 특이 프라이머를 이용한 유전자 증폭(PCR)

II - I. 동물성 원료

1 가축류 (소, 돼지, 양, 염소, 사슴, 말, 캥거루, 토끼, 여우, 고양이, 개, 곰, 흑염소, 고라니, 노루)

1.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

소 등 종 특이 프라이머는 아래 표 1에 명시된 것과 같다.

표 1. 소 등 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
소	SFI14-Cow-F	AAC CGT CCT AAT TCT TGC C	190	ND2 ¹
	SFI14-Cow-R	TGT TAG TGT GGT AGA ATA CGT G		
돼지	SFI14-Pig-F	CCT AAA TTC CAA TGT ATT TTT AAG GAG	173	16S rRNA ²
	SFI14-Pig-R	AGT TTT TGG GAT TAT GTT GGT GAA T		
양	SFI11-Lam-F	GTA CAA CCT TCA CTA GAG AGT AAG ATC	144	16S rRNA
	SFI11-Lam-R	CCA GTA TTA AAT CTA GGA GTT GGC TAA TG		
염소	SFI11-Goa-F	CAA CCT TCA CTA GAG AGT AAG ACT CT	167	16S rRNA
	SFI11-Goa-R	ATT GCT TCT ATT TAA TAA TAG AGC G		
사슴	SFI11-Dee-F	TCA AGC ACA CAT CCG TAG CTC A	191	12S rRNA ³
	SFI11-Dee-R	CTT TAA CAC ACT TTA CGC CGT ATG		
말	SFI11-Hor-F	TAC AAC CTT CAT TAG AGA GTA AGA ACA AG	142	16S rRNA
	SFI11-Hor-R	CAG TAT GAG ATT AGG AGT TAG TT		
캥거루	SFI12-Kanga-F	CAA CAA CCC ATC AGG AAT CAA CCC C	170	Cytb ⁴
	SFI12-Kanga-R	GTG GGT TGG CAG GAG AGA AGT TGT C		
토끼	SFI13-Rabbit-F	CAA CTT TAG TCT TAA TTC ACC TCC TC	156	Cytb
	SFI13-Rabbit-R	AAA TAA GGA GGA GAA GAA TGG CTA CA		
여우	SFI13-Fox-F	CTT CCC GCA CCA TCA AAT ATT T	204	Cytb
	SFI13-Fox-R	AGA TGC TCC GTT TGC ATG TAT GTA		

II. 종 특이 프라이머를 이용한 유전자 증폭(PCR)

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
고양이	SFI14-Cat-F	GGT CTT CTA GTA CTA GTT TTA ACA	405	<i>Cytb</i>
	SFI14-Cat-R	TTA GGA TTA GGA GGG TTG A		
개	SFI14-Dog-F	GGA ATG ATG AAA GAC ATC	164	<i>16S rRNA</i>
	SFI14-Dog-R	GAT GAG TTG ATC CTT TTA G		
곰	SFI14-Ursus-F	TCT TCT CTA TCC TAA TCC T	213	<i>Cytb</i>
	SFI14-Ursus-R	TGA GCA CCA GGA GGA TTG TG		
흑염소	SFI14-capra-F	CGC CAT GCT ACT AAT TCT TGT TCT	127	<i>Cytb</i>
	SFI14-capra-R	ATA CCA CTC AGG TTT AAT GTG AGG		
고라니	SFI14-hydropotes-F	AAT CAG TGA AAT TGA CCT TCCC	126	<i>16S rRNA</i>
	SFI14-hydropotes-R	GAG AAT ATT GTT GTC ACC TTA GTG G		
노루	SFI14-capreolus-F	CAC GGC ATT TGT AGG ATA CGT TT	232	<i>Cytb</i>
	SFI14-capreolus-R	TTC GTG GAG GAA AAG TAA ATG G		

1 *ND2 (NADH Dehydrogenase subunit 2)*, 2 *16S rRNA (16S ribosomal RNA)*, 3 *12S rRNA (12S ribosomal RNA)*, 4 *Cytb (Cytochrome b)*
 소, 돼지 프라이머 정보 및 PCR조건 개선(14')

1.2. PCR 반응액의 조성

PCR을 위한 반응액의 조성은 아래 표 2와 같다.

표 2. PCR 반응액의 조성

성분	Stock 용액 농도	최종 농도(튜브)	1회 분량
<i>Taq</i> DNA polymerase	5 U/ μ l	1.0 U	0.2 μ l
완충액	10 x	1 x	2.0 μ l
MgCl ₂	25 mM	2.0 mM	1.6 μ l
dNTPs	2.5 mM	200 μ M	1.6 μ l
프라이머	각 10 pmol	각 10 pmol	각 1.0 μ l
주형DNA	50 ng/ μ l	50 ng	1.0 μ l
멸균증류수			11.6 μ l
전체량			20.0 μ l

※ 반응액의 조성은 모든 항목에 공통으로 적용되며 경우에 따라 MgCl₂의 농도를 1.0-2.5 mM로 조정할 수 있다.

1.3. PCR 반응 조건

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 3 ~ 표 12와 같다.

표 3. PCR 반응 조건(소)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	64°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 4. PCR 반응 조건(돼지)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	63°C	20초	35	
신장(extension)	72°C	40초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 5. PCR 반응 조건(양, 염소, 사슴, 말)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	10분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	59°C	10초	40	
신장(extension)	72°C	40초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 6. PCR 반응 조건(캥거루)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 7. PCR 반응 조건(토끼)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	15분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	65°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 8. PCR 반응 조건(여우)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	15분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	65°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	45초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 9. PCR 반응 조건(고양이)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	58°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 10. PCR 반응 조건(개)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	50°C	20초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 11. PCR 반응 조건(곰)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	45°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 12. PCR 반응 조건(흑염소)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	20초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 13. PCR 반응 조건(고라니)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	63°C	5초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 14. PCR 반응 조건(노루)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

1.4. PCR 반응 결과

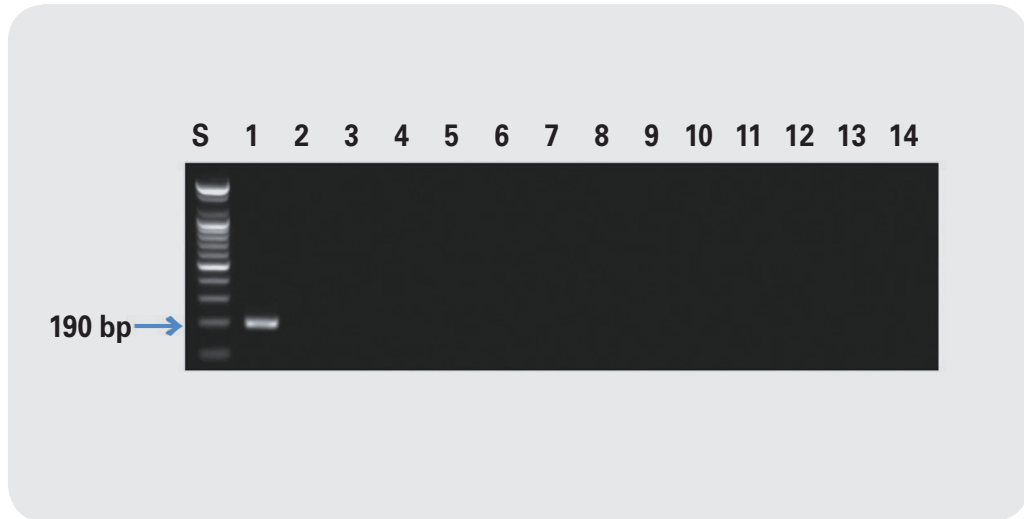


그림 1. 소 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 소, lane 2 ; 돼지, lane 3 ; 말 , lane 4 ; 닭 , lane 5 ; 거위, lane 6 ; 사슴, lane 7 ; 양, lane 8 ; 칠면조 , lane 9 ; 집비둘기 , lane 10 ; 오리, lane 11 ; 개, lane 12 ; 꿩, lane 13 ; 염소, lane 14 ; 고양이

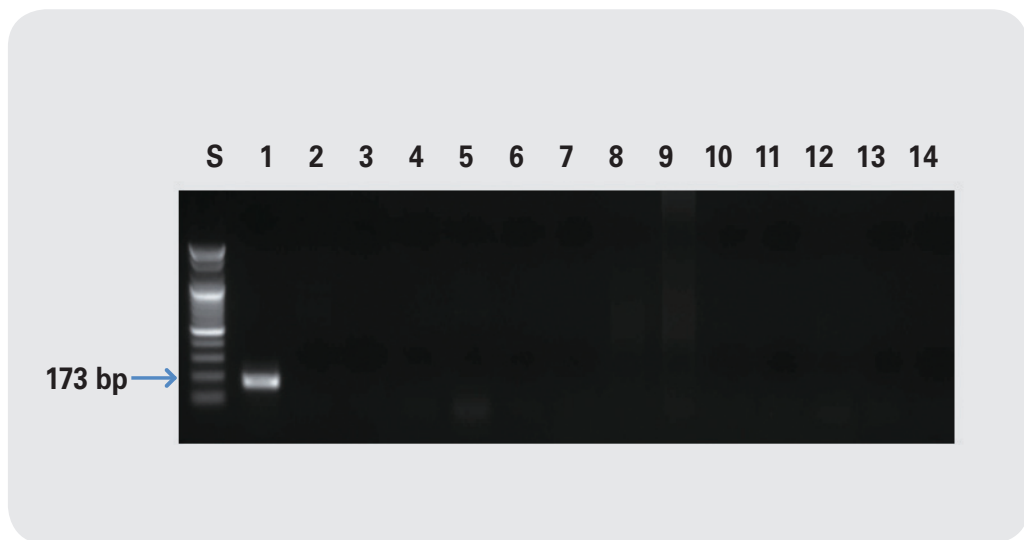


그림 2. 돼지 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 돼지, lane 2 ; 소, lane 3 ; 말 , lane 4 ; 닭 , lane 5 ; 거위, lane 6 ; 사슴, lane 7 ; 양 , lane 8 ; 칠면조 , lane 9 ; 집비둘기 , lane 10 ; 오리, lane 11 ; 개, lane 12 ; 꿩, lane 13 ; 염소, lane 14 ; 고양이

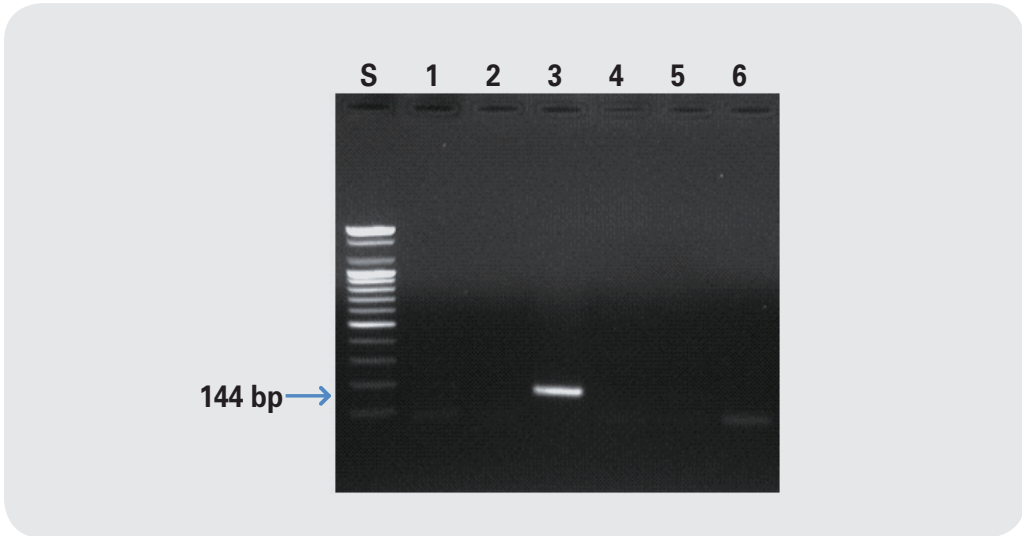


그림 3. 양 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 소, lane 2 ; 돼지, lane 3 ; 양, lane 4 ; 염소, lane 5 ; 사슴, lane 6 ; 말

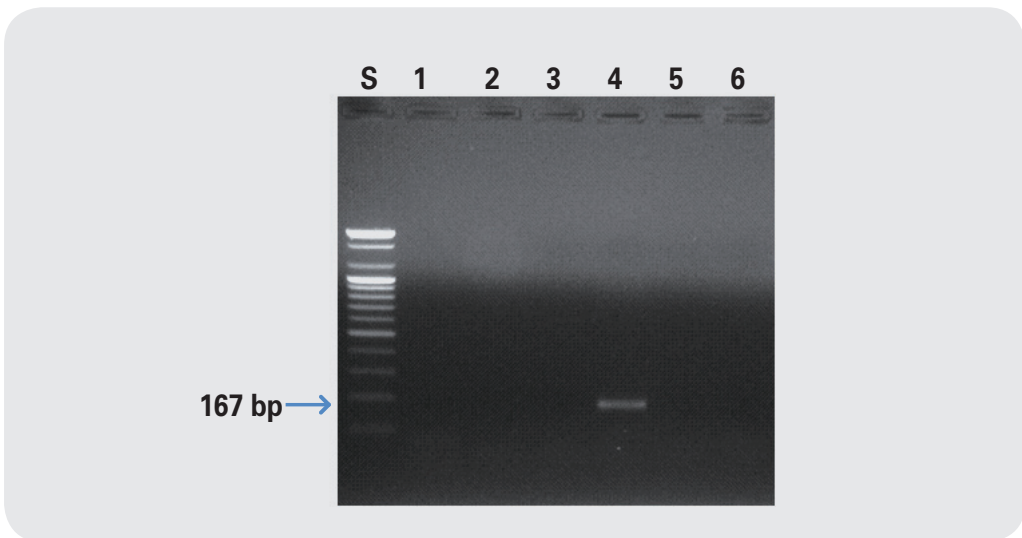


그림 4. 염소 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 소, lane 2 ; 돼지, lane 3 ; 양, lane 4 ; 염소, lane 5 ; 사슴, lane 6 ; 말

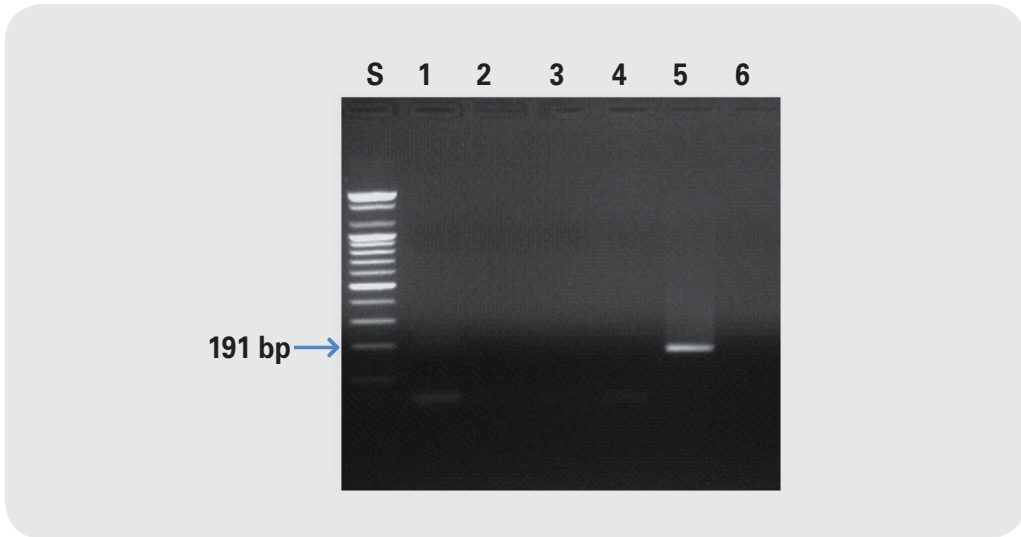


그림 5. 사슴 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 소, lane 2 ; 돼지, lane 3 ; 양, lane 4 ; 염소, lane 5 ; 사슴, lane 6 ; 말

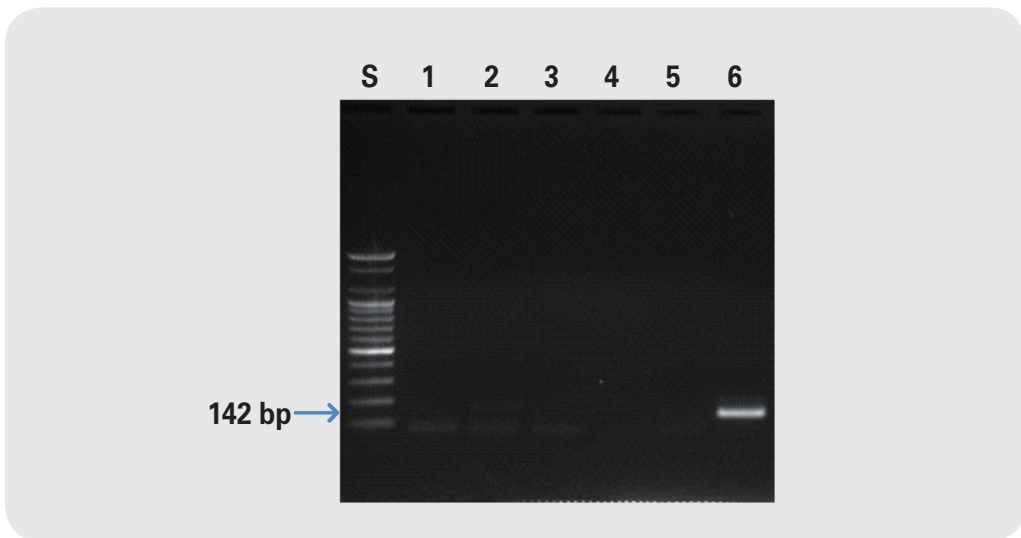


그림 6. 말 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 소, lane 2 ; 돼지, lane 3 ; 양, lane 4 ; 염소, lane 5 ; 사슴, lane 6 ; 말

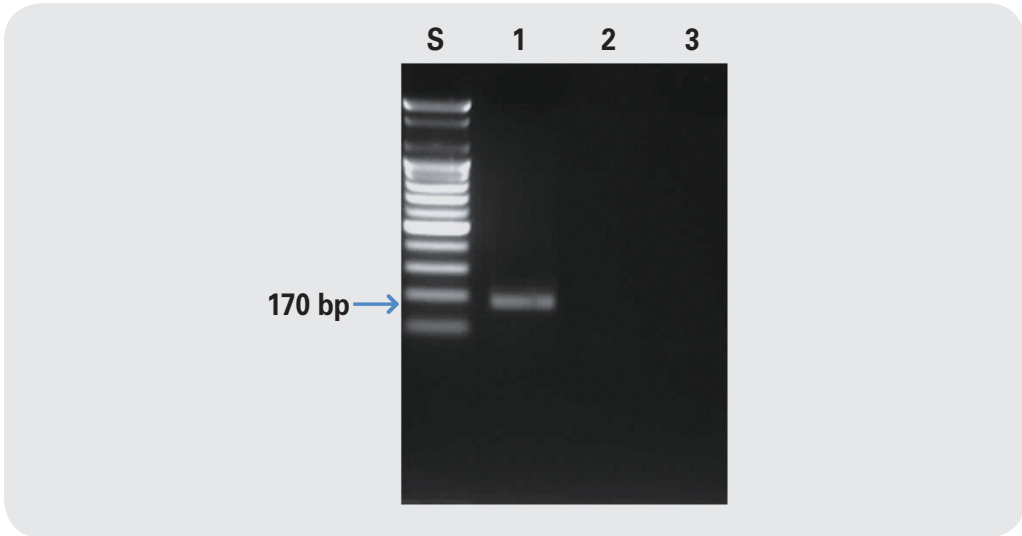


그림 7. 캥거루 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 캥거루, lane 2 ; 소, lane 3 ; 돼지

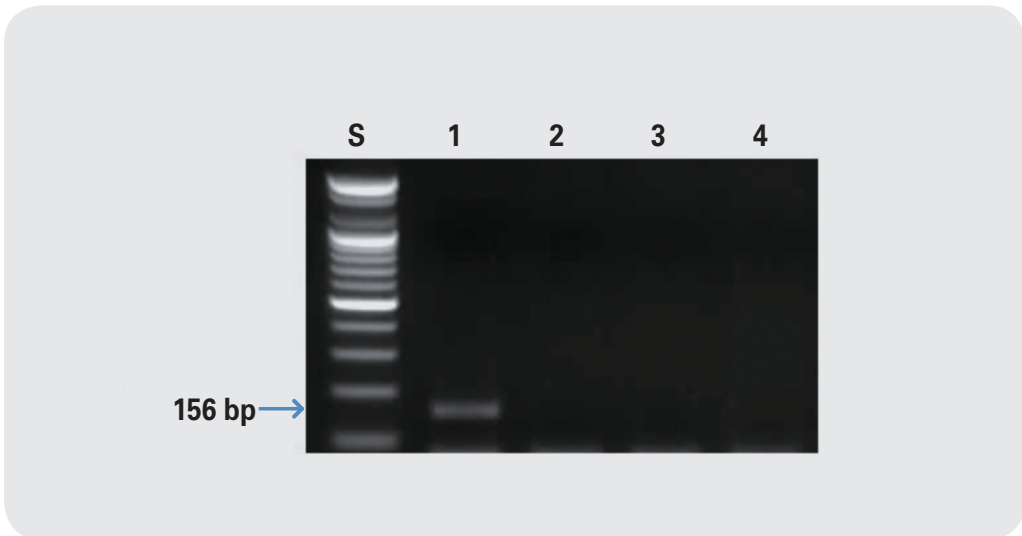


그림 8. 토끼 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 토끼, lane 2 ; 닭, lane 3 ; 오리, lane 4 ; 칠면조

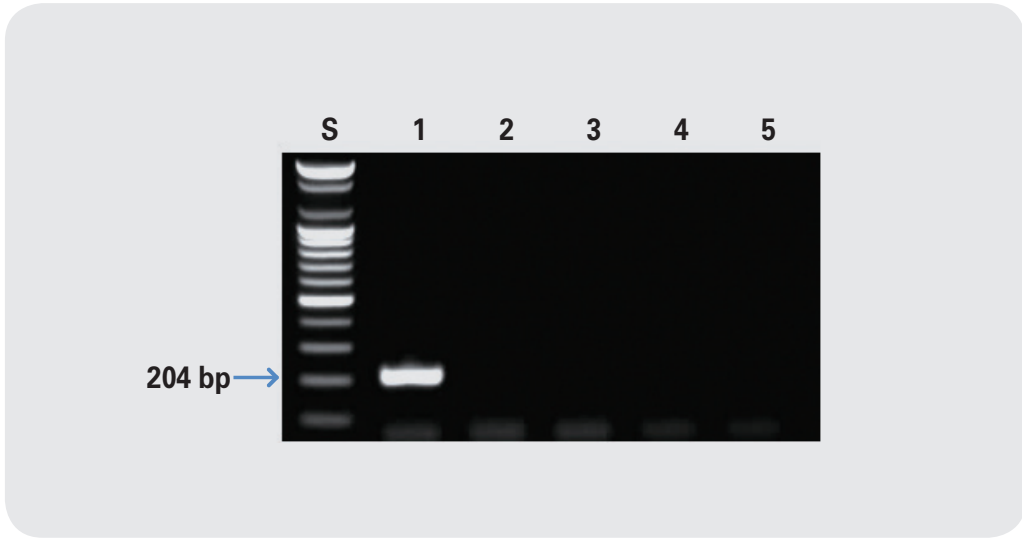


그림 9. 여우 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 여우, lane 2 ; 돼지, lane 3 ; 개, lane 4 ; 토끼, lane 5 ; 소

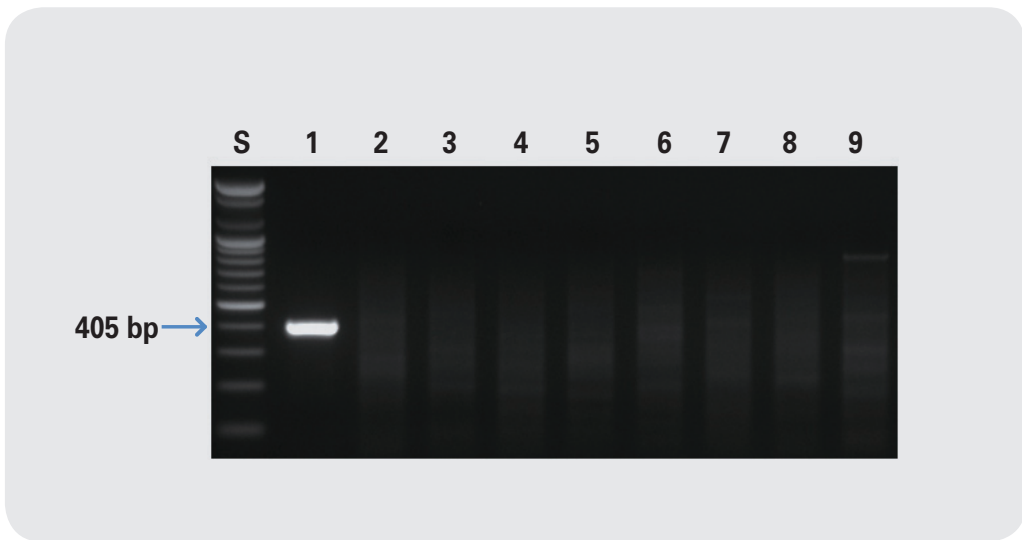


그림 10. 고양이 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 고양이, lane 2 ; 개, lane 3 ; 캥거루, lane 4 ; 염소, lane 5 ; 양, lane 6 ; 돼지, lane 7 ; 말, lane 8 ; 소, lane 9 ; 사슴



그림 11. 개 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 개, lane 2 ; 고양이, lane 3 ; 캥거루, lane 4 ; 염소, lane 5 ; 양, lane 6 ; 돼지, lane 7 ; 말, lane 8 ; 소, lane 9 ; 사슴

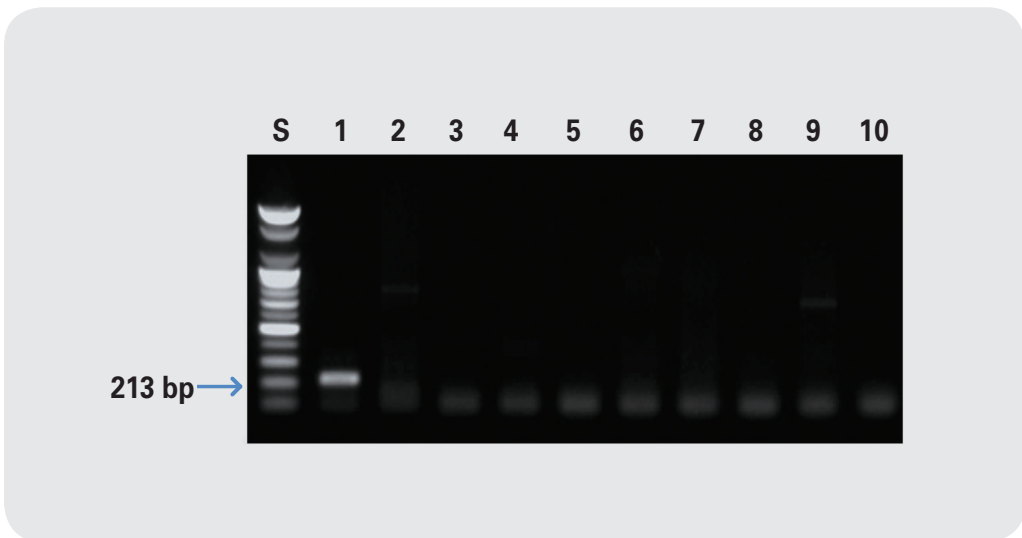


그림 12. 곰 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 곰, lane 2 ; 소, lane 3 ; 돼지, lane 4 ; 염소, lane 5 ; 양, lane 6 ; 말, lane 7 ; 캥거루, lane 8 ; 개, lane 9 ; 고양이, lane 10 ; 사슴

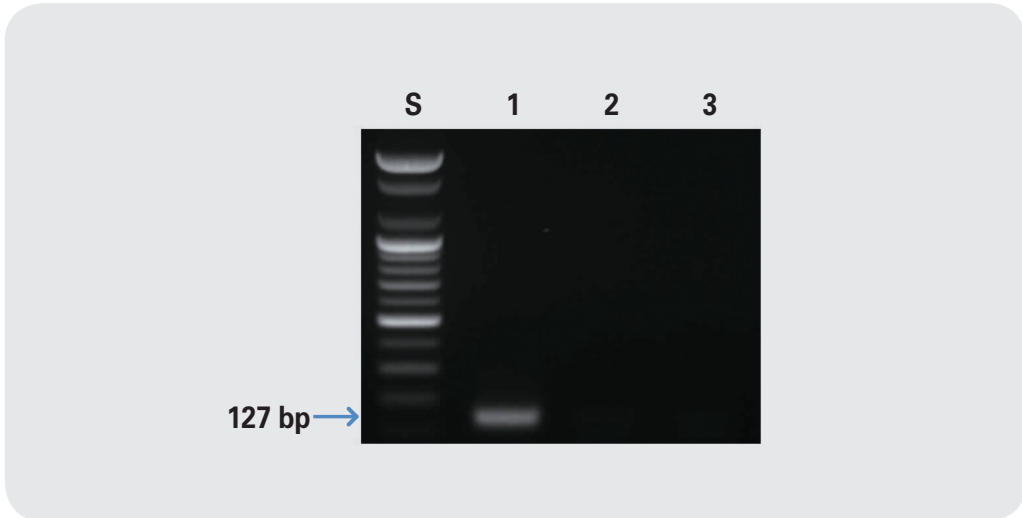


그림 13. 흑염소 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 흑염소, lane 2 ; 산양, lane 3 ; 양

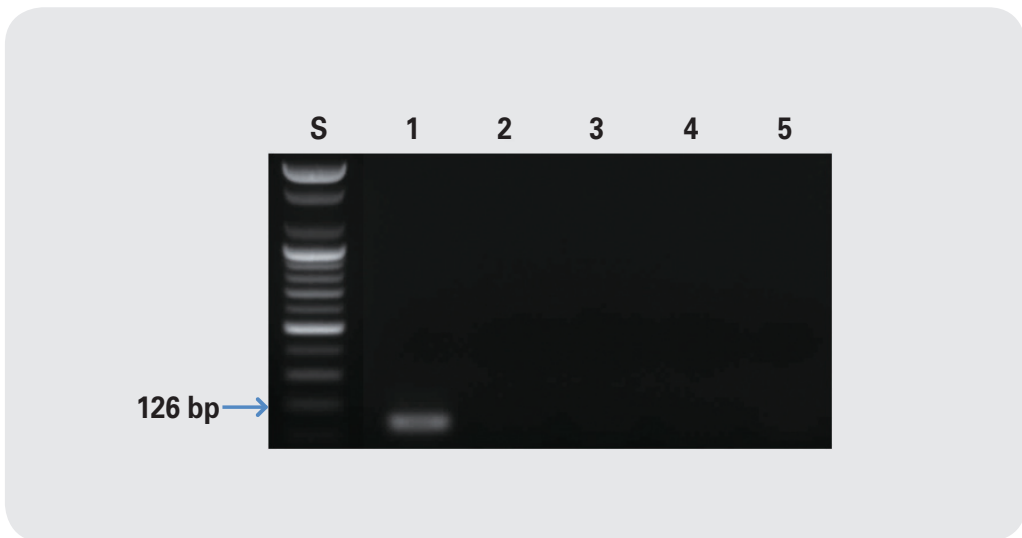


그림 14. 고라니 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 고라니, lane 2 ; 노루, lane 3 ; 사슴,
lane 4 ; 말, lane 5 ; 캥거루

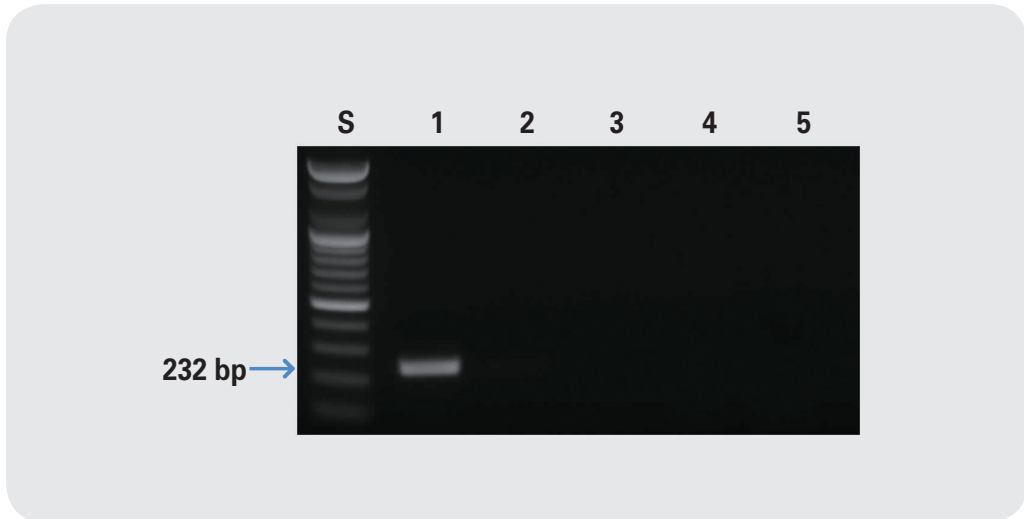


그림 15. 노루 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 노루, lane 2 ; 고라니, lane 3 ; 사슴, lane 4 ; 말, lane 5 ; 캥거루

2 가금류 (닭, 오리, 칠면조, 타조, 거위, 꿩, 집비둘기, 멧비둘기, 메추리, 참새, 제비)

2.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

닭 등 종 특이 프라이머는 아래 표 15에 명시된 것과 같다.

표 15. 닭 등 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
닭	SFI11-Chi-F	CCT AAA GAC ACC CAC CTT TGT	281	16S rRNA
	SFI11-Chi-R	CCG TAG GAG GAT AGG TTC CAG A		
오리	SFI11-Duc-F	CCC AGA ACC ACA ATG AGA TGA TTA AG	185	16S rRNA
	SFI11-Duc-R	GTA AGG GAT TCA TCT TGT TTT GGC		
칠면조	SFI11-Tur-F	TGC CCT AAC CCC TTA AGA AAA GAA	174	12S rRNA
	SFI11-Tur-R	GGC ACA AGA TTT ACC AAC CCT AAA G		
타조	SFI11-Ost-F	CCT CTA GCT CAT CCA CCC ACT TG	239	16S rRNA
	SFI11-Ost-R	CGG GAT GGC AAG CTT AAA TTC		
거위	SFI12-Goose-F	GGT CAA GGT ATA GCC TAT GGA GTG GAA GA	103	12S rRNA
	SFI12-Goose-R	CTG CTA AAT CCG CCT TCC AGA AGT G		
꿩	SFI13-Pheasant-F	CGT AAT CAC AGG CAT CAC CAT CAC T	152	Cytb
	SFI13-Pheasant-R	GGG TGA GTA TCA GTG CTA AGC CTA GG		
집비둘기	SFI13-Domestic-F	TTA TAG CCA CTG CAT TCG TAG GA	160	Cytb
	SFI13-Domestic-R	GTT AAT GTA GGG TTA TCT ACG GAA		
멧비둘기	SFI13-Rufous-F	ATA ACC CGC TCG GTA TTT C	113	Cytb
	SFI13-Rufous-R	AGC TAG GGT TAT TAG AGG AAG GAA		
메추리	SFI13-Quail-F	CAC TAA TAG CCA CTG CTT TCG TAG GA	163	Cytb
	SFI13-Quail-R	GTT AGG GTA GGA TTG TCA ACT GAA		
참새	SFI13-Passer-F	ATT CCT CAT CGT AGG CCT CAC ACT A	167	Cytb
	SFI13-Passer-R	GGG AGA CTA GTA GGG AGA GTA TTA ATA		
제비	SFI13-Barn-F	ACT GAC CCT AGT ACA CTT AAC CCT A	152	Cytb
	SFI13-Barn-R	GGG AAG CTA GAT CGA TGA GTA GTA TA		

2.2. PCR 반응액의 조성

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 16 ~ 표 23와 같다.

표 16. PCR 반응 조건(닭)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	10분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	5초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 17. PCR 반응 조건(오리, 칠면조, 타조)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	10분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	63°C	7초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 18. PCR 반응 조건(거위)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	58°C	15초	30	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 19. PCR 반응 조건(평)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	15분	1	
변성(denaturation)	94°C	20초		
결합(annealing)	68°C	5초	35	
신장(extension)	72°C	20초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 20. PCR 반응 조건(집비둘기, 참새)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	15분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 21. PCR 반응 조건(멧비둘기)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 22. PCR 반응 조건(메추리)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	15분	1	
변성(denaturation)	94°C	20초		
결합(annealing)	62°C	5초	35	
신장(extension)	72°C	20초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 23. PCR 반응 조건(제비)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	15분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

2.3. PCR 반응 결과

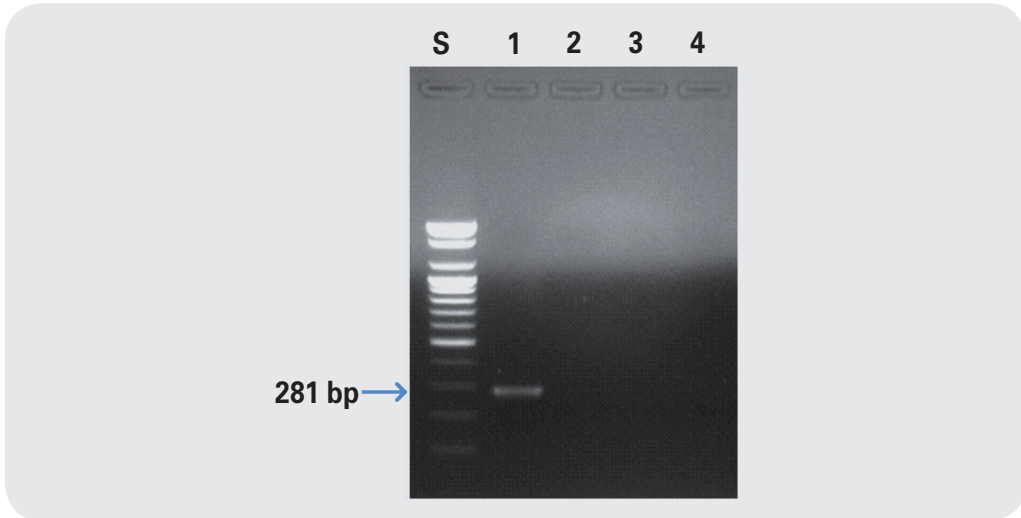


그림 16. 닭 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 닭, lane 2 ; 오리, lane 3 ; 칠면조, lane 4 ; 타조

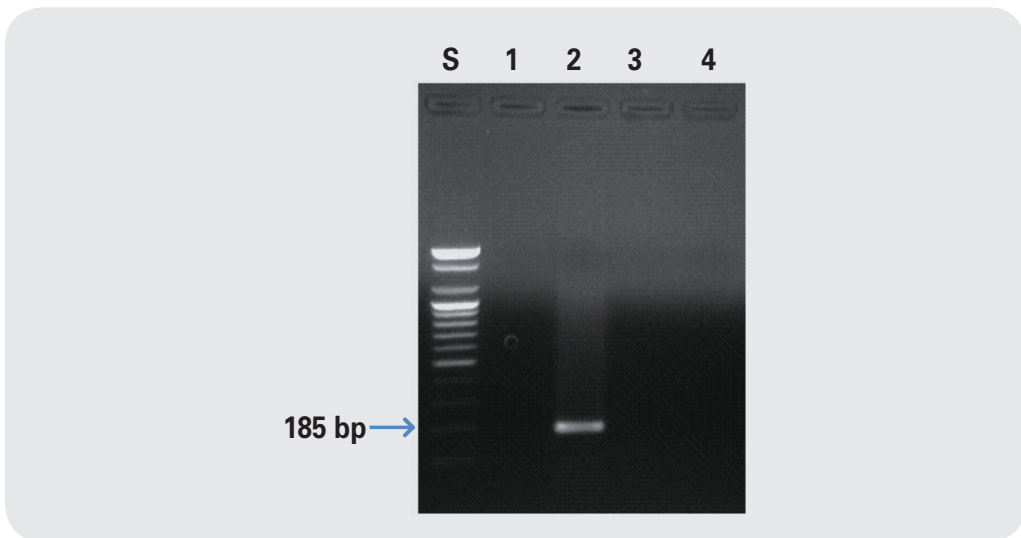


그림 17. 오리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 닭, lane 2 ; 오리, lane 3 ; 칠면조, lane 4 ; 타조

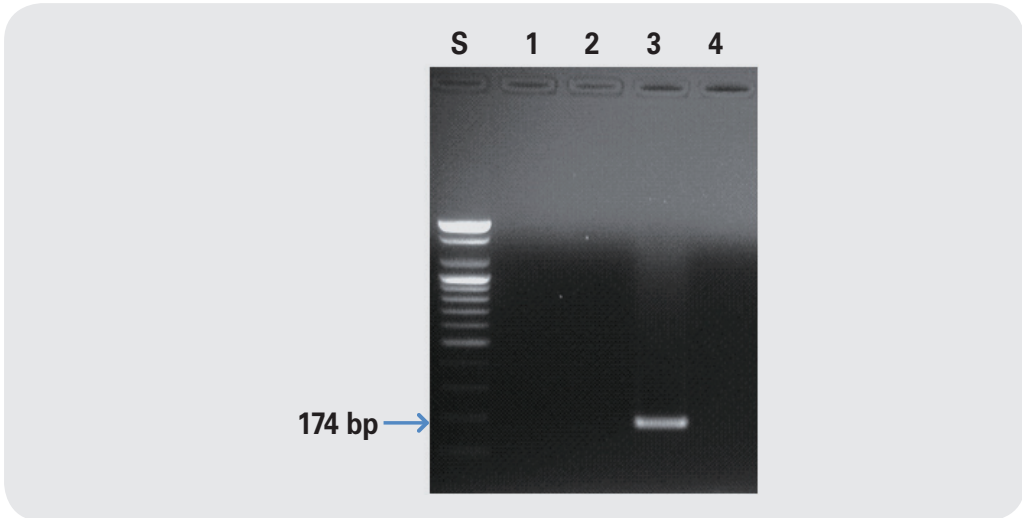


그림 18. 칠면조 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 닭, lane 2 ; 오리, lane 3 ; 칠면조, lane 4 ; 타조

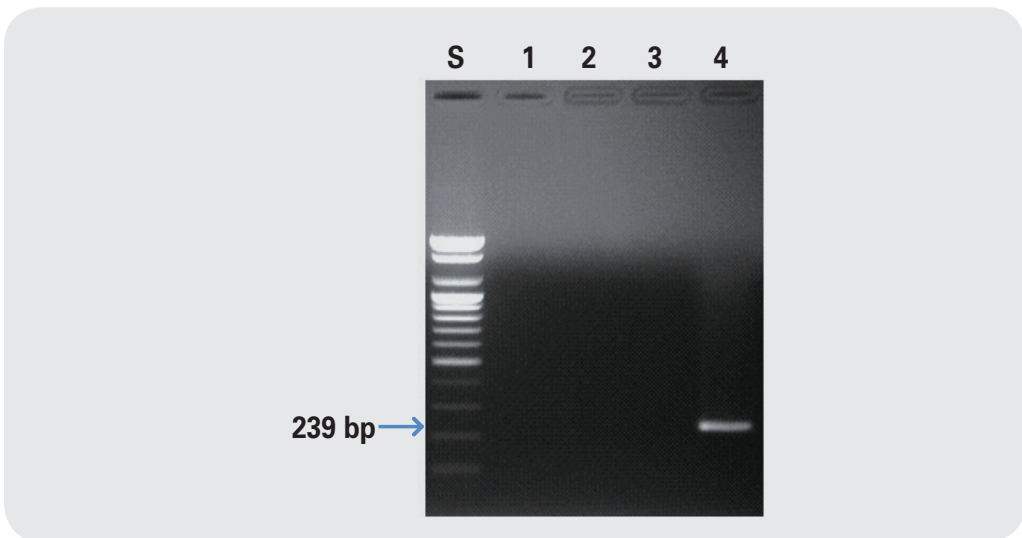


그림 19. 타조 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 닭, lane 2 ; 오리, lane 3 ; 칠면조, lane 4 ; 타조

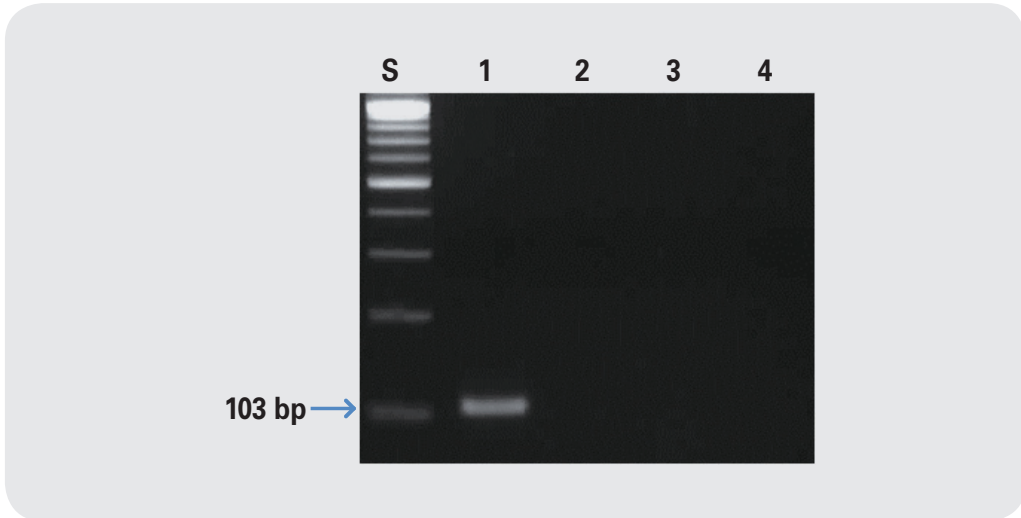


그림 20. 거위 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 거위, lane 2 ; 오리, lane 3 ; 닭, lane 4 ; 칠면조

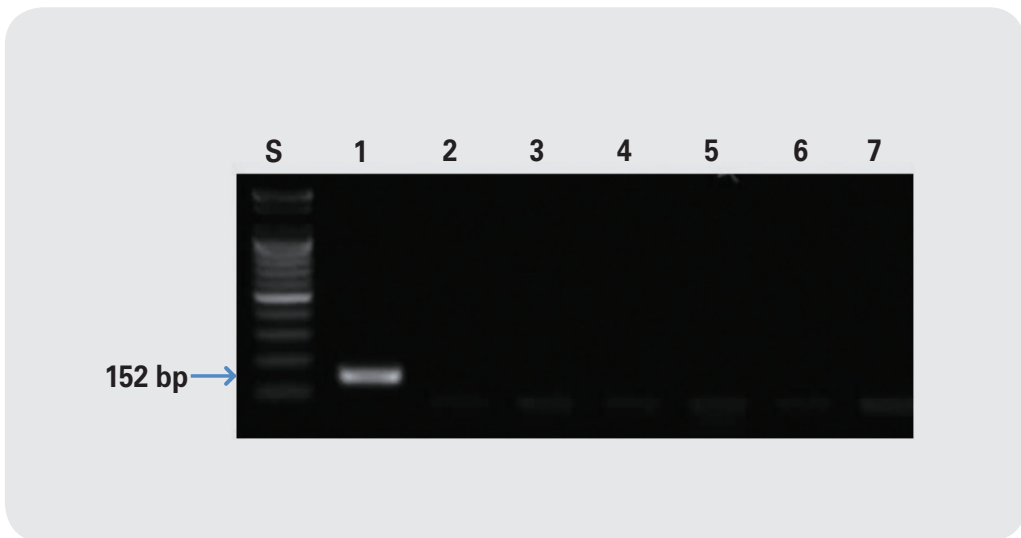


그림 21. 꿩 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 꿩, lane 2 ; 닭, lane 3 ; 오리, lane 4 ; 칠면조, lane 5 ; 메추리, lane 6 ; 집비둘기, lane 7 ; 멧비둘기

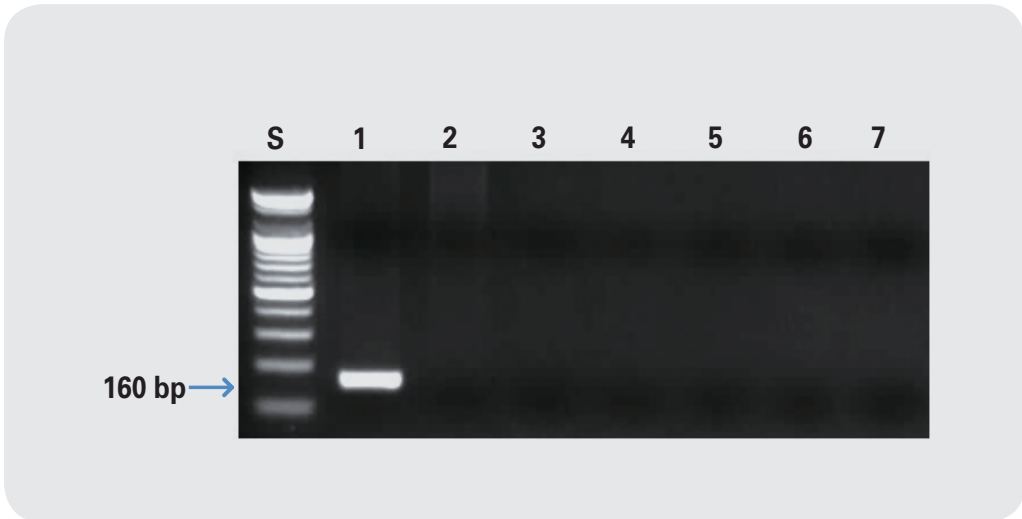


그림 22. 집비둘기 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 : 집비둘기, lane 2 : 멧비둘기, lane 3 : 닭, lane 4 : 오리, lane 5 : 칠면조, lane 6 : 메추리, lane 7 : 꿩

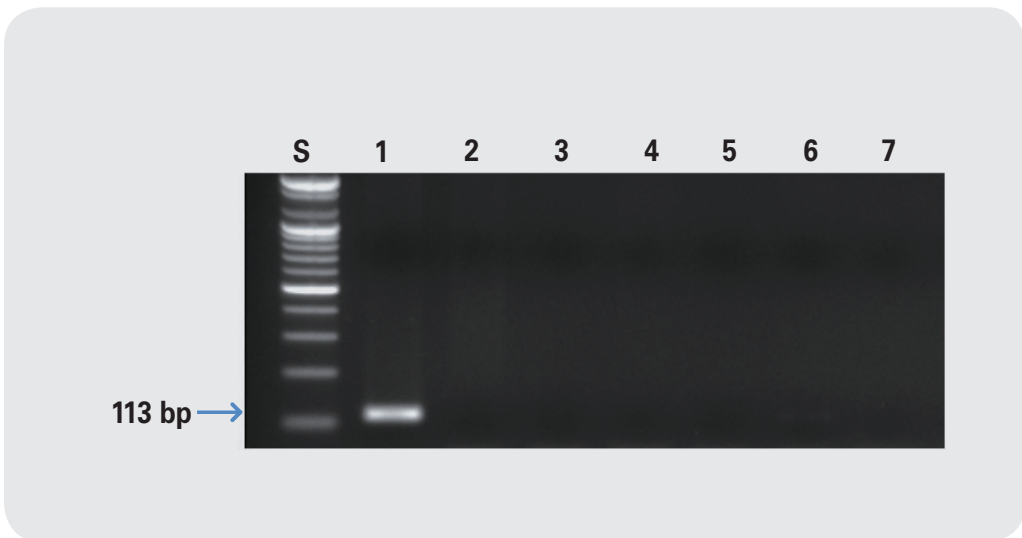


그림 23. 멧비둘기 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 : 멧비둘기, lane 2 : 집비둘기, lane 3 : 닭, lane 4 : 오리, lane 5 : 칠면조, lane 6 : 메추리, lane 7 : 꿩

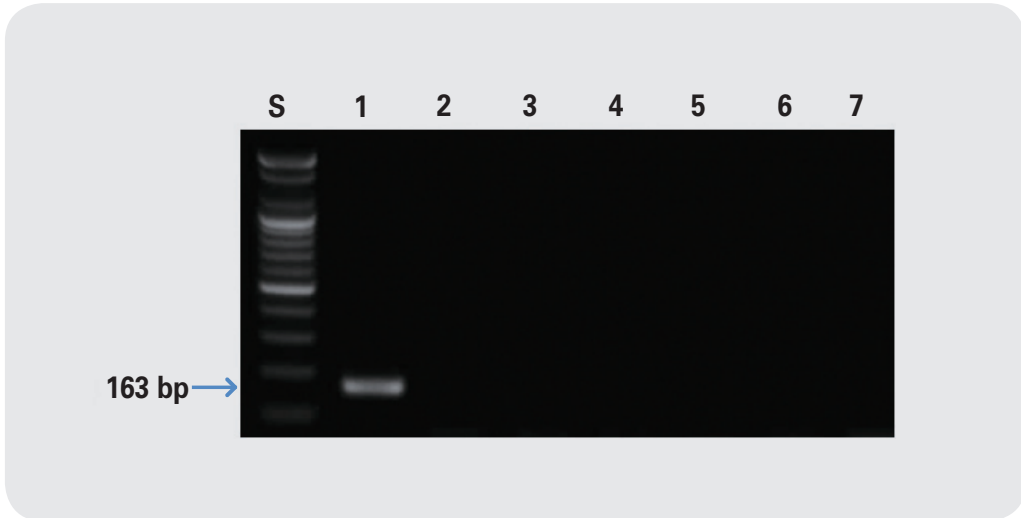


그림 24. 메추리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 메추리, lane 2 ; 닭, lane 3 ; 오리, lane 4 ; 칠면조, lane 5 ; 꿩, lane 6 ; 집비둘기, lane 7 ; 멧비둘기

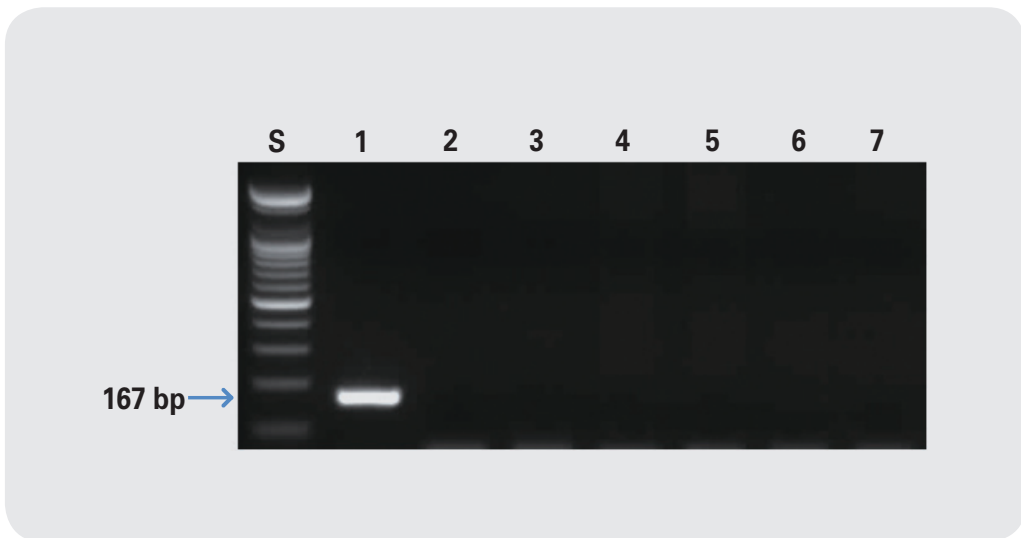


그림 25. 참새 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 참새, lane 2 ; 메추리, lane 3 ; 닭, lane 4 ; 집비둘기, lane 5 ; 멧비둘기, lane 6 ; 꿩, lane 7 ; 칠면조

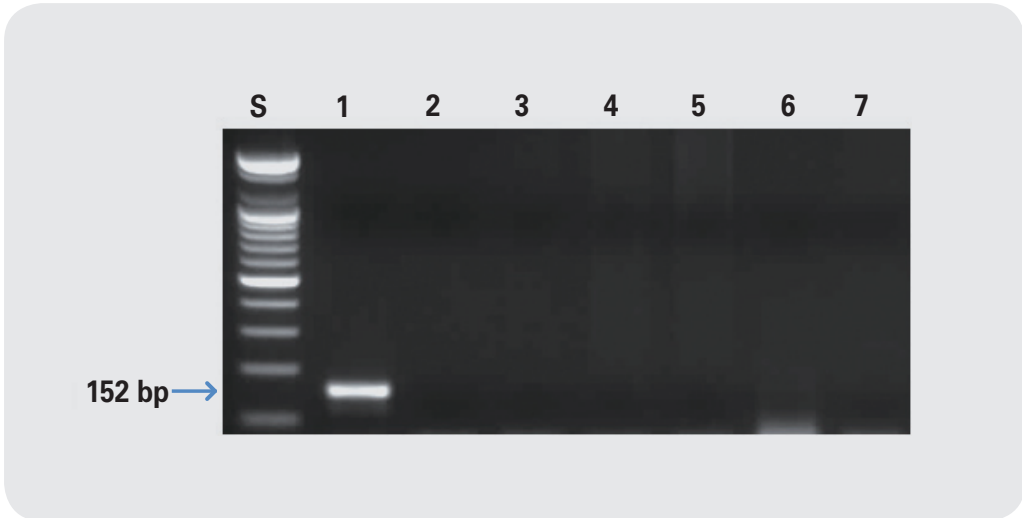


그림 26. 제비 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 제비, lane 2 ; 메추리, lane 3 ; 닭, lane 4 ; 집비둘기, lane 5 ; 멧비둘기, lane 6 ; 참새, lane 7 ; 오리

3 민물어류[잉어(향어), 붕어, 미꾸라지, 미꾸리, 가물치, 메기, 쏘가리, 동자개, 산천어]

3.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

잉어 등 종 특이 프라이머는 아래 표 24에 명시된 것과 같다.

표 24. 잉어 등 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
잉어 및 향어*	SFI12-Carpio-F	ATT TGT TAT TGC CGC CGC AAC CAT CAT	173	Cytb
	SFI12-Carpio-R	GTG CTA GTA GTG TAA GAG CTA GGA G		
붕어	SFI12-Crucian-F	CAA TGT AAT TGT TAC CGC CCA CGC CTT C	176	COI ⁵
	SFI12-Crucian-R	GTA GTA ACA GGA ATG ATG GGG GAA GA		
미꾸라지	SFI12-Mozo-F	TCG GAG TTG TTC TCC TAC TTT TAG T	155	Cytb
	SFI12-Mizo-R	TCC CCA GAT TCA TTG AAC CAG GGT A		
미꾸리	SFI12-Angui-F	TTG GGG TAG TCC TTC TCC TGC TTG T	155	Cytb
	SFI12-Angui-R	GCC TCA AAT TCA TTG AAC TAA AGT G		
가물치	SFI12-Snakeh-F	CCC TAT TAG GAC TCT GCC TAA TAG CAC	203	Cytb
	SFI12-Snakeh-R	GAG GCC TCG CCC AAT GTG TAG GTA GA		
메기	SFI13-Catfish-F	ATT CGC CAT TGT AGC CGC TAC ATT A	165	Cytb
	SFI13-Catfish-R	GCC GTA AGG GCT GTG AGT AAA ACA A		
쏘가리	SFI13-Mandarin-F	ATA CAT CGG AAA CAC CCT CGT CCA A	121	Cytb
	SFI13-Mandarin-R	CAC TGT TGC AGC TGC AAT GAT GAA C		
동자개	SFI14-oncorhynchus-F	TGG CTC TCT CTT ACT ACT TTG TCT	154	Cytb
	SFI14-oncorhynchus-R	GGC GTG AAG GTT GCG GAT AA		
산천어	SFI14-pseudobagrus-F	TGC AAT CCT CCA CCT TCT ATT T	140	Cytb
	SFI14-pseudobagrus-R	GAC AGA GAA GTA TAG CTG CGA		

* 잉어와 향어는 동시 검출용 프라이머임.

5 COI (Cytochrome Oxidase Subunit 1)

3.2. PCR 반응액의 조성

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 25 ~ 표 32와 같다.

표 25. PCR 반응 조건(잉어 및 향어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	15초	30	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 26. PCR 반응 조건(붕어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	50°C	15초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 27. PCR 반응 조건(미꾸라지 및 미꾸리)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	15초	30	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 28. PCR 반응 조건(가물치)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	55°C	15초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 29. PCR 반응 조건(메기)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	15분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	68°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	45초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 30. PCR 반응 조건(쏘가리)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	15분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	45초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 31. PCR 반응 조건(동자개)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	58°C	20초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 32. PCR 반응 조건(산천어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	15분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	58°C	20초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

3.3. PCR 반응 결과

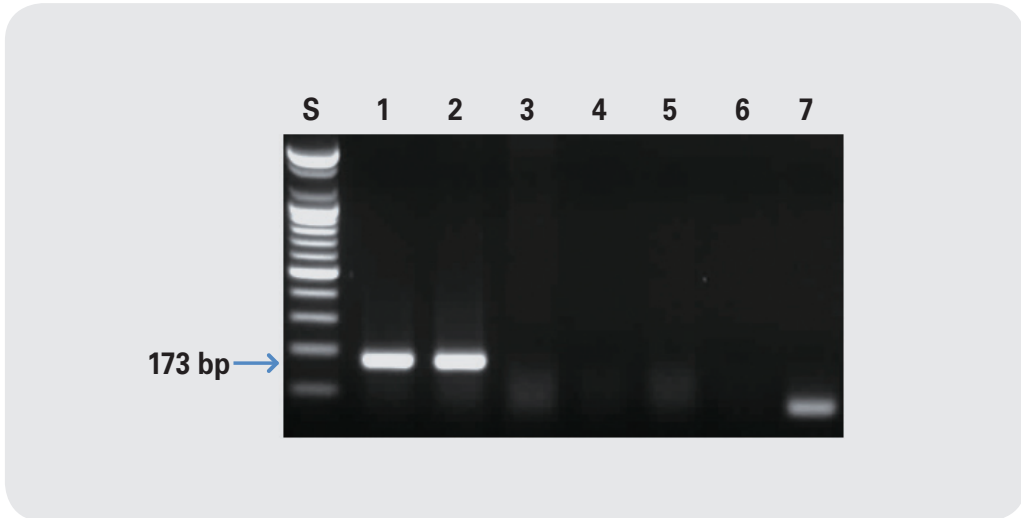


그림 27. 잉어 및 향어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 잉어, lane 2 ; 향어, lane 3 ; 붕어, lane 4 ; 가물치, lane 5 ; 메기, lane 6 ; 송어, lane 7 ; 쏘가리

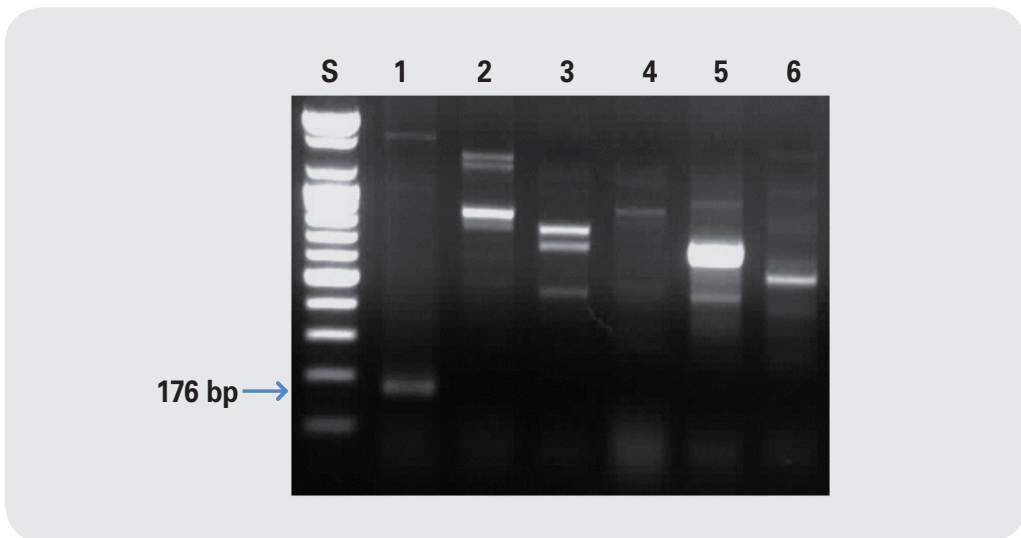


그림 28. 붕어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 붕어, lane 2 ; 잉어, lane 3 ; 가물치, lane 4 ; 향어, lane 5 ; 연어, lane 6 ; 메기

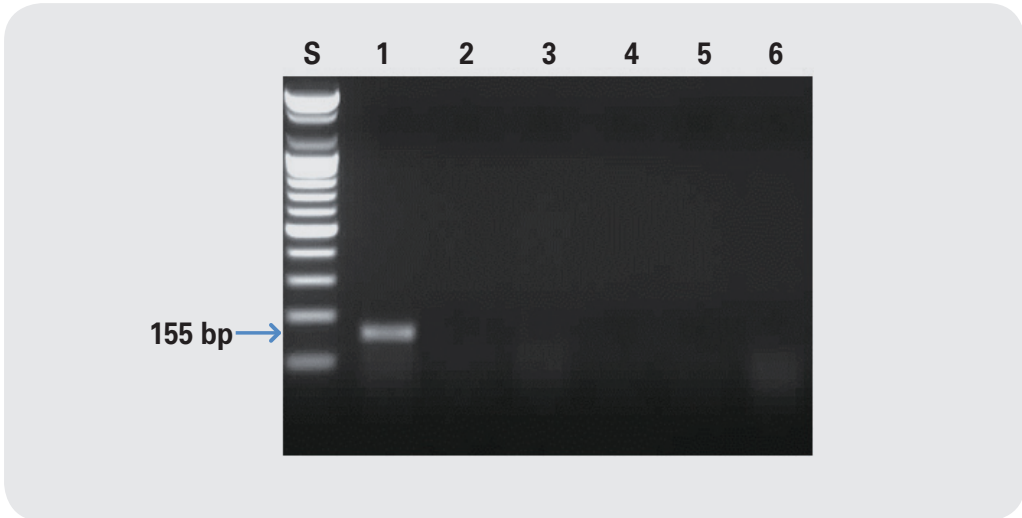


그림 29. 미꾸라지 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 미꾸라지, lane 2 ; 미꾸리, lane 3 ; 콩치, lane 4 ; 고등어, lane 5 ; 뱀장어, lane 6 ; 갈치

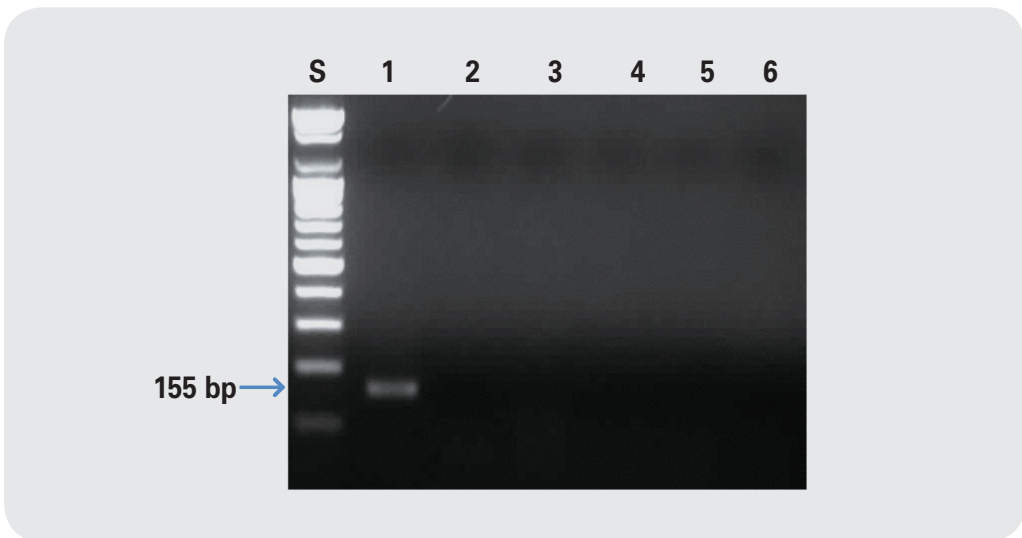


그림 30. 미꾸리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 미꾸리, lane 2 ; 미꾸라지, lane 3 ; 콩치, lane 4 ; 고등어, lane 5 ; 뱀장어, lane 6 ; 갈치

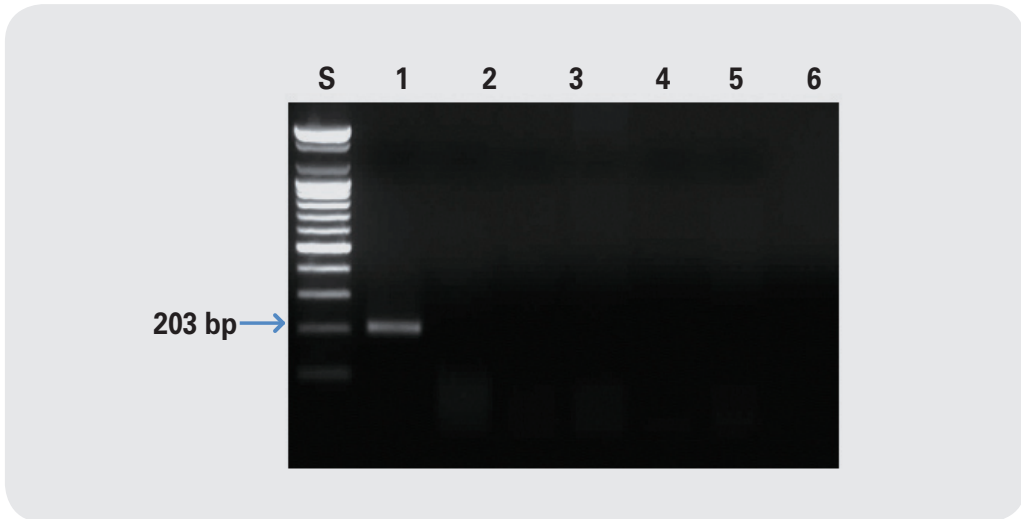


그림 31. 가물치 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 가물치, lane 2 ; 향어, lane 3 ; 잉어, lane 4 ; 붕어, lane 5 ; 송어, lane 6 ; 쏘가리



그림 32. 메기 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 메기, lane 2 ; 붕어, lane 3 ; 잉어, lane 4 ; 가물치, lane 5 ; 향어, lane 6 ; 송어, lane 7 ; 쏘가리, lane 8 ; 동자개



그림 33. 쏘가리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 쏘가리, lane 2 ; 붕어, lane 3 ; 잉어, lane 4 ; 송어, lane 5 ; 향어, lane 6 ; 메기, lane 7 ; 동자개

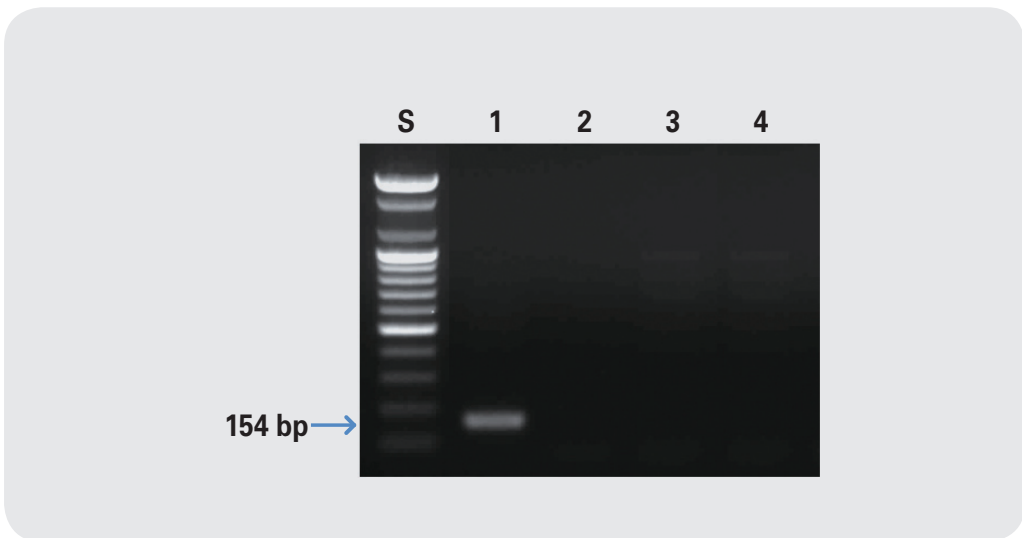


그림 34. 동자개 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 동자개, lane 2 ; 산천어, lane 3 ; 통가리, lane 4 ; 메기

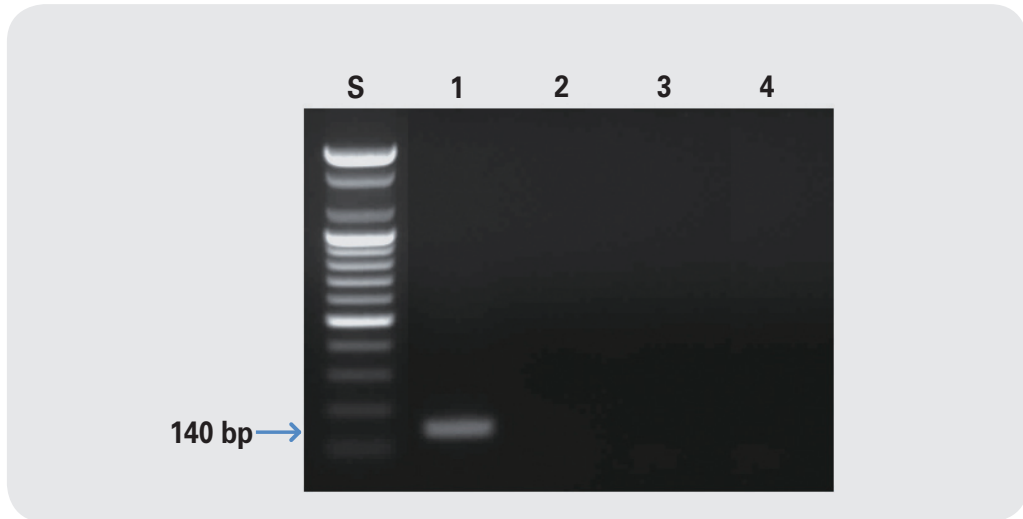


그림 35. 산천어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 산천어, lane 2 ; 동자개, lane 3 ; 통가리, lane 4 ; 메기

4 해양어류 (대구, 청대구, 명태, 틸라피아, 꽁치, 고등어, 다금바리, 자바리, 능성어, 날치, 열빙어, 청어, 까나리, 멸치, 참조기, 광어, 조피볼락, 홍어, 가오리, 말쥐치, 농어, 성게, 상괭이고래, 밍크고래, 긴부리참돌고래, 상어, 해삼, 긴가이석태, 영상가이석태, 전어, 먹장어, 봉장어, 뱀장어, 복어류, 강도다리, 도다리, 검정가자미)

4.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

대구 등 종 특이 프라이머는 아래 표 33에 명시된 것과 같다.

표 33. 대구 등 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
대구	SFI14-Gm-F1	TCC GGA GGG CAC TCC T	223	ATP6 ⁶
	SFI14-Gm-R1	TTC AAG TAT AGT AAG TAA T		
청대구	SFI14-Mp-F1	CTT AGG ATC CTC TTA CTC CTT CG	184	ND1 ⁷
	SFI14-Mp-R1	TCA GAT AAC TAG AGC GAG T		
명태	SFI14-Tc-F1	GTT GGG GAT ATC GGT T	107	ND5 ⁸
	SFI14-Tc-R1	AAG GGG GAG AGT TAT ATC CAA AT		
틸라피아	SFI11-Til-F	TTT AAA TTC TTT ACC CCC ATT GGC	167	16S rRNA
	SFI11-Til-R	CTG CTT TTA GGC CCA CTA GAA CAT TAG		
꽁치	SFI12-Saury-F	CTG AGG GGC AAC CGT GAT TA	152	Cytb
	SFI12-Saury-R	CTG CAA TGA TGA AGG GAA AT		
고등어	SFI12-Masaba-F	CTG CTC CTG TCT TCT TCG GCA	211	COI
	SFI12-Masaba-R	TTT GGT ATT GGG ACA CAC CTG		
다금바리	SFI12-Spino-F	GGA CCA AAC CAA ATG AGT	136	16S rRNA
	SFI12-Spino-R	GGT CAG AAA TTC TGT TGA C		
자바리	SFI12-Brune-F	GCG CAA TCA CTT GTC TTT TAA ATA	181	16S rRNA
	SFI12-Brune-R	ATG TTC AGG GTA TTA ATG C		

식품 중 사용원료 진위 판별 지침서
- 유전자 분석법 활용 -

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
농성어	SFI12-Septem-F	CAT CCC CAA CAA CAG GAC AT	123	16S rRNA
	SFI12-Septem-R	TCG CTC TTG GTT GTG AAT GTT		
날치	SFI13-Flying-F	CTG CAA GCA GAC CAT GCT AAT TAG A	136	16S rRNA
	SFI13-Flying-R	TTC TGG GAG AAA AGT TCT CCT GCT		
열빙어	SFI13-Mallotus-F	ATT GTG ACT CCT GTC TCT CCT GTC T	151	16S rRNA
	SFI13-Mallotus-R	TAA TCG GCA TGT GCC GGA TCA TTT		
청어	SFI13-Clupea-F	TTA TGC CTA GCG GCA CAA ATC TTA A	178	Cytb
	SFI13-Clupea-R	TAT GTG CAT AAA TGC AGA TGA AGA A		
까나리	SFI13-Ammody-F	CTC TGT CTT ATC GCA CAA ATT CTT A	178	Cytb
	SFI13-Ammody-R	TGT GCA TGT AAA GGC AAA TAA AGA A		
멸치	SFI13-Anchovy-F	ACT AGC CAA CTG TGA ATA AGC GAC T	146	16S rRNA
	SFI13-Anchovy-R	GTT GCA ACT CTC GGC TTA AGG GTT T		
참조기	SFI13-Larimic-F	TGC TTT CAT TAT GCT CGC AGC CTC A	188	COI
	SFI13-Larimic-R	TAA GAA TCG TTG TGA TGA AGT TGA T		
넙치	SFI13-Halibut-F	ATG TTT AAT CAC CCA GAT TTT AAC C	177	Cytb
	SFI13-Halibut-R	ATG TGG AGG TAA ATG CAG ATA AAG A		
조피볼락	SFI13-Sebastes-F	ACC AAA GAA GAT CCT GTC AAG TAA C	166	16S rRNA
	SFI13-Sebastes-R	AGA TAT TCT GTT AAT TAG AGC TGC G		
홍어	SFI13-Raja-F	CTC CAT TAA CTT CAT CAC CAC AAT T	179	COI
	SFI13-Raja-R	AGA AAG TTG TGT TGA GAT TAC GAT C		
가오리	SFI13-Ray-F	CAT CGT TAT ATA TGA ATT ACC CC	218	COI
	SFI13-Ray-R	GGA GGG AAC CCA TTT GGC TTA CT		
말쥐치	SFI13-File-F	CAC TAA AAC TGA TCA TGT AAA AGA C	188	16S rRNA
	SFI13-File-R	TAA CGC CGG ATC AGT AAG GTC AGA A		
농어	SFI13-SeaBass-F	TGC TTG ATT ACT CAA ATC CTC ACA G	185	Cytb
	SFI13-SeaBass-R	CCC CGC CCA ATA TGT ATG TAA ATG C		

II. 종 특이 프라이머를 이용한 유전자 증폭(PCR)

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
성게	SFI13-SeaUrchin-F	GCA GGG ATA ACA GCG TTA TCT TT	127	16S rRNA
	SFI13-SeaUrchin-R	GAC TTT AAT GGT CGA ACA GAC C		
상괘이고래	SFI14-Neopho-F	ATT CAT CAT TAC AGC ACT AAT	369	Cytb
	SFI14-Neopho-R	GGT TTG GAG TAT TGG GAC TAG T		
밍크고래	SFI14-Minke-F	AGC CAG TGT CTA TTC TGA GTA	164	Cytb
	SFI14-Minke-R	GCT TGT TCT CGA TAA GAC TAG CTA C		
긴부리 참돌고래	SFI14-Delphinus-F	GCA CTG ACC CTA TTC ACT CCA	266	Cytb
	SFI14-Delphinus-F	AGA GGT CAG CGA TCA GG		
상어류	SFI14-Shark-F	CAT CAC GAG AGT TTA ACT GTC TCT ATT	190	16S rRNA
	SFI14-Shark-F	CCC AAC CAA AAA CAG TTA AAT T		
해삼	SFI14-Apostichopus-F	CCT GCC CAG TGG AAT TTA TTC TAA A	211	16S rRNA
	SFI14-Apostichopus-R	TTT CAG GGT TAG CTT AAG CTC GAC A		
긴가이석태	SFI14-elongatus-F	CTG CCG AGA TGT TAA CTA CGG	161	Cytb
	SFI14-elongatus-R	CTA GGA GGA ATA ATA CGA CTC CGA		
영상가이 석태	SFI14-typus-F	ATT AGG CCT CTG CCT AGC TG	132	Cytb
	SFI14-typus-R	CGA ATG AGC CAT CCG TAG TTA		
전어	SFI14-konosirus-F	CCC TAC GTG GGA GAA GTA CTA G	159	Cytb
	SFI14-konosirus-R	GTT TGA CCC TGT CTC GTG CA		
먹장어	SFI14-eptatretus-F	AAT TAG TTC TGG TGC AGG AAC	150	Cytb
	SFI14-eptatretus-R	GTA GTG ATA AAG TTG ATT GCTCC		
붕장어	SFI14-astroconger-F	ACC CTC ACA TCA CTT GCA CT	176	Cytb
	SFI14-astroconger-R	AAG AGG AGG GCA AGA ACA CC		
뱀장어	SFI14-anguilla-F	TGA CGC AGA CAA GAT CCC AT	161	Cytb
	SFI14-anguilla-R	GTG GTG GGG TGA CTA TTG GA		
복어류	SFI14-Takifugu-F2	AGG CAA AGA GCA CTT TAG TCT AAC	170	16S rRNA
	SFI14-Takifugu-R2	GCT TAT ACT CAG TTC TCG GGC		

식품 중 사용원료 진위 판별 지침서
- 유전자 분석법 활용 -

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
강도다리	SF114-Platichthys-F3	CTC ATC CCT ACG CTT ATC ATC	197	ND4 ⁹
	SF114-Platichthys-R3	GCG TAG GAT GAC AGG GC		
도다리	SF114-Pleuronichthys-F3	CTT AAC TGT CTC CTT TTC CAA	179	16S rRNA
	SF114-Pleuronichthys-R3	CCA ACC AAA GAC ATG GG		
검정가자미	SF114-Reinhardtius-F2	AGG GAT TTC GTC AAT TCT G	150	COI
	SF114-Reinhardtius-R2	GCT AAG ACG GGA AGG GAC		

6 ATP6 (ATP Synthase subunit 6), 7 ND1 (NADH Dehydrogenase subunit 1), 8 ND5 (NADH Dehydrogenase subunit 5), 9 ND4 (NADH Dehydrogenase subunit 4)

대구, 청대구, 명태 프라이머 정보 및 PCR조건 개선(14')

4.2. PCR 반응액의 조성

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 34 ~ 표 63과 같다.

표 34. PCR 반응 조건(대구)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	45°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 35. PCR 반응 조건(청대구)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 36. PCR 반응 조건(명태)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	55°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 37. PCR 반응 조건(틸라피아)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	10분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	30초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 38. PCR 반응 조건(꽂치)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	15초	30	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 39. PCR 반응 조건(고등어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	55°C	20초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 40. PCR 반응 조건(다금바리)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	57°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 41. PCR 반응 조건(자바리 및 능성어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 42. PCR 반응 조건(날치, 청어, 까나리, 멸치, 흥어, 말쥐치)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	15분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 43. PCR 반응 조건(열빙어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	15분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 44. PCR 반응 조건(참조기, 조피볼락)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	15분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	58°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 45. PCR 반응 조건(넙치)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	15분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	64°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 46. PCR 반응 조건(가오리)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	15분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	53°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 47. PCR 반응 조건(점농어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	58°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 48. PCR 반응 조건(성게)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	95°C	3분	1	
변성(denaturation)	95°C	30초		
결합(annealing)	55°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 49. PCR 반응 조건(상괘이고래)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	63°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 50. PCR 반응 조건(밍크고래)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	51°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 51. PCR 반응 조건(긴부리참돔고래)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	25초		
결합(annealing)	68°C	5초	35	
신장(extension)	72°C	25초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 52. PCR 반응 조건(상어류)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	58°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 53. PCR 반응 조건(해삼)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	58°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 54. PCR 반응 조건(긴가이석태)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	10초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 55. PCR 반응 조건(영상가이석태)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	10초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 56. PCR 반응 조건(전어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	5초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 57. PCR 반응 조건(먹장어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	56°C	20초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 58. PCR 반응 조건(붕장어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 59. PCR 반응 조건(뱀장어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	20초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 60. PCR 반응 조건(복어류)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	63°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	40초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 61. PCR 반응 조건(강도다리)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	50°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 62. PCR 반응 조건(도다리)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 63. PCR 반응 조건(검정가자미)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

4. 3. PCR 반응 결과

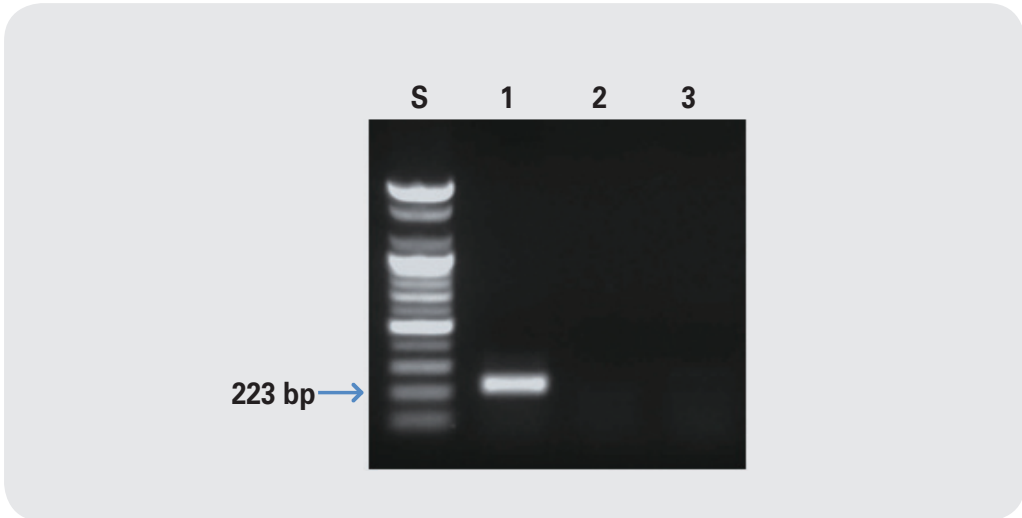


그림 36. 대구 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 대구, lane 2 ; 청대구, lane 3 ; 명태

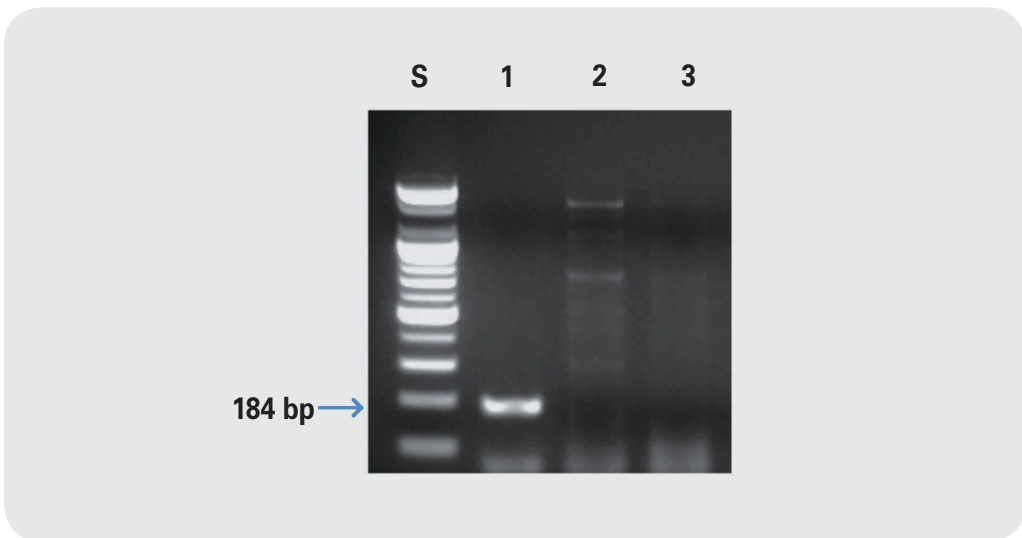


그림 37. 청대구 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 청대구, lane 2 ; 대구, lane 3 ; 명태

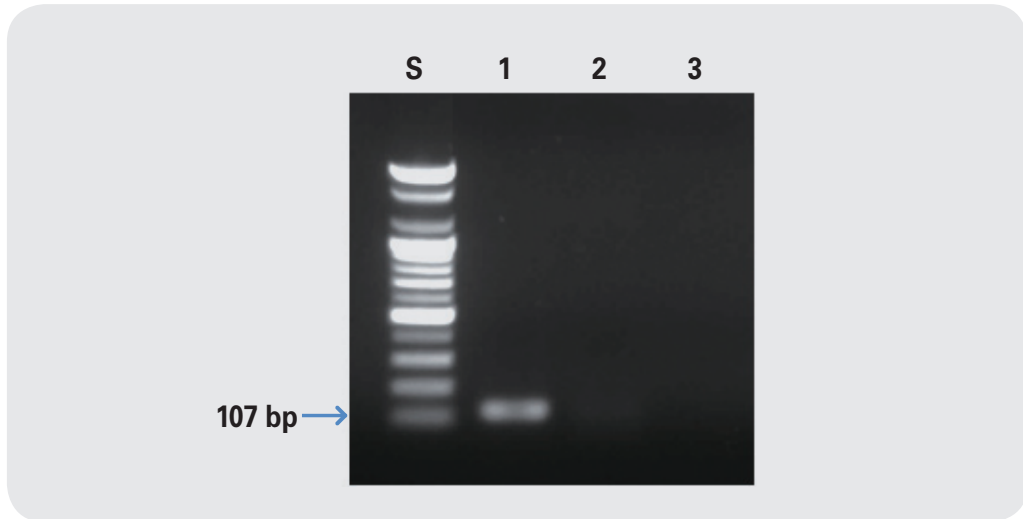


그림 38. 명태 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 명태, lane 2 ; 대구, lane 3 ; 청대구

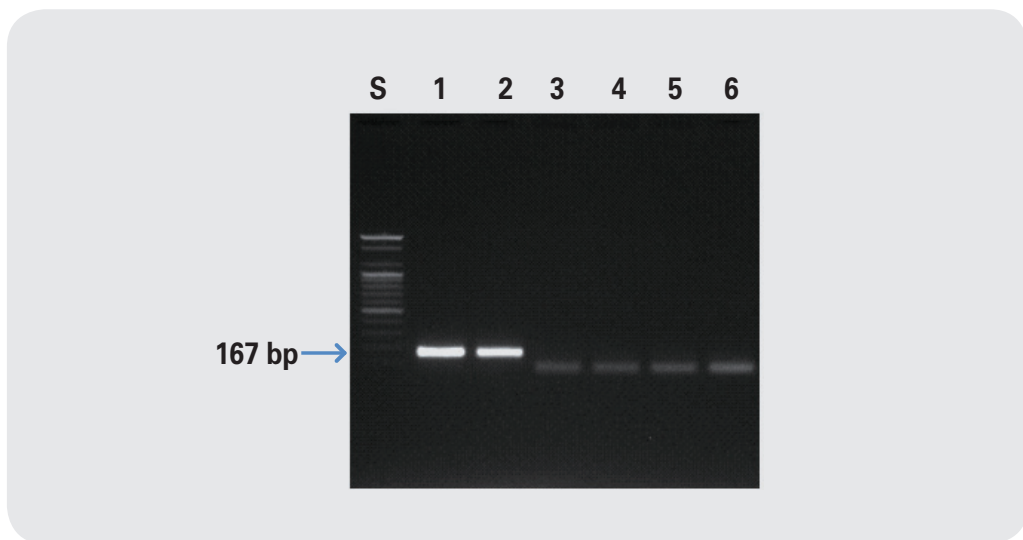


그림 39. 틸라피아 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1, 2 ; 틸라피아, lane 3 ; 옥돔,
lane 4 ; 참도미, lane 5 ; 뱀꼬돔, lane 6 : 고등어

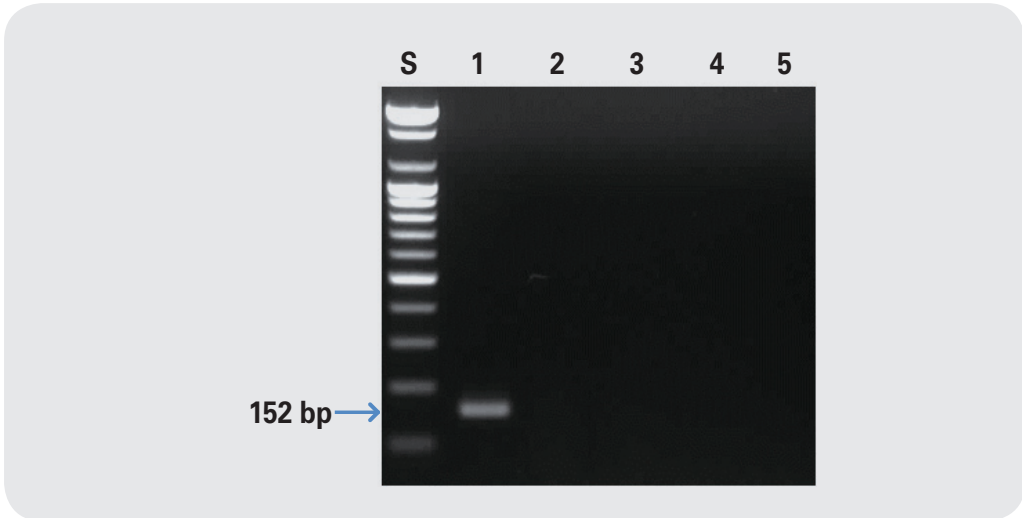


그림 40. 콩치 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 콩치, lane 2 ; 미꾸라지, lane 3 ; 미꾸리, lane 4 ; 고등어, lane 5 ; 갈치

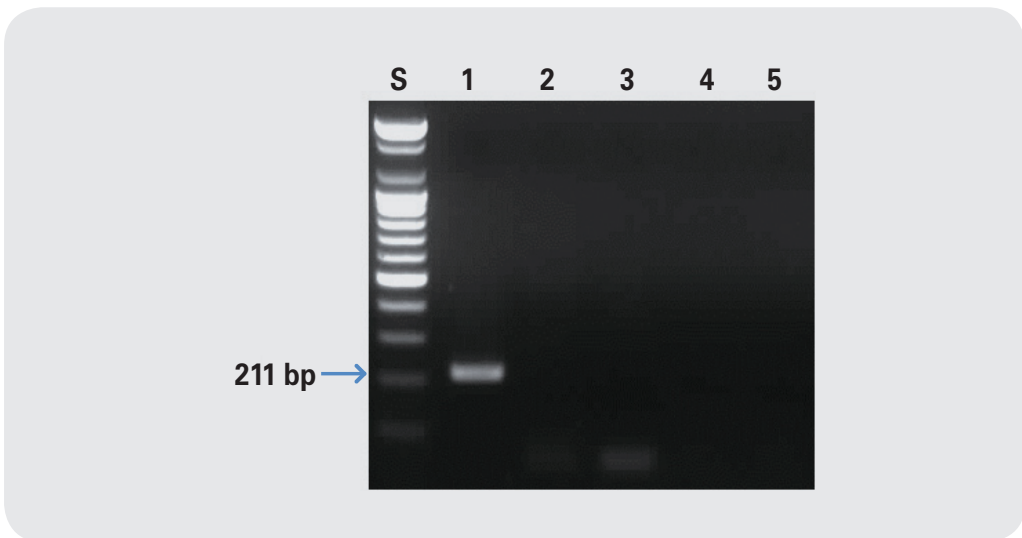


그림 41. 고등어 특이 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 고등어, lane 2 ; 미꾸라지, lane 3 ; 미꾸리, lane 4 ; 콩치, lane 5 ; 갈치

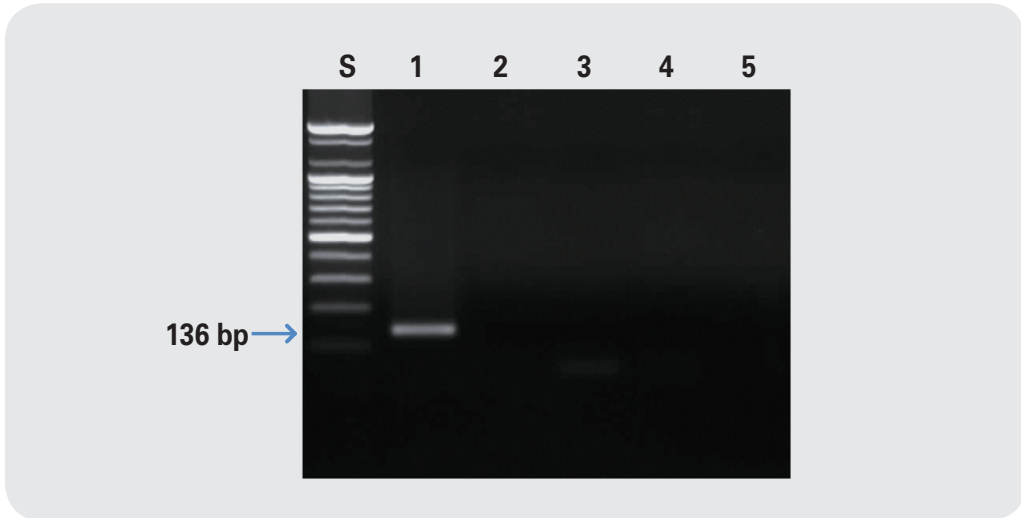


그림 42. 다금바리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 다금바리, lane 2 ; 자바리, lane 3 ; 능성어, lane 4 ; 조피볼락, lane 5 ; 도미

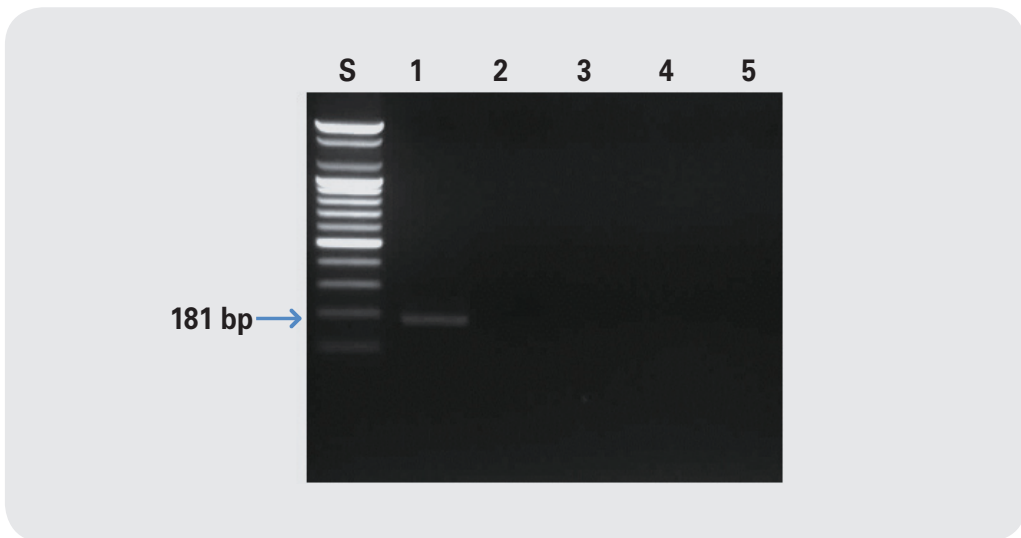


그림 43. 자바리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 자바리, lane 2 ; 다금바리, lane 3 ; 능성어, lane 4 ; 조피볼락, lane 5 ; 도미

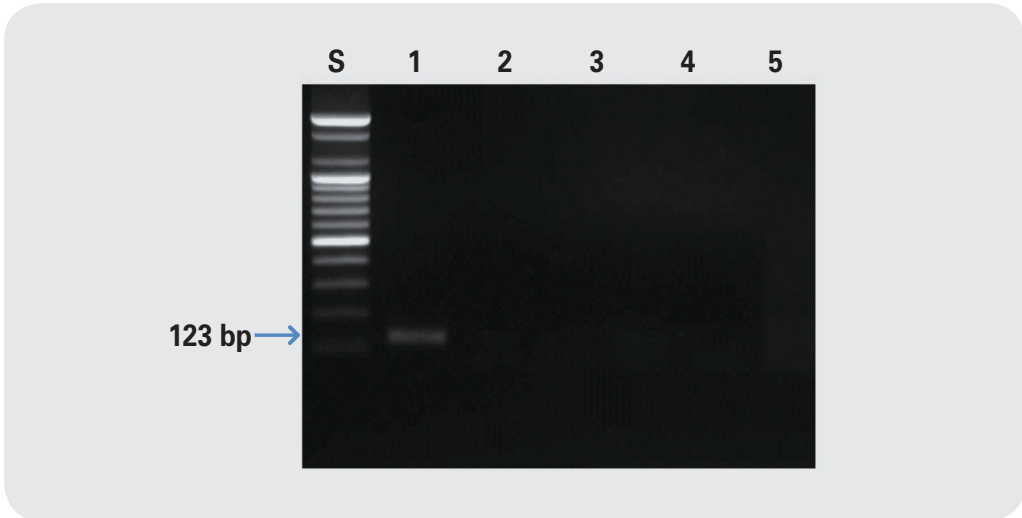


그림 44. 능성어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 능성어, lane 2 ; 다금바리, lane 3 ; 자바리, lane 4 ; 조피볼락, lane 5 ; 도미

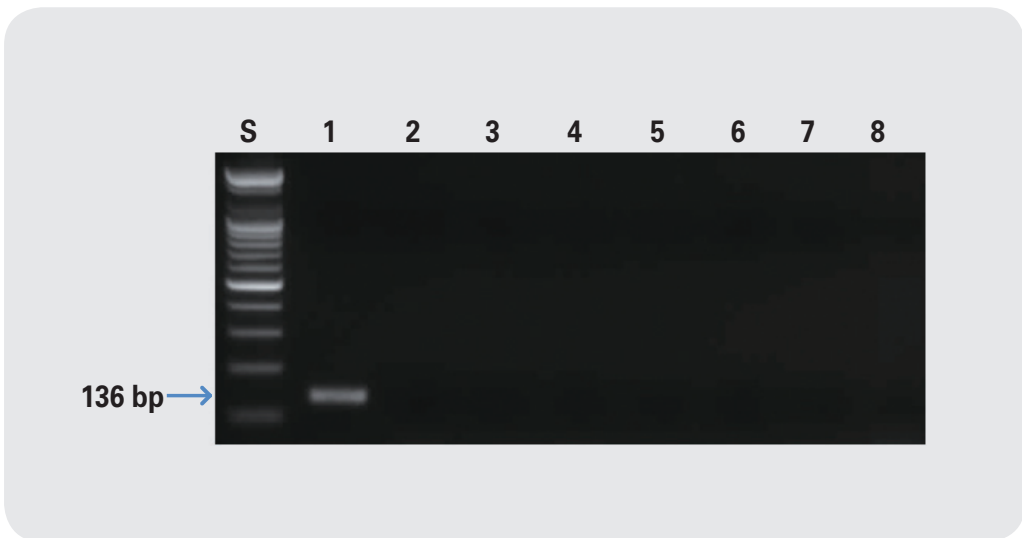


그림 45. 날치 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 날치, lane 2 ; 청어, lane 3 ; 열빙어, lane 4 ; 명태, lane 5 ; 연어, lane 6 ; 은연어, lane 7 ; 멸치, lane 8 ; 성게

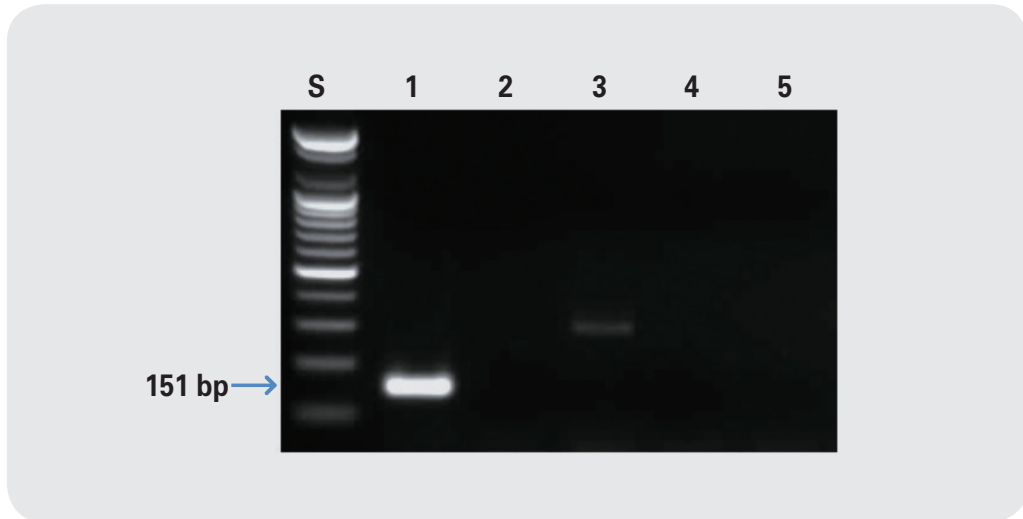


그림 46. 열빙어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 열빙어, lane 2 ; 날치, lane 3 ; 청어, lane 4 ; 멸치, lane 5 ; 까나리

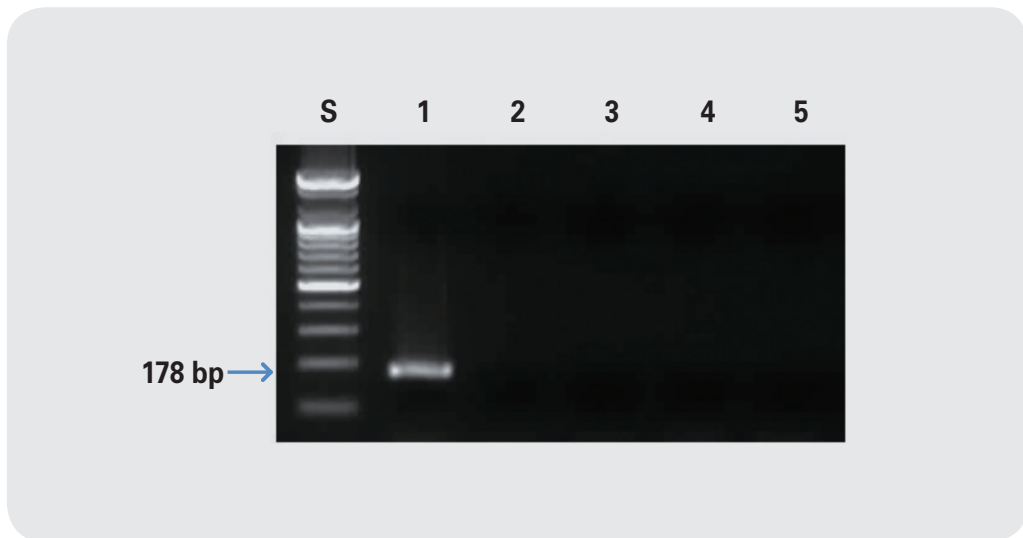


그림 47. 청어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 청어, lane 2 ; 날치, lane 3 ; 열빙어, lane 4 ; 멸치, lane 5 ; 까나리



그림 48. 까나리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 까나리, lane 2 ; 날치, lane 3 ; 열빙어, lane 4 ; 멸치, lane 5 ; 청어

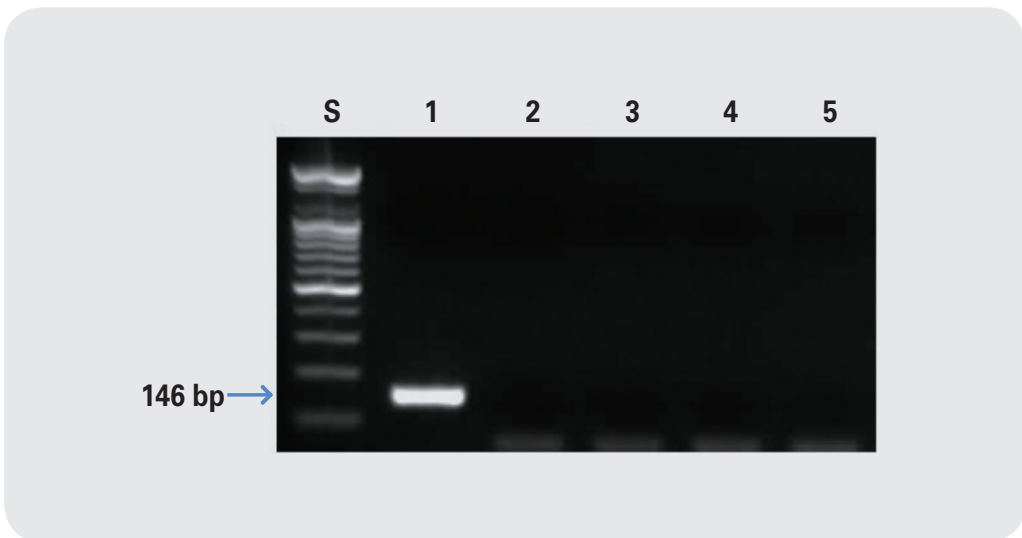


그림 49. 멸치 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 멸치, lane 2 ; 날치, lane 3 ; 열빙어, lane 4 ; 까나리, lane 5 ; 청어

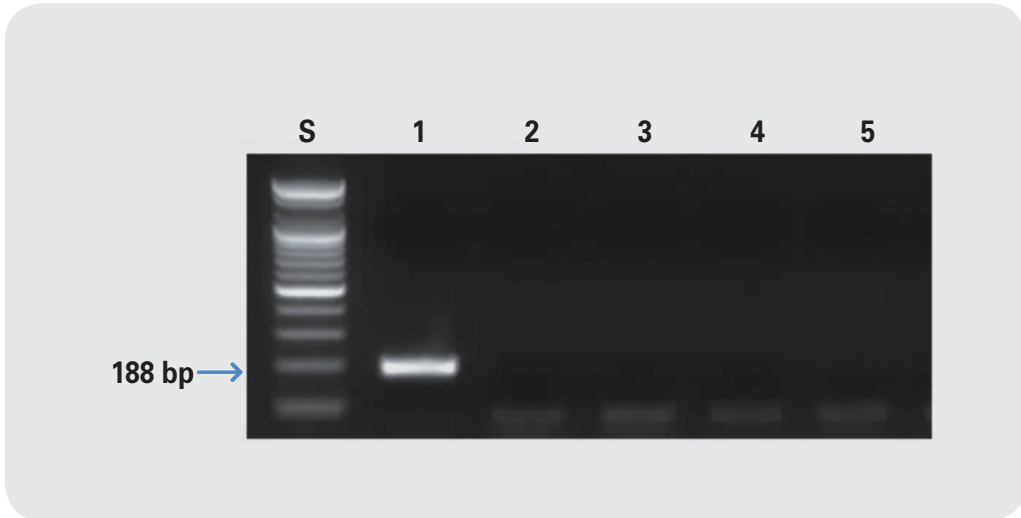


그림 50. 참조기 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 참조기, lane 2 ; 청어, lane 3 ; 가자미, lane 4 ; 보구치, lane 5 ; 부세

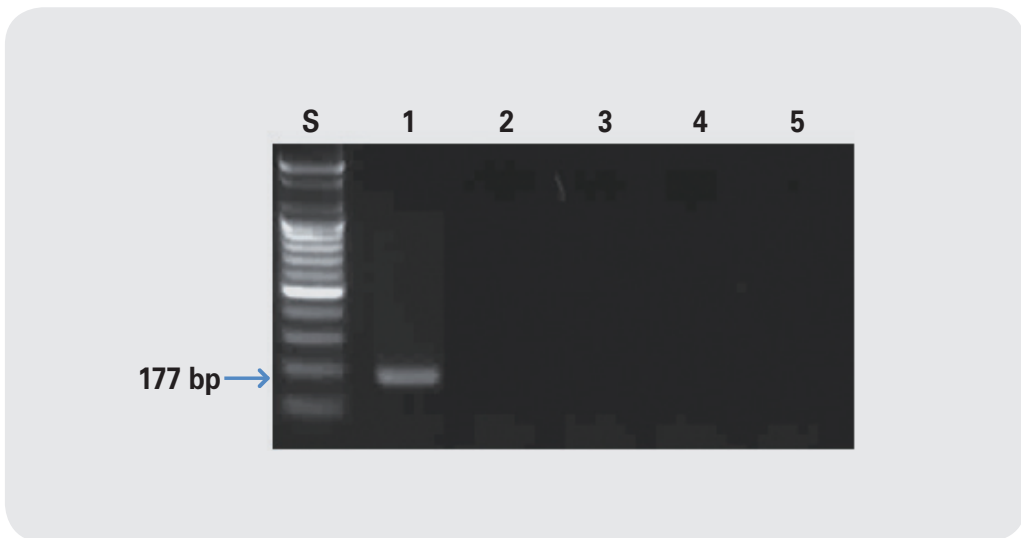


그림 51. 넝치 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 넝치, lane 2 ; 조피볼락, lane 3 ; 도다리, lane 4 ; 말뚝치, lane 5 ; 가자미

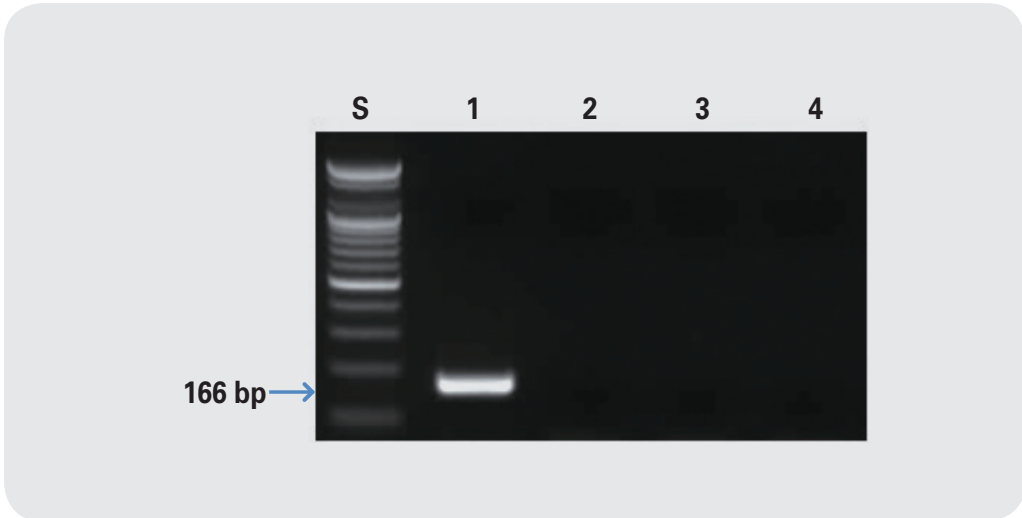


그림 52. 조피볼락 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 조피볼락, lane 2 ; 넙치, lane 3 ; 도다리, lane 4 ; 말쥐치

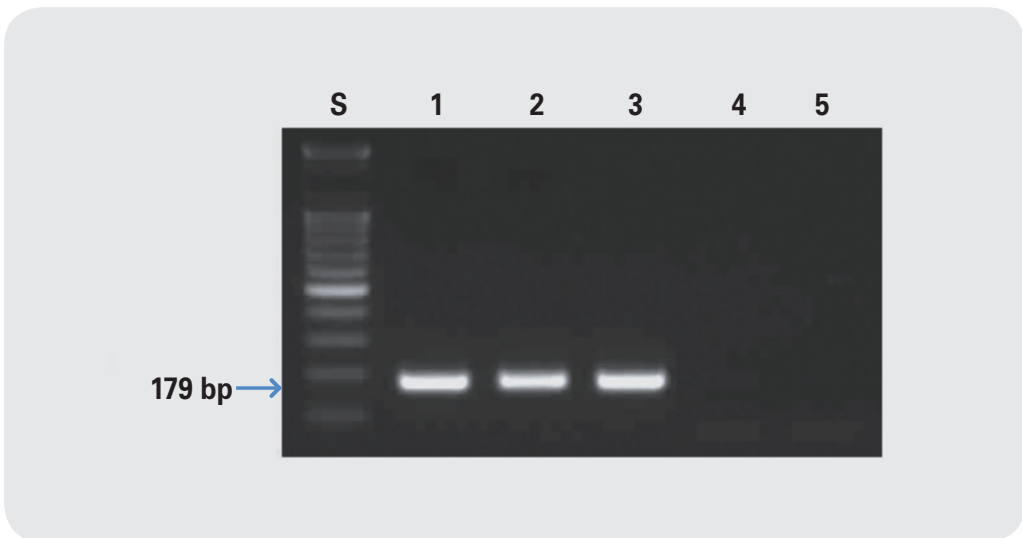


그림 53. 홍어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 홍어(미국산), lane 2 ; 홍어(중국산), lane 3 ; 홍어(칠레산), lane 4 ; 흰가오리, lane 5 ; 전기가오리

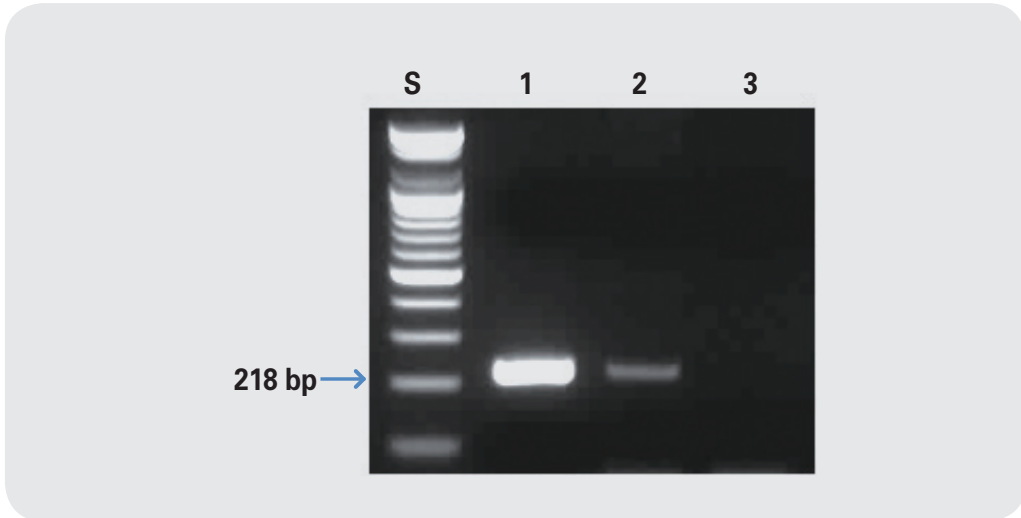


그림 54. 가오리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 흰가오리, lane 2 ; 전기가오리, lane 3 ; 흥어

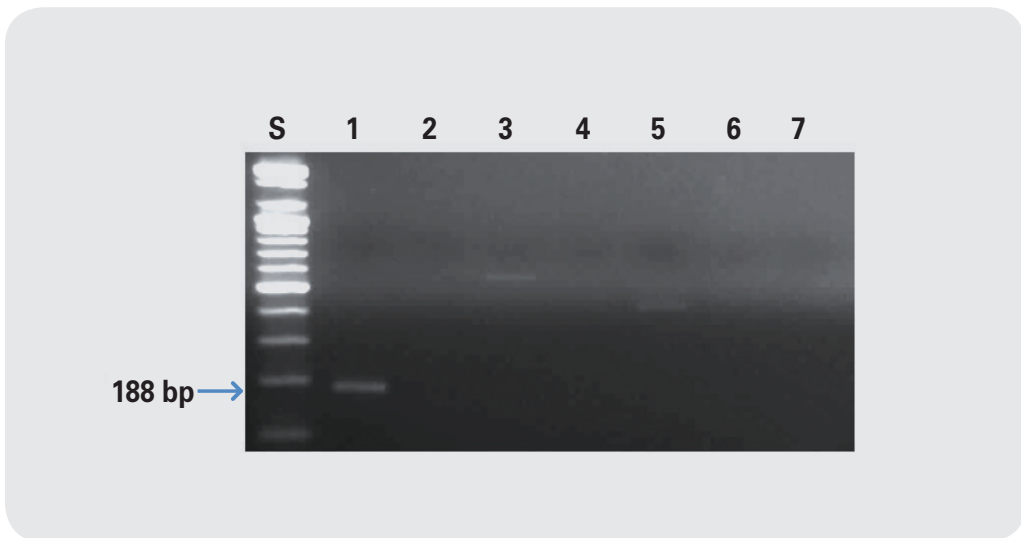


그림 55. 말쥐치 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 말쥐치, lane 2 ; 명태, lane 3 ; 꽁치, lane 4 ; 고등어, lane 5 ; 도다리, lane 6 ; 광어, lane 7 ; 조피볼락

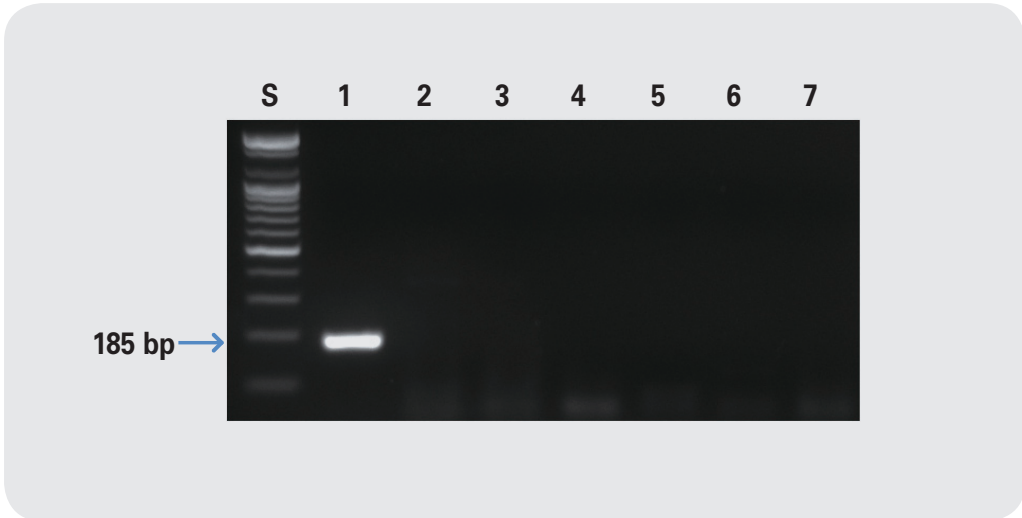


그림 56. 농어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 농어, lane 2 ; 가자미, lane 3 ; 조피볼락, lane 4 ; 광어, lane 5 ; 도미, lane 6 ; 민어, lane 7 ; 송어

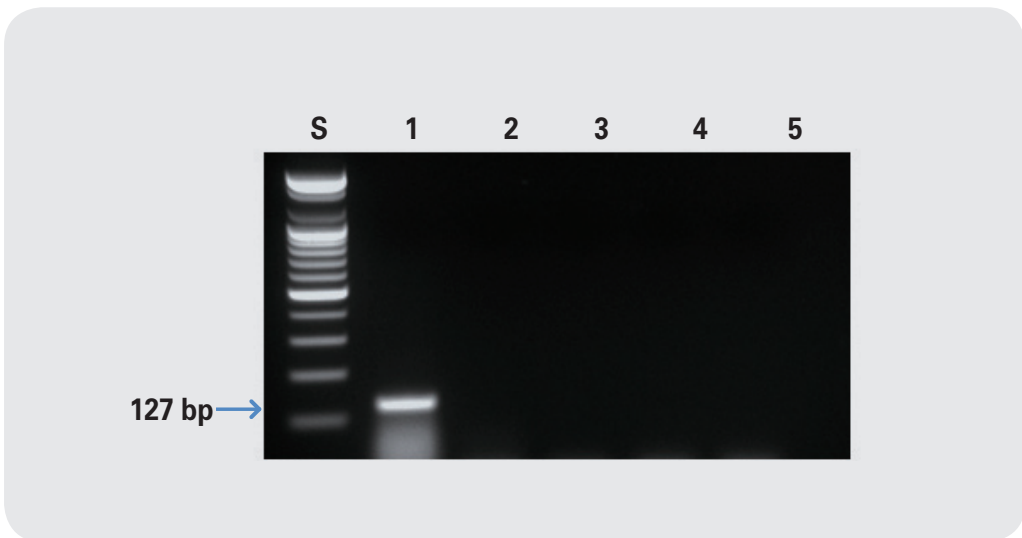


그림 57. 성게 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 성게, lane 2 ; 멍게, lane 3 ; 연어, lane 4 ; 날치, lane 5 ; 열빙어

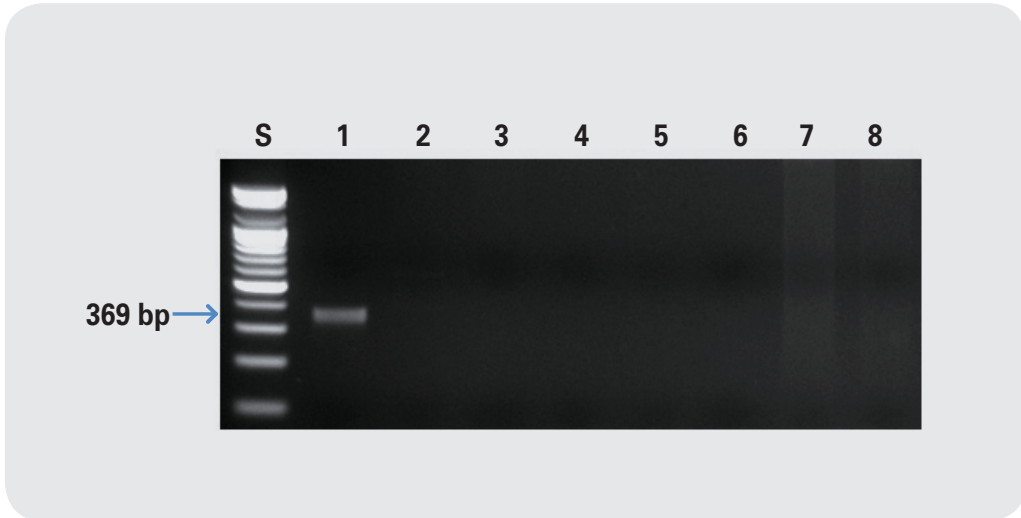


그림 58. 상괭이고래 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 상괭이고래, lane 2 ; 긴부리참돌고래, lane 3 ; 밍크고래, lane 4 ; 환도상어, lane 5 ; 청상아리, lane 6 ; 청새리상어, lane 7 ; 흑기흉상어, lane 8 ; 귀상어

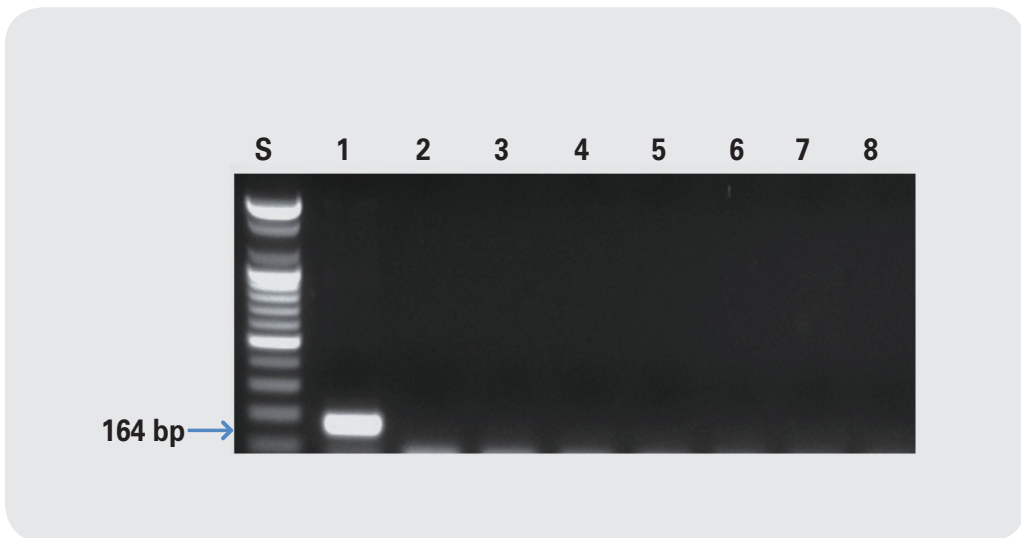


그림 59. 밍크고래 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 밍크고래, lane 2 ; 상괭이고래, lane 3 ; 긴부리참돌고래, lane 4 ; 환도상어, lane 5 ; 청상아리, lane 6 ; 청새리상어, lane 7 ; 흑기흉상어, lane 8 ; 귀상어

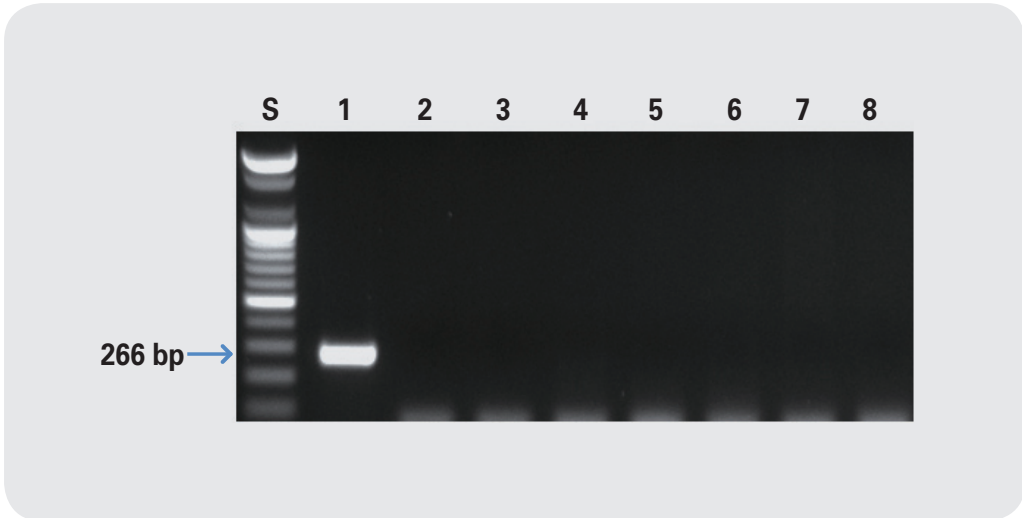


그림 60. 긴부리참돌고래 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 긴부리참돌고래, lane 2 ; 상괭이고래, lane 3 ; 밍크고래, lane 4 ; 환도상어, lane 5 ; 청상아리, lane 6 ; 청새리상어, lane 7 ; 흑기흉상어, lane 8 ; 귀상어

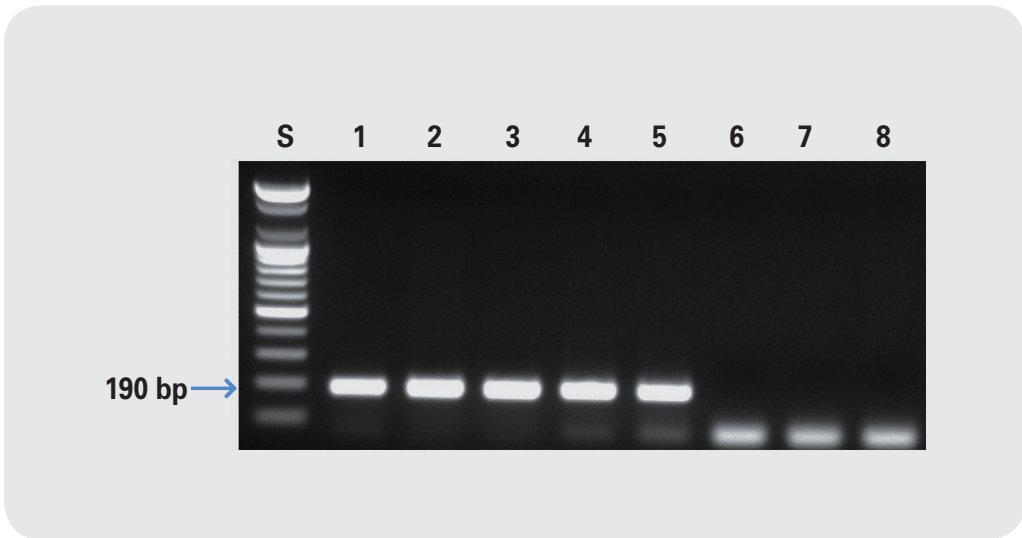


그림 61. 상어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 청새리상어, lane 2 ; 귀상어, lane 3 ; 청상아리, lane 4 ; 환도상어, lane 5 ; 흑기흉상어, lane 6 ; 밍크고래, lane 7 ; 긴부리 참돌고래, lane 8 ; 상괭이고래

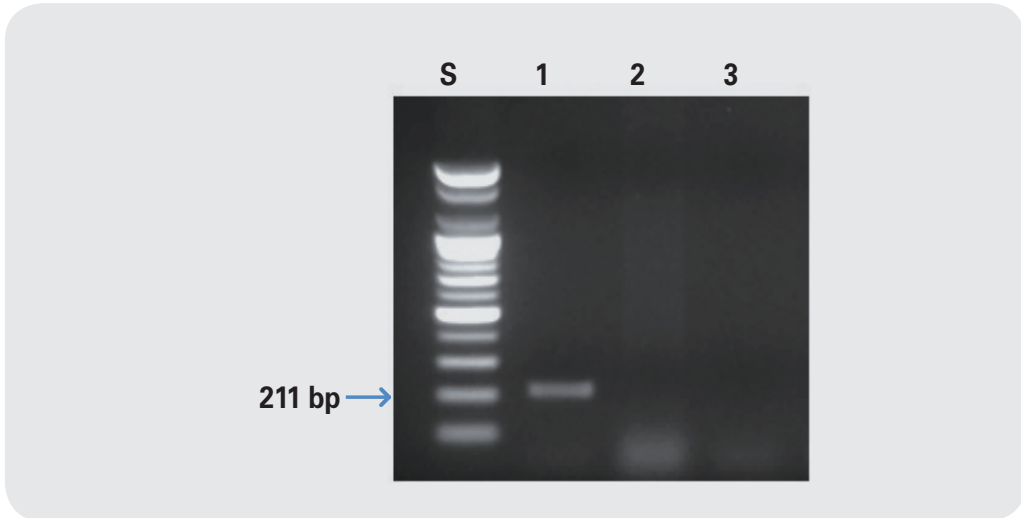


그림 62. 해삼 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 해삼, lane 2 ; 성게, lane 3 ; 멍게

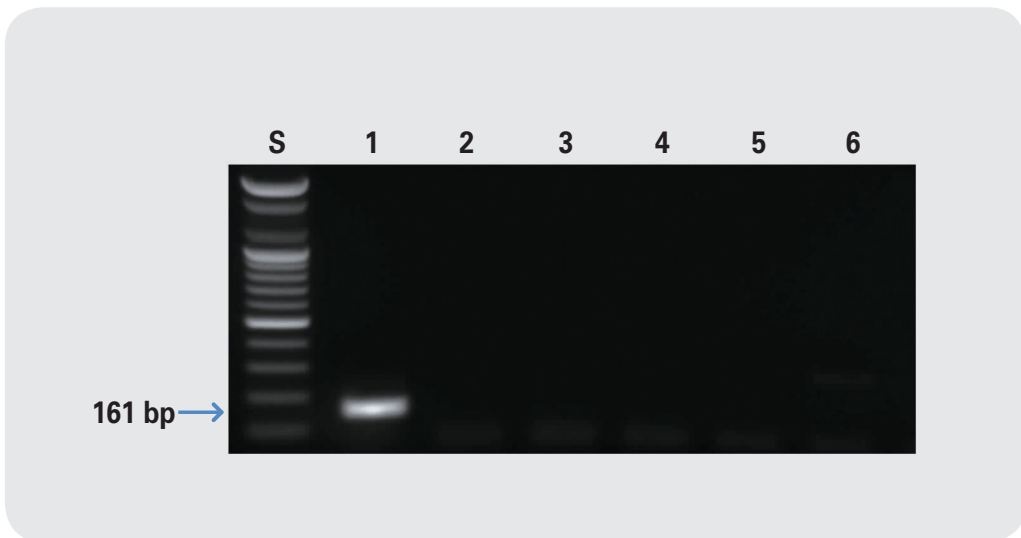


그림 63. 긴가이석태 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 긴가이석태, lane 2 ; 영상가이석태, lane 3 ; 보구치, lane 4 ; 참조기, lane 5 ; 부세, lane 6 ; 민어

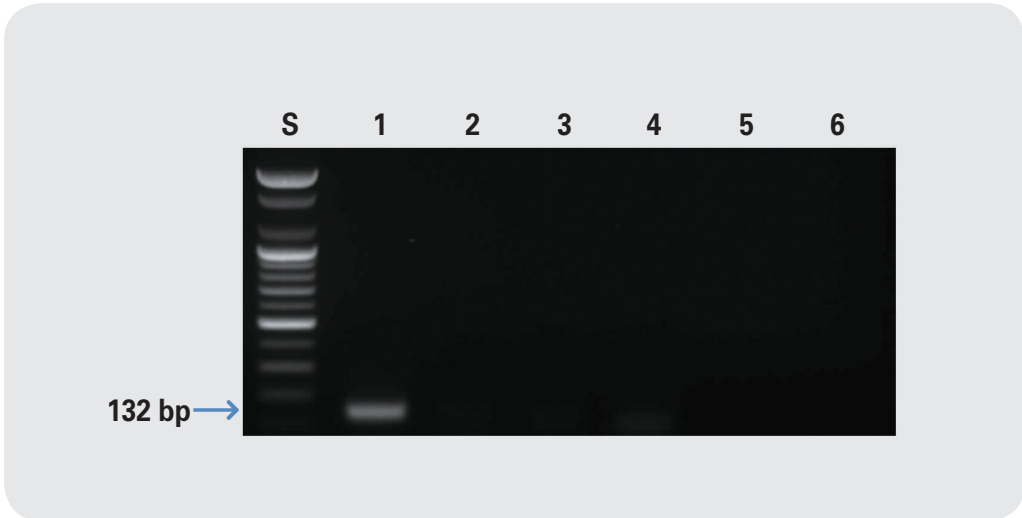


그림 64. 영상가이석태 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 영상가이석태, lane 2 ; 긴가이석태, lane 3 ; 보구치, lane 4 ; 참조기, lane 5 ; 부세, lane 6 ; 민어

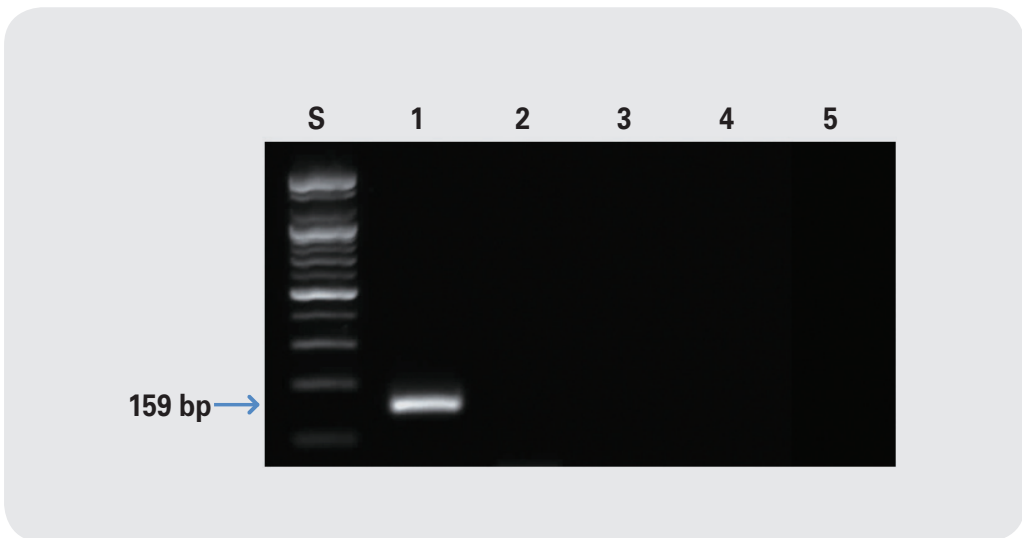


그림 65. 전어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 전어, lane 2 ; 밴탱이, lane 3 ; 콩치, lane 4 ; 청어, lane 5 ; 정어리

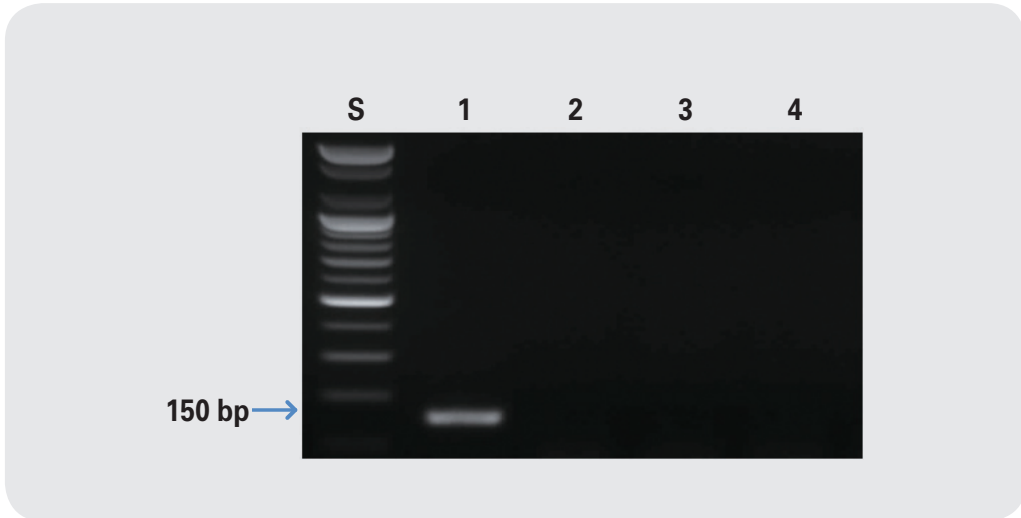


그림 66. 먹장어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 먹장어, lane 2 ; 붕장어, lane 3 ; 뱀장어, lane 4 ; 갯장어

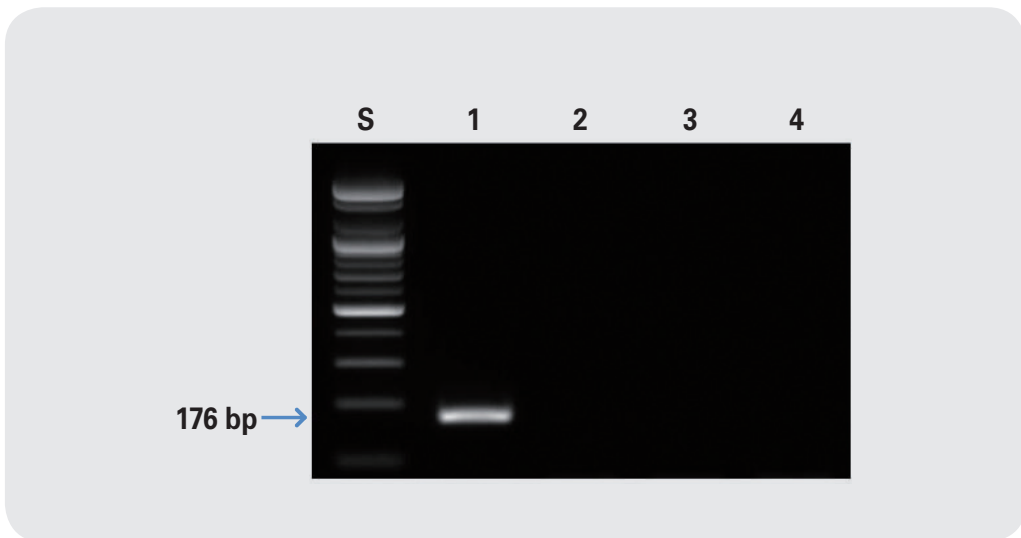


그림 67. 붕장어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 붕장어, lane 2 ; 먹장어, lane 3 ; 뱀장어, lane 4 ; 갯장어

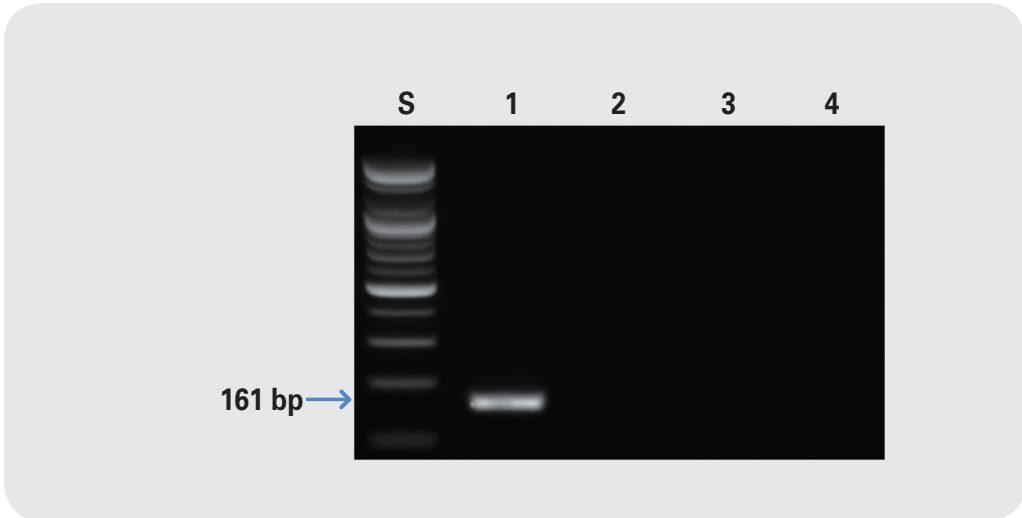


그림 68. 뱀장어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 뱀장어, lane 2 ; 붕장어, lane 3 ; 먹장어, lane 4 ; 갯장어

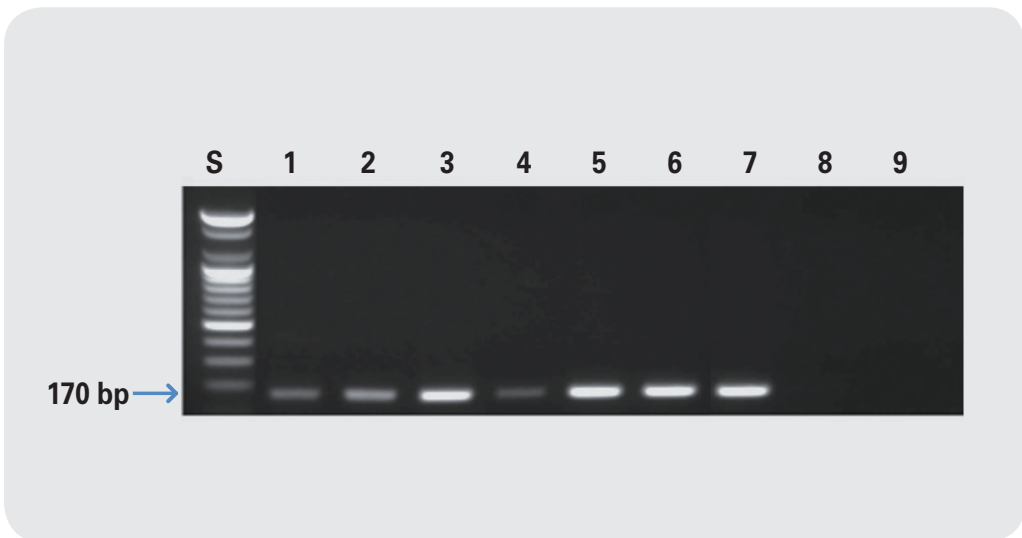


그림 69. 복어류 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 흑밀복, lane 2 ; 민밀복, lane 3 ; 까치복, lane 4 ; 은밀복, lane 5 ; 참복, lane 6 ; 검복, lane 7 ; 자주복, lane 8 ; 아귀, lane 9 ; 황아귀



그림 70. 강도다리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 강도다리, lane 2 ; 도다리, lane 3 ; 문치가자미, lane 4 ; 검정가자미, lane 5 ; 돌가자미, lane 6 ; 기름가자미, lane 7 ; 참가자미, lane 8 ; 줄가자미, lane 9 ; 각시가자미, lane 10 ; 넙치



그림 71. 도다리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 도다리, lane 2 ; 강도다리, lane 3 ; 문치가자미, lane 4 ; 검정가자미, lane 5 ; 돌가자미, lane 6 ; 기름가자미, lane 7 ; 참가자미, lane 8 ; 줄가자미, lane 9 ; 각시가자미, lane 10 ; 넙치



그림 72. 검정가자미 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 검정가자미, lane 2 ; 강도다리, lane 3 ; 문치가자미, lane 4 ; 도다리, lane 5 ; 돌가자미, lane 6 ; 기름가자미, lane 7 ; 참가자미, lane 8 ; 줄가자미, lane 9 ; 각시가자미, lane 10 ; 넙치

5 회유어류(연어, 송어, 송어, 가송어)

5.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

연어 등 종 특이 프라이머는 아래 표 64에 명시된 것과 같다.

표 64. 연어 및 송어 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
연어*	SFI12-Salmon-F	TTC GTA GGC TAC GTT CTT CCA TGA	219	<i>Cytb</i>
	SFI12-Salmon-R	TAA AAA TAG AAG ATG GAG TAC TGT G		
송어	SFI12-Trout-F	GCC ATA CTC CTA GGC CTA ACA TCC TT	231	<i>Cytb</i>
	SFI12-Trout-R	AGA AGT GTG TAG GAT GGG GAC AAC C		
송어	SFI14-mugil-F	GGA CTG TTT ATC CCC CAT TAG C	167	<i>COI</i>
	SFI14-mugil-R	TGT CTG ATA TTG AGA AGT AGC TGG		
가송어	SFI14-chelon-F	TTT TCT CCC TTC ACC TGG CA	109	<i>COI</i>
	SFI14-chelon-R	AGC GGA GTT TGG TAT TGG GA		

※ 은연어(*Onchorhynchus kisutch*)에서는 band 확인이 되지 않음.

5. 2. PCR 반응액의 조성

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 65 ~ 표 68과 같다.

표 65. PCR 반응 조건(연어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	30초	30	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 66. PCR 반응 조건(송어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	55°C	15초	30	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 67. PCR 반응 조건(송어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	56°C	20초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 68. PCR 반응 조건(가송어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초	35	
결합(annealing)	62°C	20초		
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

5.3. PCR 반응 결과

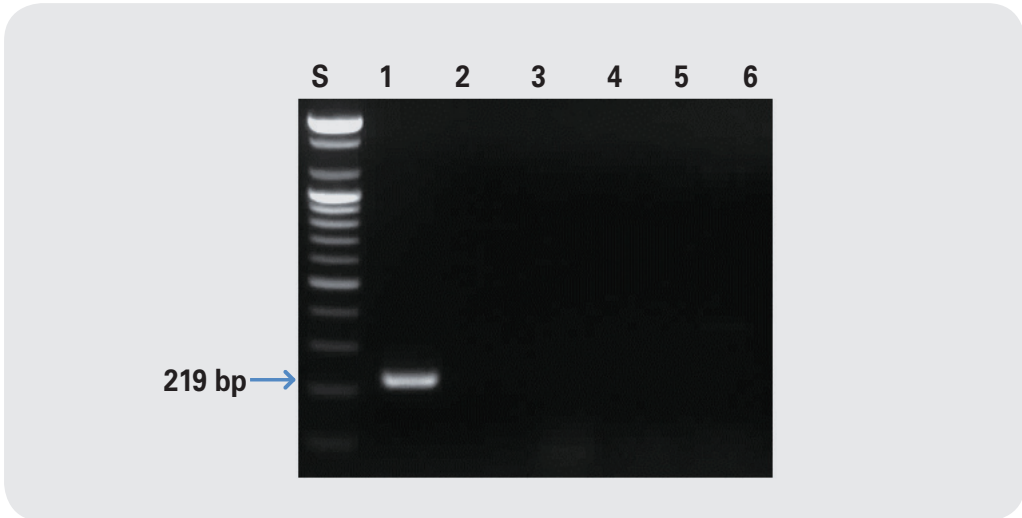


그림 73. 연어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 연어, lane 2 ; 송어, lane 3 ; 향어, lane 4 ; 잉어, lane 5 ; 붕어, lane 6 ; 쏘가리

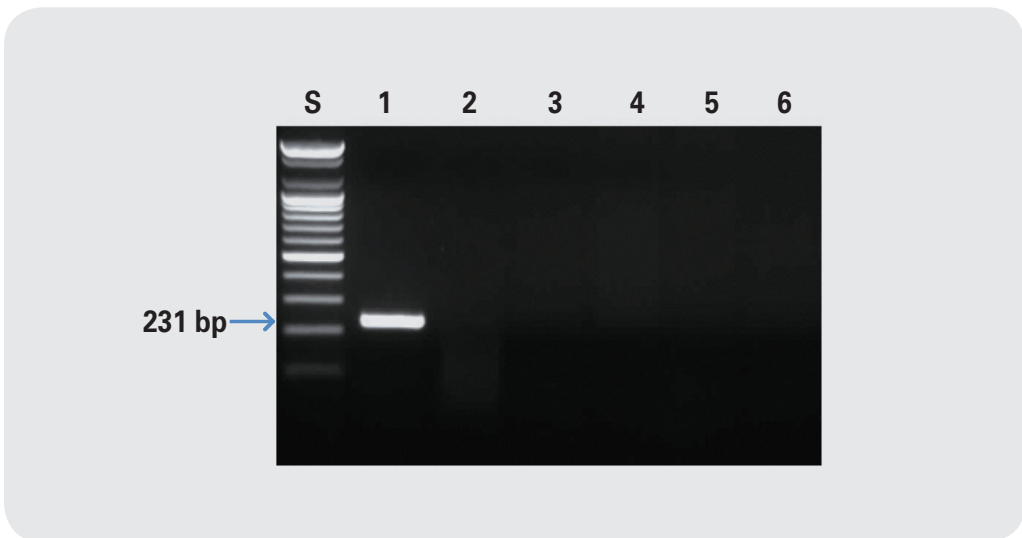


그림 74. 송어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 송어, lane 2 ; 연어, lane 3 ; 향어, lane 4 ; 잉어, lane 5 ; 붕어, lane 6 ; 쏘가리

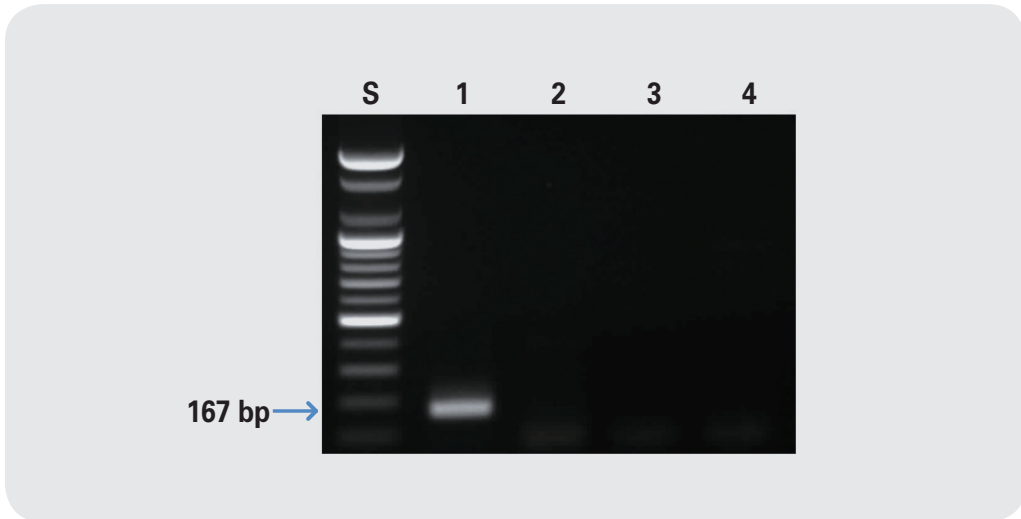


그림 75. 송어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 송어, lane 2 ; 가송어, lane 3 ; 송어, lane 4 ; 연어

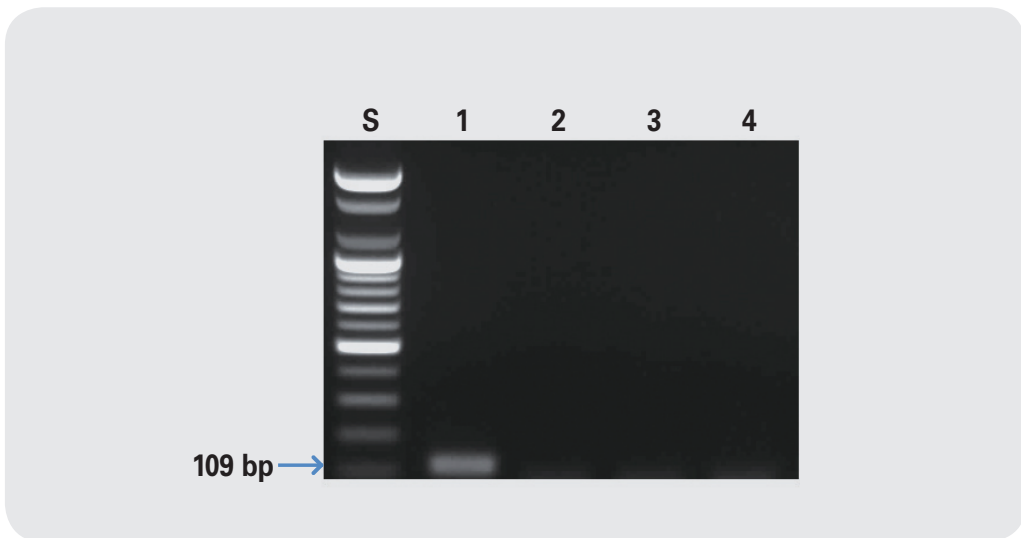


그림 76. 가송어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 가송어, lane 2 ; 송어, lane 3 ; 송어, lane 4 ; 연어

6 다랑어류 및 새치류

6.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

다랑어류 및 새치류 종 특이 프라이머는 아래 표 69에 명시된 것과 같다.

표 69. 다랑어류 및 새치류 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
다랑어류 (4종)	SFI14-Tuna-F	ACT ATA CCC CTG ACG TAG AAT	413	<i>Cytb</i>
	SFI14-Tuna-R	TAG GAG GTG GAG AAT TGT CAT		
새치류 (3종)	SFI14-Marlin-F	TTA GGC TTT GCT GCC	277	<i>Cytb</i>
	SFI14-Marlin-R	TAG AGG TCG GAA TGT TAG GCC		

6.2. PCR 반응액의 조성

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 70 ~ 표 71과 같다.

표 70. PCR 반응 조건(다량어류)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	45초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 71. PCR 반응 조건(새치류)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	10초		
결합(annealing)	45°C	5초	35	
신장(extension)	72°C	15초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

6.3. PCR 반응 결과

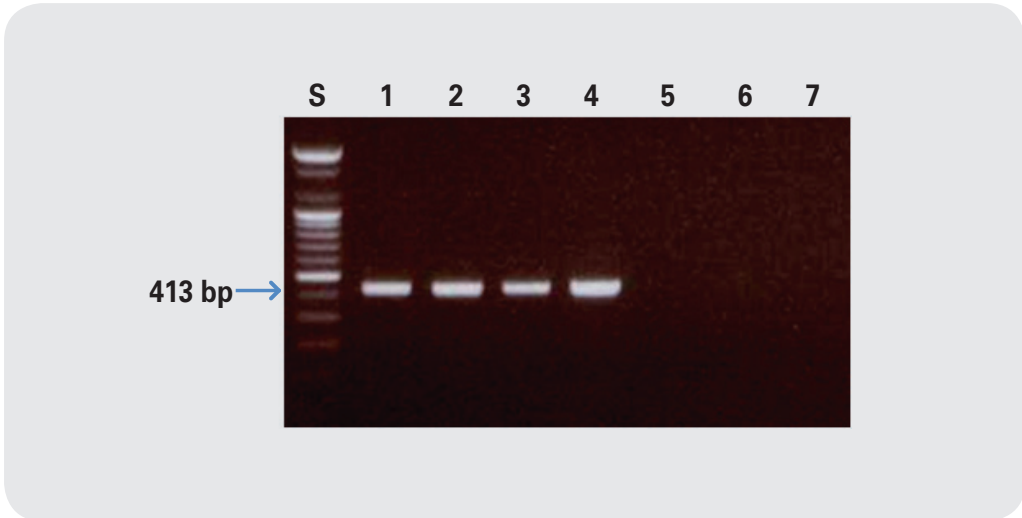


그림 77. 다랑어류 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 눈다랑어, lane 2 ; 참다랑어, lane 3 ; 황다랑어, lane 4 ; 가다랑어, lane 5 ; 돛새치, lane 6 ; 청새치, lane 7 ; 황새치

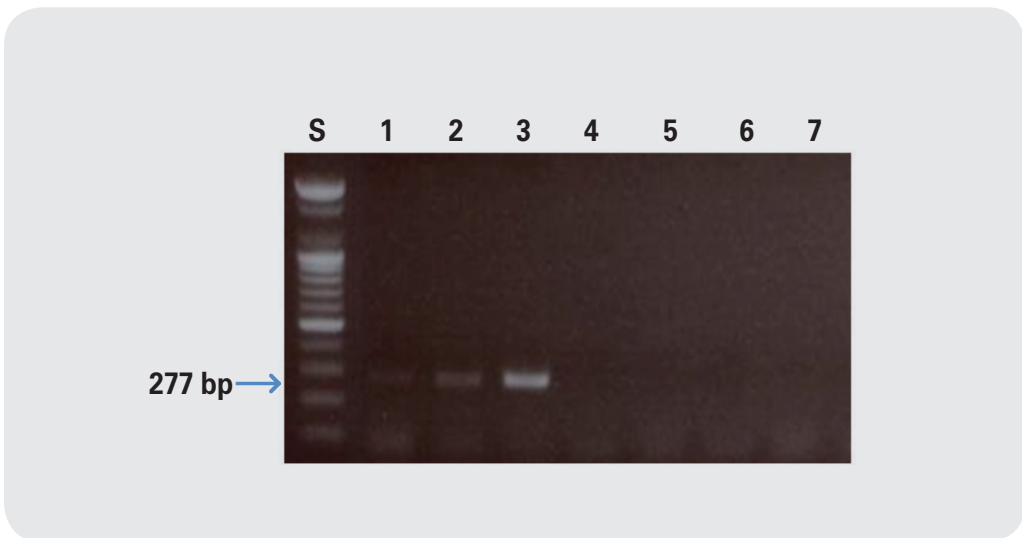


그림 78. 새치류 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 돛새치, lane 2 ; 청새치, lane 3 ; 황새치, lane 4 ; 눈다랑어, lane 5 ; 참다랑어, lane 6 ; 황다랑어, lane 7 ; 가다랑어

7 심해성어류(기름갈치꼬치, 흑갈치꼬치, 아귀류)

7.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

기름갈치꼬치 등 종 특이 프라이머는 아래 표 72에 명시된 것과 같다.

표 72. 기름갈치꼬치 및 흑갈치꼬치 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
기름갈치 꼬치	SFI12-pretio-F	GGG CTT AAC TGT CTC CTT TTT CA	178	16S rRNA
	SFI12-pretio-R	CCA AAG ACA TTA GGG CAT ACG		
흑갈치꼬치	SFI12-flavo-F	TGC AAA AGC GGG GAT ACC C	238	16S rRNA
	SFI12-flavo-R	AGT TTG GTC AGA AAT TCT GTT TGC		
아귀류 (2종)	SFI14-Lophiomus-F2	AAA GTG CCC TTT AGT TTG GGC	160	16S rRNA
	SFI14-Lophiomus-R2	CCT ATC CAT TTC CCA GGG		

※ 기름갈치꼬치 및 흑갈치꼬치는 일반적으로 기름치(Oilfish)로 알려져 있음.

7.2. PCR 반응액의 조성

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 73~표 75과 같다.

표 73. PCR 반응 조건(기름갈치꼬치)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 74. PCR 반응 조건(흑갈치꼬치)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	15초	30	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 75. PCR 반응 조건(아귀류)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	55°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

7.3. PCR 반응 결과

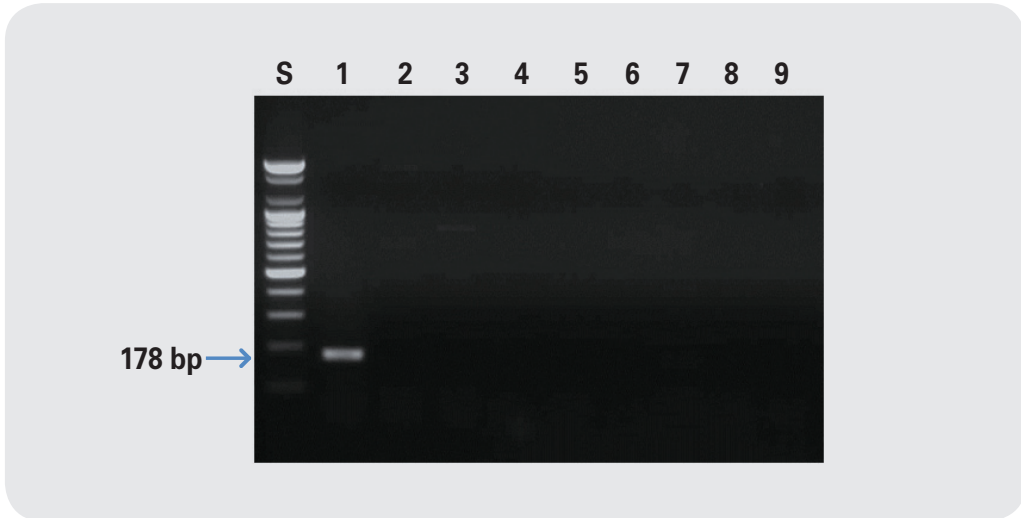


그림 79. 기름갈치꼬치 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 기름갈치꼬치, lane 2 ; 흑갈치꼬치, lane 3 ; 참다랑어, lane 4 ; 황다랑어, lane 5 ; 눈다랑어, lane 6 ; 청새치, lane 7 ; lane 8 ; 녹새치, lane 9 ; 돛새치

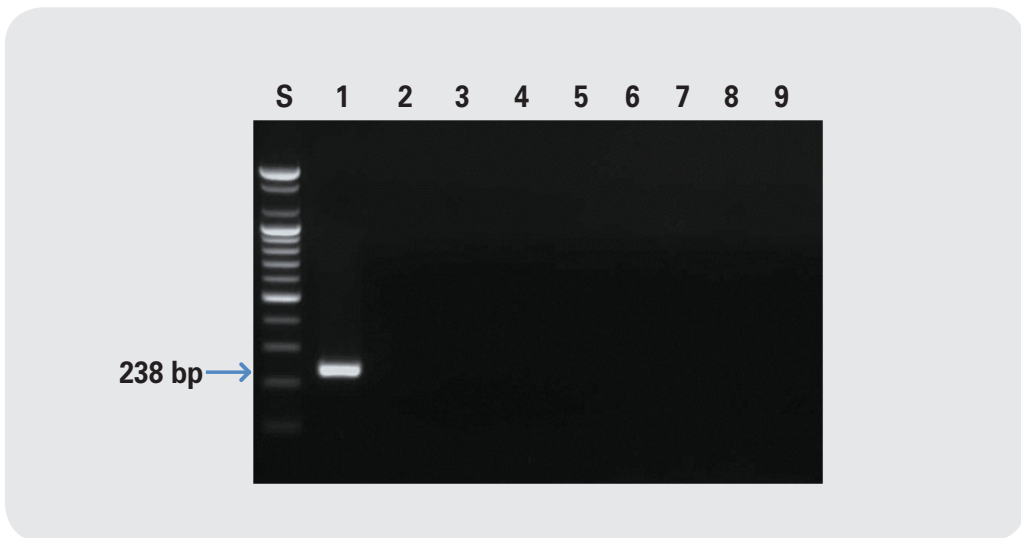


그림 80. 흑갈치꼬치 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 흑갈치꼬치, lane 2 ; 기름갈치꼬치, lane 3 ; 참다랑어, lane 4 ; 황다랑어, lane 5 ; 눈다랑어, lane 6 ; 청새치, lane 7 ; 황새치, lane 8 ; 녹새치, lane 9 ; 돛새치



그림 81. 아귀류 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 아귀, lane 2 ; 황아귀, lane 3 ; 까치복, lane 4 ; 은밀복, lane 5 ; 참복, lane 6 ; 검복, lane 7 ; 자주복, lane 8 ; 흑밀복, lane 9 ; 민밀복

8 갑각류(게, 새우, 바닷가재)

8.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

게 등 종 특이 프라이머는 아래 표 76에 명시된 것과 같다.

표 76. 게 및 새우 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
게	SFI12-Crab-F	TTA CAA TGT TGT AGT CAC AGC TCA T	174	COI
	SFI12-Crab-R	AGA GTT AAT GAA GGA GGA AGA AGT C		
새우	SFI12-Shrimp-F	CAC ATT ATT GGA TCC TAA GTC CA	231	16S rRNA
	SFI12-Shrimp-R	GGT ATC CTT ATA ATG CAG CAG TT		
바닷가재	SFI13-Lobster-F	AAG CCT CAT TGG TGA CGA TCA AAT	172	COI
	SFI13-Lobster-R	AAA TCT TAT ATT GTT CAT ACG GGG		

8. 2. PCR 반응액의 조성

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 77 ~ 표 79와 같다.

표 77. PCR 반응 조건(게)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	45°C	30초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 78. PCR 반응 조건(새우)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	15초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 79. PCR 반응 조건(바닷가재)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	15분	1	
변성(denaturation)	94°C	20초		
결합(annealing)	64°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

8.3. PCR 반응 결과

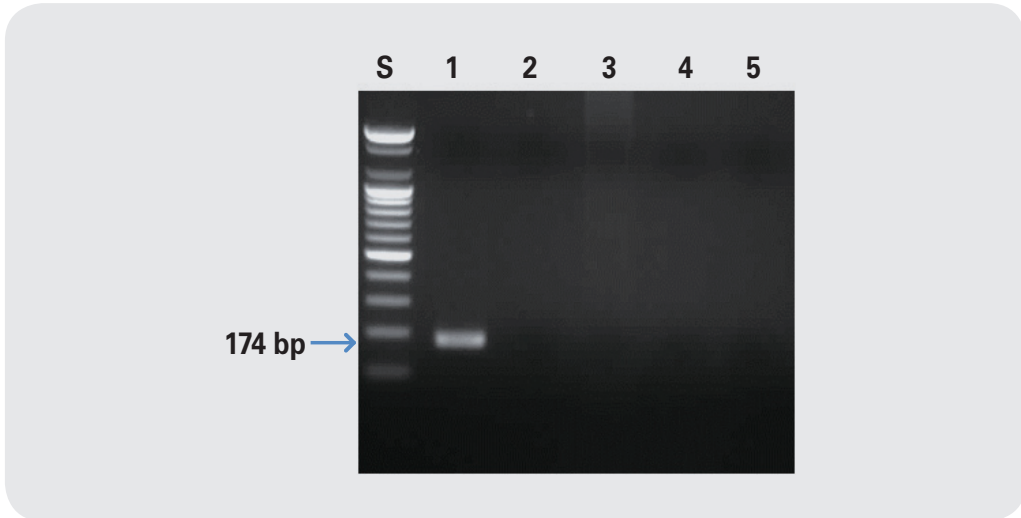


그림 82. 게 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 게, lane 2 ; 새우, lane 3 ; 가재, lane 4 ; 고등어, lane 5 ; 콩치

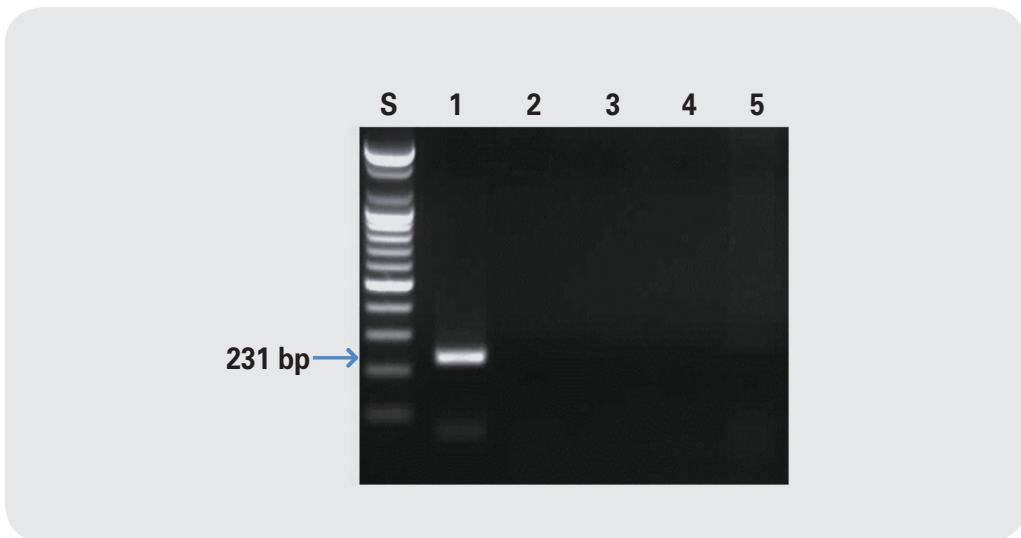


그림 83. 새우 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 새우, lane 2 ; 게, lane 3 ; 고등어, lane 4 ; 콩치, lane 5 ; 가재

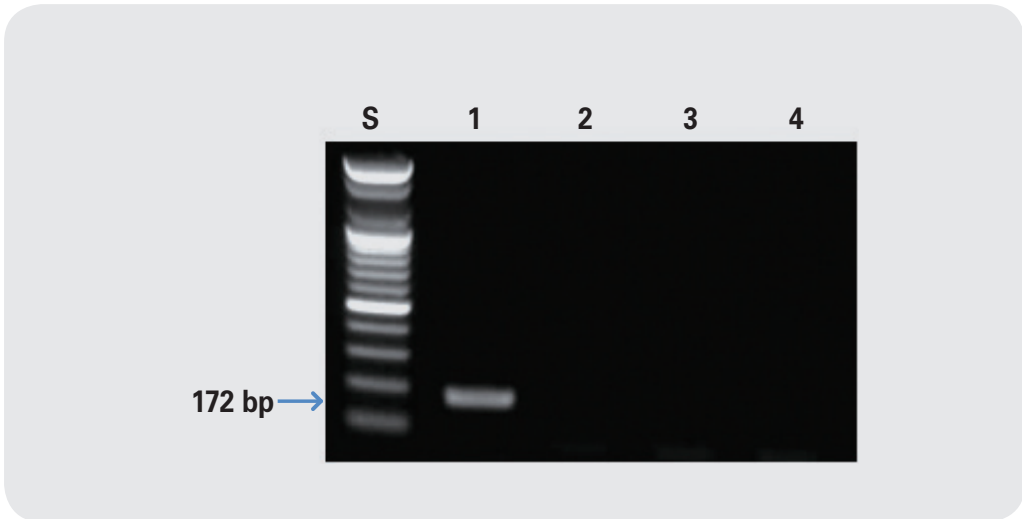


그림 84. 바닷가재 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 바닷가재, lane 2 ; 게, lane 3 ; 새우, lane 4 ; 킹크랩

9 패류(전복, 백합, 소라)

9.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

전복 등 종 특이 프라이머는 아래 표 80에 명시된 것과 같다.

표 80. 전복 등 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
전복	SFI12-Abalone-F	ACT CTG CTC TTA ACA TCA GGC GCA	141	COI
	SFI12-Abalone-R	TGA GAT TCC GGC TAG GTG TAG GGA G		
백합	SFI12-Baekhap-F	GGT GCT TCT TCT ATT ATG TCT GGT A	192	COI
	SFI12-Baekhap-R	TGT GTT AAA ATT ACG ATC TGT CAA A		
소라	SFI12-Sora-F	GAG CTT TAG TGA TTT GAT AAA T	161	16S rRNA
	SFI12-Sora-R	CAT AAA TTA ATG GAT TGA CTT CCA		

9.2. PCR 반응액의 조성

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 81 ~ 표 82와 같다.

표 81. PCR 반응 조건(전복 및 백합)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	55°C	15초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 82. PCR 반응 조건(소라)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	55°C	15초	30	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

9.3. PCR 반응 결과

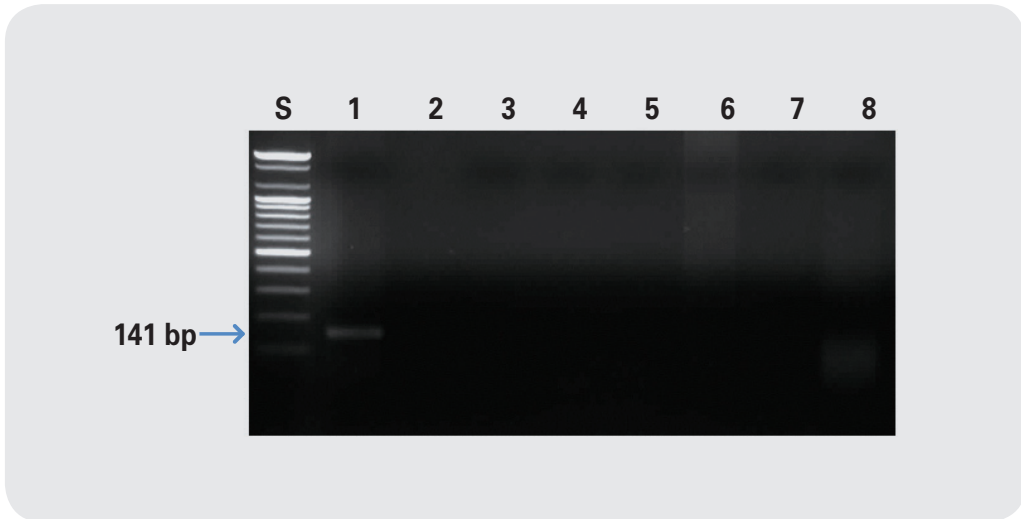


그림 85. 전복 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 전복, lane 2 ; 백합, lane 3 ; 가리비, lane 4 ; 키조개, lane 5 ; 논우렁이, lane 6 ; 백고둥, lane 7 ; 다슬기, lane 8 ; 홍합

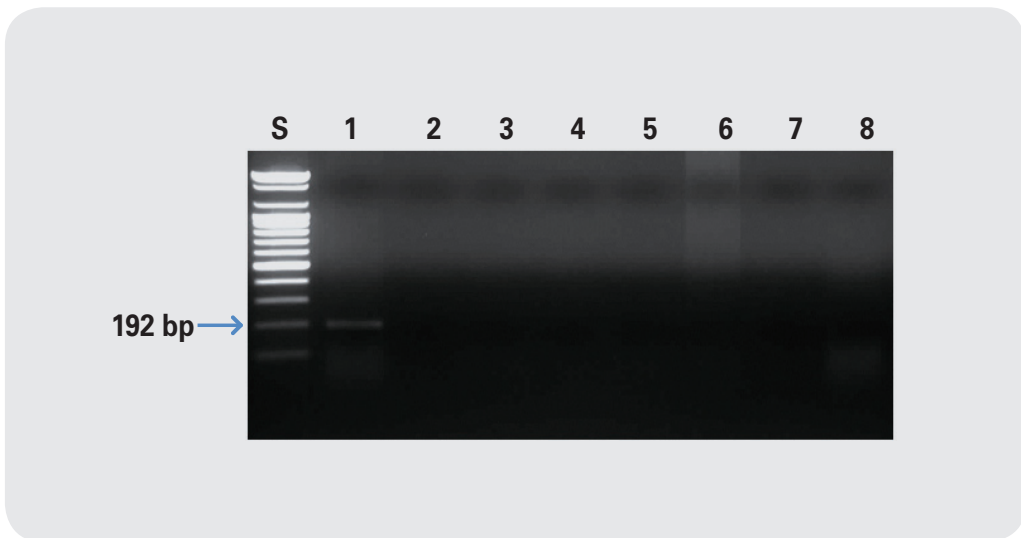


그림 86. 백합 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 백합, lane 2 ; 전복, lane 3 ; 가리비, lane 4 ; 키조개, lane 5 ; 논우렁이, lane 6 ; 백고둥, lane 7 ; 다슬기, lane 8 ; 홍합

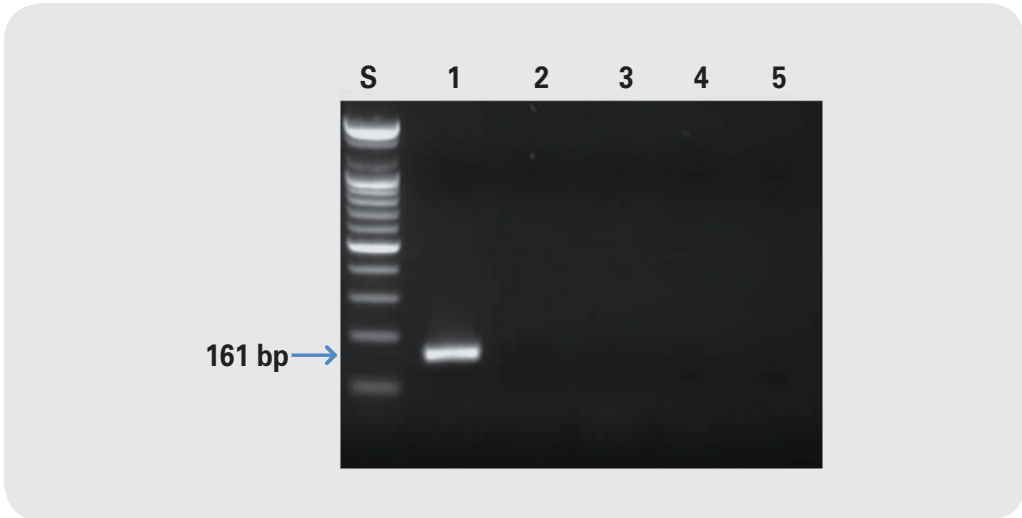


그림 87. 소라 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 소라, lane 2 ; 전복, lane 3 ; 백합, lane 4 ; 가리비, lane 5 ; 키조개

10 두족류(오징어, 한치, 주꾸미, 낙지)

10.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

오징어 등 종 특이 프라이머는 아래 표 83에 명시된 것과 같다.

표 83. 오징어 등 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
오징어	SF14-Cuttle-F	GTA GTT ACT GGC TCA CGG ATT CAT	239	COI
	SF14-Cuttle-R	AAA TTC CTA GAT AAA GGG GGA TA		
한치	SF14-S-F	GTA GTA ACT GCT CAC GGT TTT ATT	239	COI
	SF14-S-R	AGG TTT CTA GAT AGA GGG GGG TA		
주꾸미	SF12-Jjuccu-F	GCT CAT ATA GGA CCC TCC GTC G	212	COI
	SF12-Jjuccu-R	GTG ATT GCA CCA GCA AGT ACT GG		
낙지	SF12-Minor-F	CTG AAT TAG GTC AAC CAG GTT CAC	217	COI
	SF12-Minor-R	AAG GTT AGG GAA GGA GGA AGA AGT C		

오징어, 한치 프라이머 정보 및 PCR조건 개선(14')

10.2. PCR 반응액의 조성

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 84 ~ 표 87와 같다.

표 84. PCR 반응 조건(오징어)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	10분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	50°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 85. PCR 반응 조건(한치)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	56°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 86. PCR 반응 조건(주꾸미)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	50°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 87. PCR 반응 조건(낙지)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	58°C	15초	30	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	10분	1	
보존	4°C	-	-	-

10. 3. PCR 반응 결과

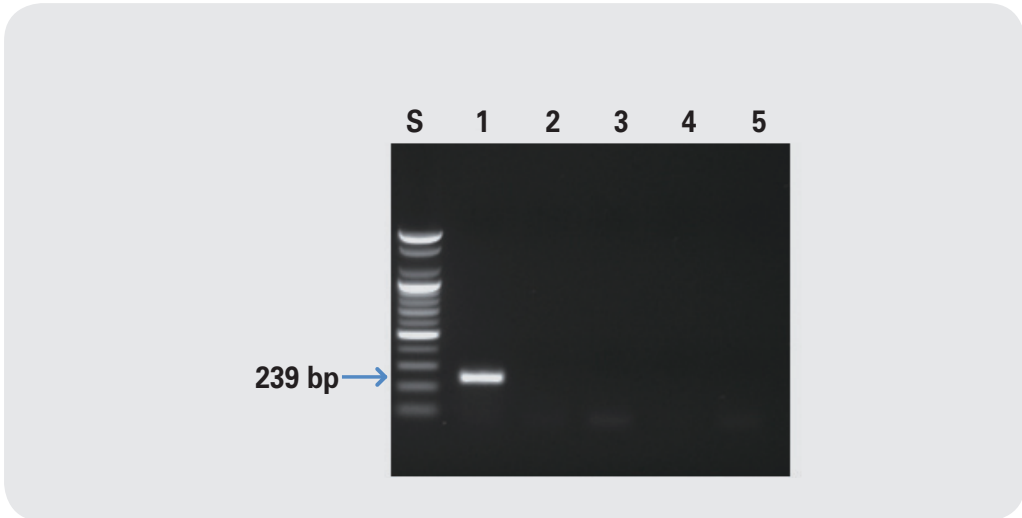


그림 88. 오징어 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 오징어, lane 2 ; 한치, lane 3 ; 주꾸미, lane 4 ; 낙지, lane 5 ; 문어

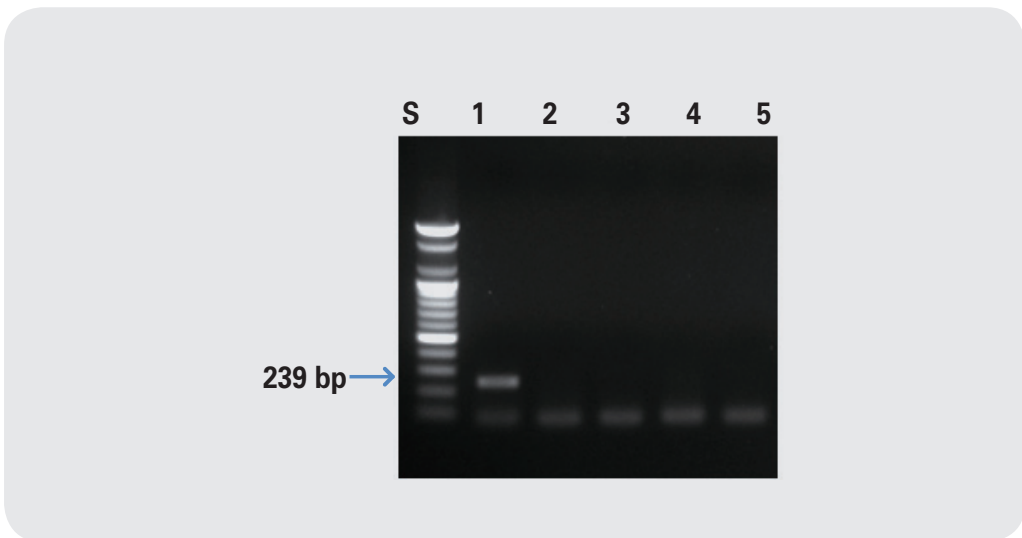


그림 89. 한치 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 한치, lane 2 ; 오징어, lane 3 ; 주꾸미, lane 4 ; 낙지, lane 5 ; 문어

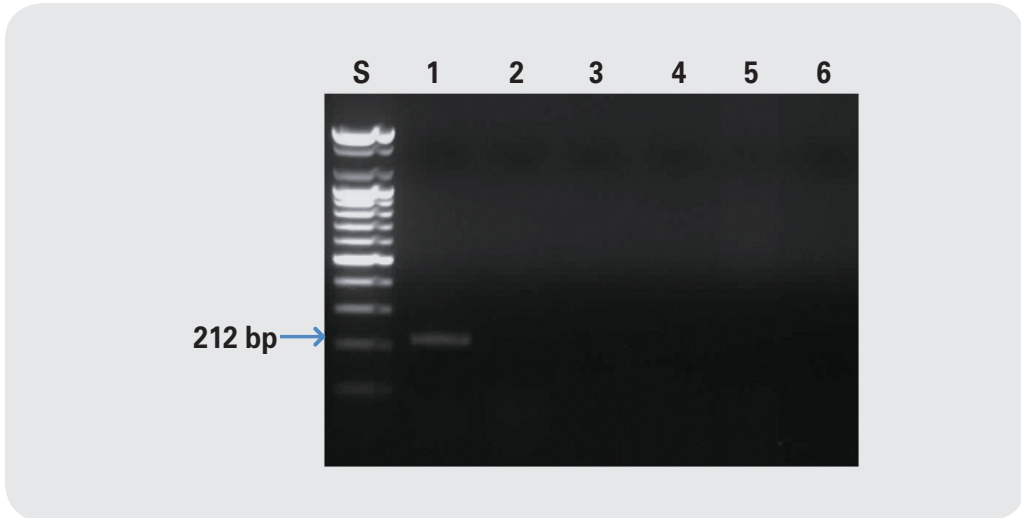


그림 90. 주꾸미 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 주꾸미, lane 2 ; 오징어, lane 3 ; 낙지, lane 4 ; 한치, lane 5 ; 꼴뚜기, lane 6 ; 문어

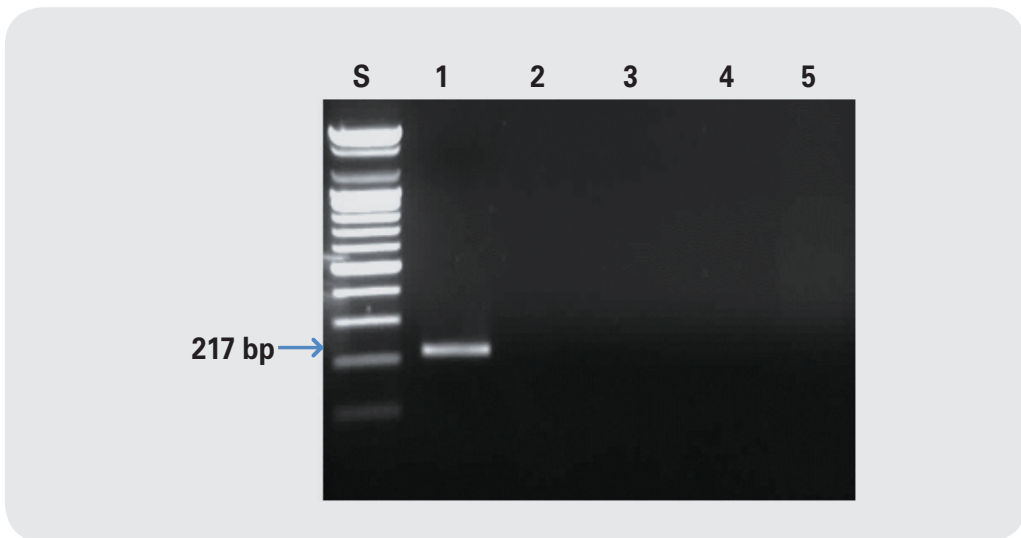
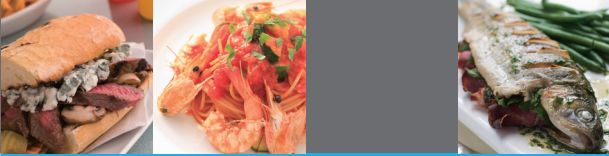
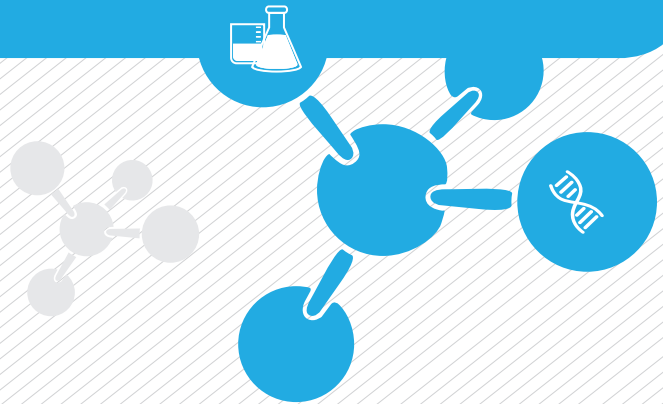


그림 91. 낙지 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 낙지, lane 2 ; 오징어, lane 3 ; 주꾸미, lane 4 ; 한치, lane 5 ; 꼴뚜기



종 특이 프라이머를 이용한 유전자 증폭(PCR)

II - II . 식물성 원료



II - II . 식물성 원료

1 곡류(쌀, 밀, 메밀)

1.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

쌀 등 종 특이 프라이머는 아래 표 88에 명시된 것과 같다.

표 88. 쌀 등 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
쌀	SFI11-Ric-F	CAA CGC AAC GTC TTG TAT GG	123	센트로미어
	SFI11-Ric-R	TGA ACC CTG AGT TCC TCT CG		
밀	SFI11-wheat-ITS-F	TCG GGA TGC GGC A	111	ITS ¹⁰
	SFI11-wheat-ITS-R	ATT GAT AAA GCG AGG A		
	PRP8F	GCA CCC ATG ATG AGT ACT ACT ATT CTG TA	117	GMO ¹¹
	PRPds6R	TGC AAA CGA ATA AAA GCA TGT G		
메밀	SFI11-Buc-F	GAG CCC TCT CGT AGA GTC CG	138	알러젠 관련
	SFI11-Buc-R	GGA GTA GGA AGG AAG CAA GAG		

¹⁰ ITS (Internal transcribed spacer), ¹¹ 논문참조 밀 종 특이 프라이머: target gene: proline-rich protein (PRP), An Endogenous Reference Gene of Common and Durum Wheat for Detection of Genetically Modified Wheat Food Hyg. Saf. Sci. Vol. 53, No. 5 pp.203-210 (2012).

1.2. PCR 반응액의 조성

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 89 ~ 표 92와 같다.

표 89. PCR 반응 조건(쌀)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	2분	1	
변성(denaturation)	94°C	10초		
결합(annealing)	60°C	10초	32	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	3분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 90. PCR 반응 조건(밀-ITS)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	10분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	50°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 91. PCR 반응 조건(밀-GMO)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	10분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	35초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 92. PCR 반응 조건(메밀)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	12분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	55°C	20초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	2분	1	
보존	4°C	-	-	-

1.3. PCR 반응 결과

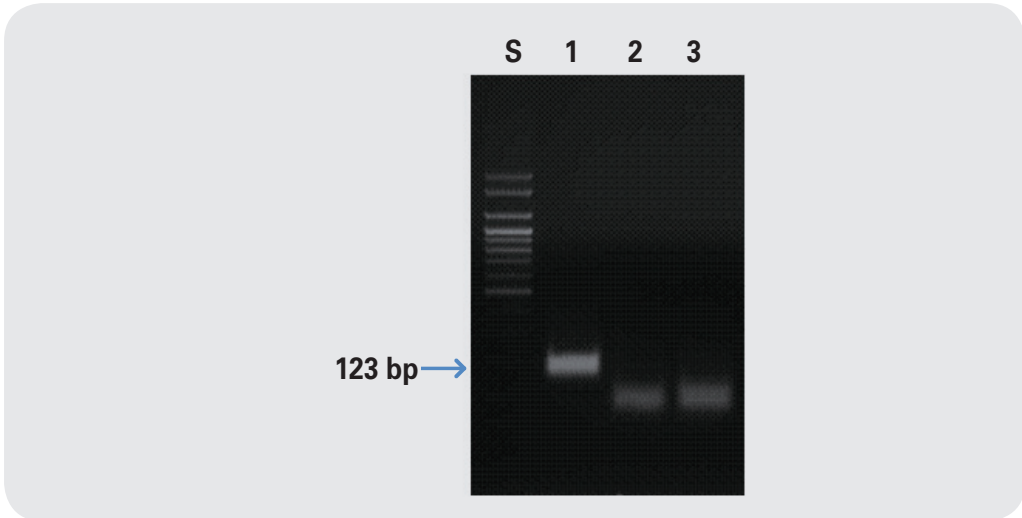


그림 92. 쌀 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 쌀, lane 2 ; 밀, lane 3 ; 메밀

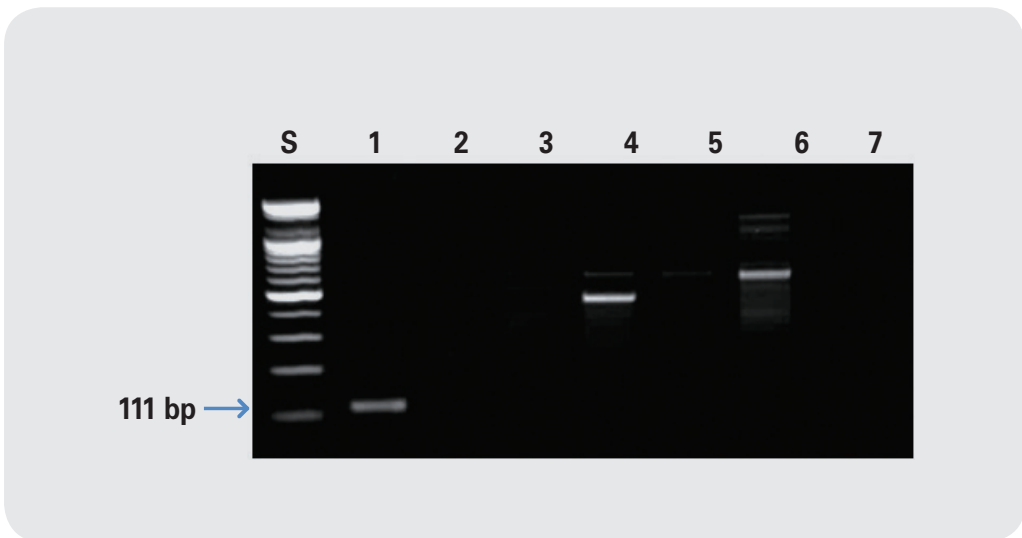


그림 93. 밀(ITS) 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 밀, lane 2 ; 찹쌀, lane 3 ; 현미, Lane 4 ; 점정현미, lane 5 ; 찰현미, Lane 6 ; 검정찰현미, lane 7 ; 메밀

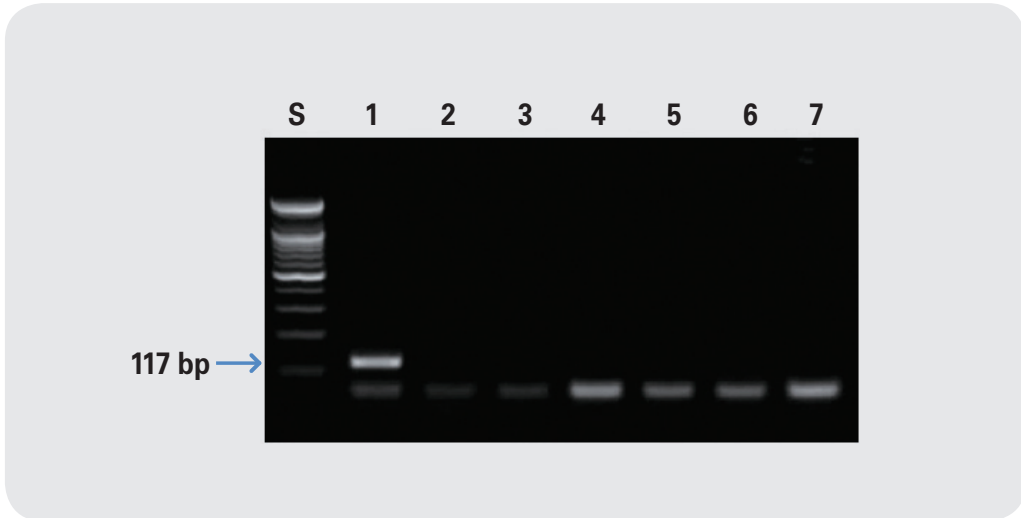


그림 94. 밀(GMO) 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 밀, lane 2 ; 찹쌀, lane 3 ; 현미, Lane 4 ; 점정현미, lane 5 ; 찰현미, Lane 6 ; 검정찰현미, lane 7 ; 메밀

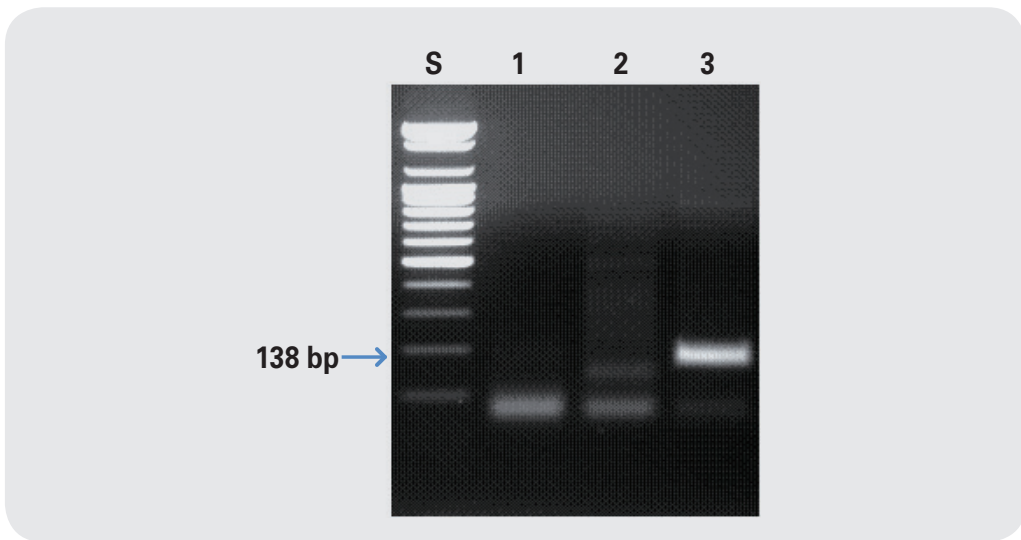


그림 95. 메밀 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 쌀, lane 2 ; 밀, lane 3 ; 메밀

2 서류(고구마 및 타피오카)

2.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

고구마 및 타피오카 종 특이 프라이머는 아래 표 93에 명시된 것과 같다.

표 93. 고구마 및 타피오카 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
고구마	SFI12-ib286-F	AGC CAC TCC AAC AGC ACA TA	105	SSR
	SFI12-ib286-R	GGT TTC CCA ATC AGC AAT TC		
타피오카	SFI12-SSRY26-F	TGC TAA TTG CAG GAA ATA GGA T	121	SSR
	SFI12-SSRY26-R	GCA GCT TTT TAG CAT AAC AAT CAA		

2.2. PCR 반응액의 조성

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 94 ~ 표 95와 같다.

표 94. PCR 반응 조건(고구마)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	55°C	30초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 95. PCR 반응 조건(타피오카)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	60초		
결합(annealing)	55°C	60초	35	
신장(extension)	72°C	120초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

※ 단, PCR 반응액 조제시 MgCl₂의 농도는 2.5 mM로 함.

2.3. PCR 반응 결과

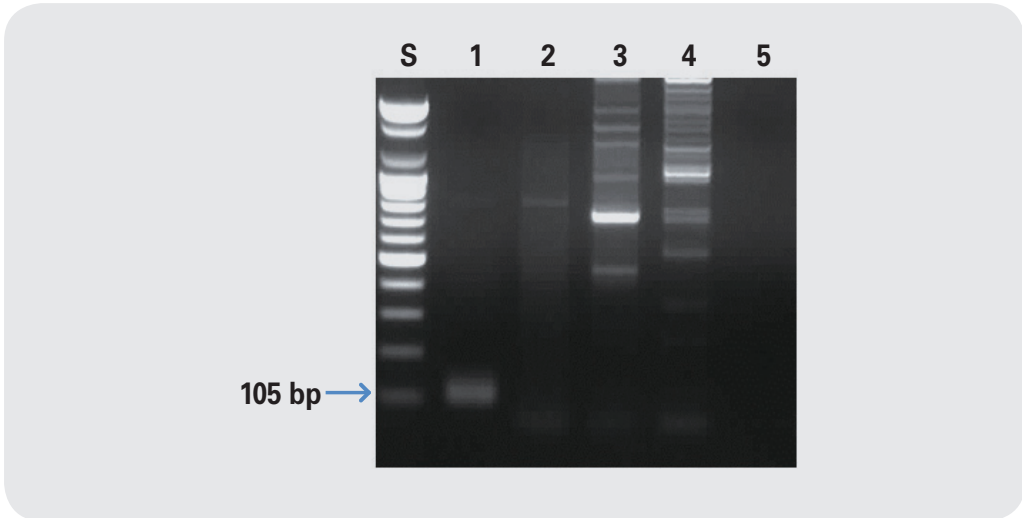


그림 96. 고구마 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 고구마, lane 2 ; 밀, lane 3 ; 옥수수, lane 4 ; 감자, lane 5 ; 도토리

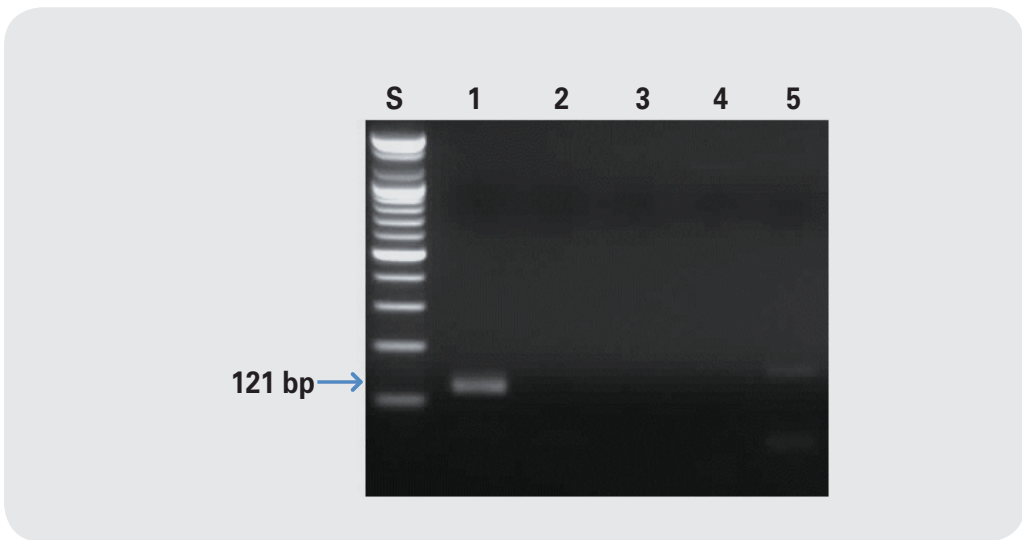


그림 97. 타피오카 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 타피오카, lane 2 ; 고구마, lane 3 ; 감자, lane 4 ; 현미, lane 5 ; 옥수수

3 콩류(검정콩, 녹두, 팥)

3.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

검정콩 등 종 특이 프라이머는 아래 표 96에 명시된 것과 같다.

표 96. 검정콩 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
검정콩	SFI12-Blackbe-F	CGT AAC TGC ACA GAG CTT AAG TTA TTA	297	<i>F3'H</i> ¹²
	SFI12-Blackbe-R	AGT CCA ATG TGG CTT AAC TTT TAG A		
녹두	SFI13-Mung bean-F	KSG CAA CAA CTT GTG TGA	201	<i>ITS</i>
	SFI13-Mung bean-R	GAT GCA AGA GCC GAG ATA		
팥	SFI13-Red bean-F	TCA CCT CTC CAG GCA AAA C	202	<i>ITS</i>
	SFI13-Red bean-R	ACA CCA AGT ATC GCA TTT		

¹² *F3'H* (*Flavonoid 3'Hydroxylase*)

3.2. PCR 반응액의 조성

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 97 ~ 표 99와 같다.

표 97. PCR 반응 조건(검정콩)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	65°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 98. PCR 반응 조건(녹두)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	20초		
결합(annealing)	65°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 99. PCR 반응 조건(팥)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	45초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

3.3. PCR 반응 결과

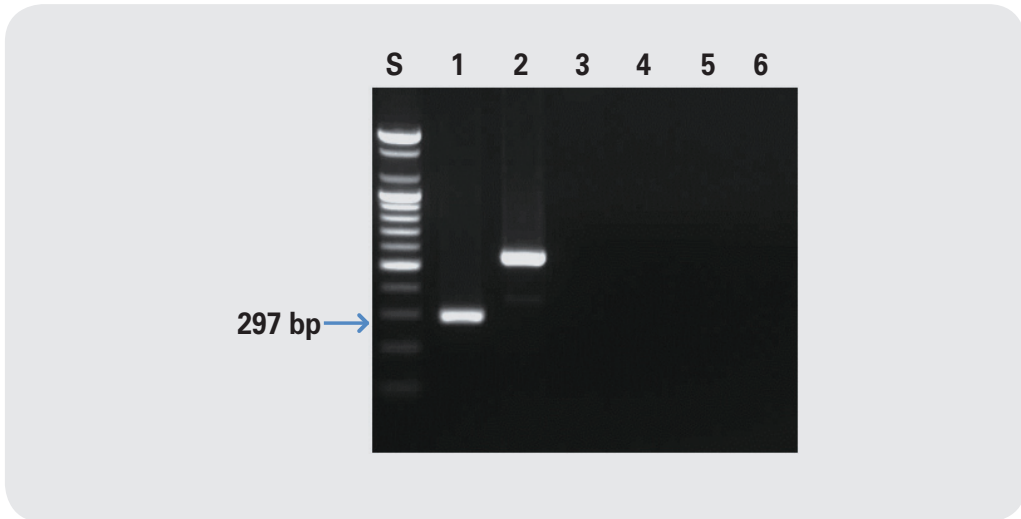


그림 98. 검정콩 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 검정콩, lane 2 ; 흰콩, lane 3 ; 강남콩, lane 4 ; 팥, lane 5 ; 흑미, lane 6 ; 찰흑미

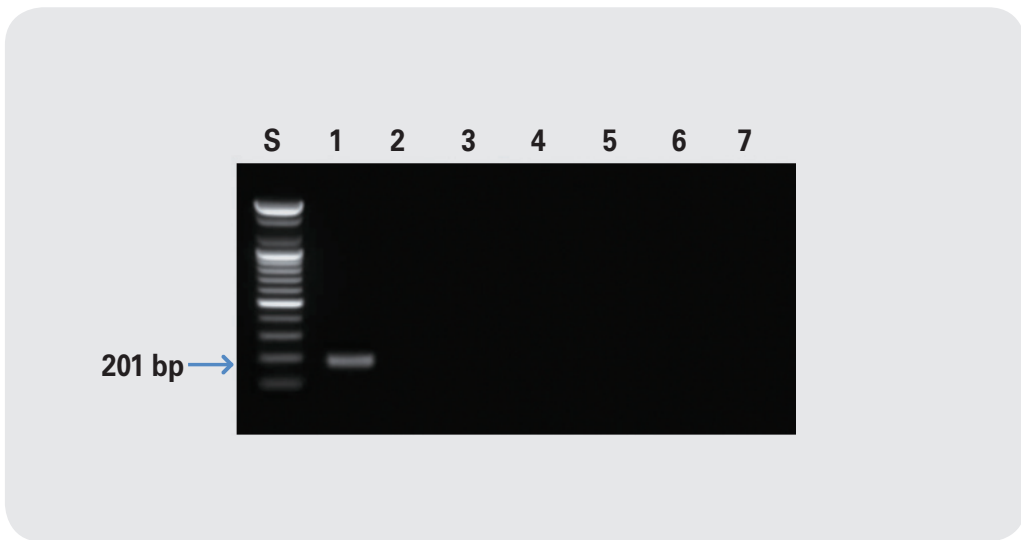


그림 99. 녹두 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 녹두, lane 2 ; 옥수수 lane 3 ; 감자, lane 4 ; 고구마, Lane 5 ; 팥, lane 6 ; 밀, lane 7 ; 완두

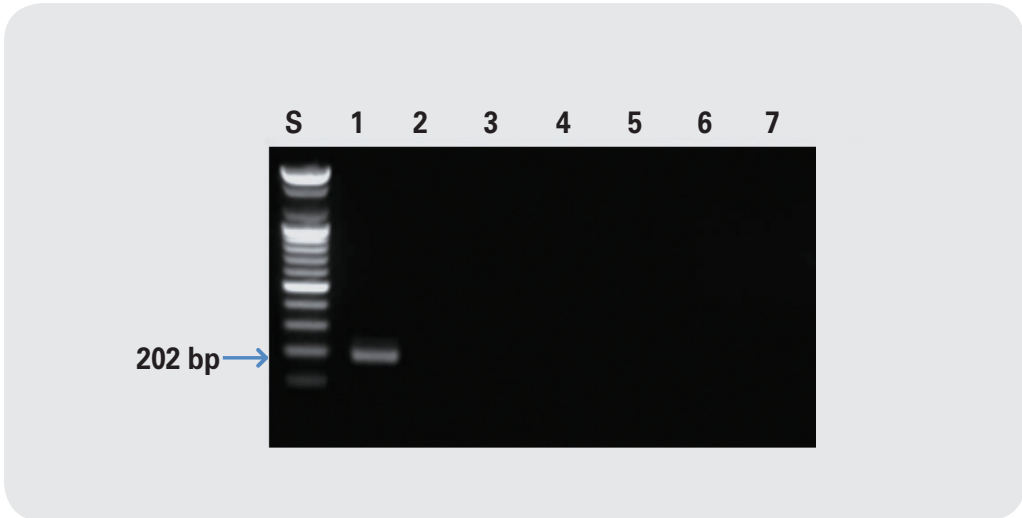


그림 100. 팥 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 팥, lane 2 ; 옥수수, lane 3 ; 감자, lane 4 ; 고구마, Lane 5 ; 녹두, lane 6 ; 밀, lane 7 ; 완두

4 견과 종실류(땅콩, 참깨, 들깨, 올리브, 아몬드, 해바라기, 밤, 잣, 호두)

3.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

땅콩 등 종 특이 프라이머는 아래 표 100에 명시된 것과 같다.

표 100. 땅콩 등 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
땅콩	SFI12-PM53-F	CCT ATC CTA TGG GTC ACT AGC C	120	SSR ¹³
	SFI12-PM53-R	GCT TGT GCT CAT CTT GAG TTT T		
참깨	SFI12-ZM25-F	CCT GAA CCT TCT CTC TCT CTC	220	SSR
	SFI12-ZM25-R	ACT GAC AGT ACG AAT TCA CCA		
들깨	SFI12-GBPFM75-F	CAT AGT TCA TGG CTT CCA CC	150	SSR
	SFI12-GBPFM75-R	CCT GAG CAC AGA AAC AGA TCA		
올리브	SFI12-UD099014-F	TTC CCC TTA TTC AAT GTG AAC C	103	SSR
	SFI12-UD099014-R	ACT GCA GTT TGG GAA TCA AA		
아몬드	SFI12-Almond-F	AAA GAA ACC ACT AAA GCA GCT ATG	103	CYP79 D16
	SFI12-Almond-R	CAT AGA GGG TGT GCA CAT GG		
해바라기	SFI12-Sunflow-F	GCC GGG ACC GAA GCA TTT GT	104	ITS2 ¹⁴
	SFI12-Sunflow-R	ATT TTG TCA ACA TGA CAT CC		
밤	SFI13-Chestnut-F	TAG AAC ATT TTG CCG AAG TC	181	matK ¹⁵
	SFI13-Chestnut-R	CAT TSC CAT AAA TTG ACA AGG		
잣	SFI13-Pine nut-F	TTC TCG TCG AAA TTC ACT GA	211	matK
	SFI13-Pine nut-R	GGA TAA TTG ATG AGA ACA GAC		
호두	SFI13-Juglans-F	CTT TTT GAG CGA ATT TA	245	matK
	SFI13-Juglans-R	TAT ATC TAA GAA GGG TT		

¹³ SSR (Short Sequence Repeat), ¹⁴ ITS2 (Internal transcribed spacer 2), ¹⁵ matK (Maturase K)

4.2. PCR 반응 조건

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 101 ~ 표 108과 같다.

표 101. PCR 반응 조건(땅콩)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	67°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 102. PCR 반응 조건(참깨)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	67°C	20초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 103. PCR 반응 조건(들깨)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	65°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 104. PCR 반응 조건(올리브)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	55°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 105. PCR 반응 조건(아몬드)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 106. PCR 반응 조건(해바라기)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 107. PCR 반응 조건(밤)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	20초		
결합(annealing)	62°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 108. PCR 반응 조건(잣, 호두)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

4.3. PCR 반응 결과

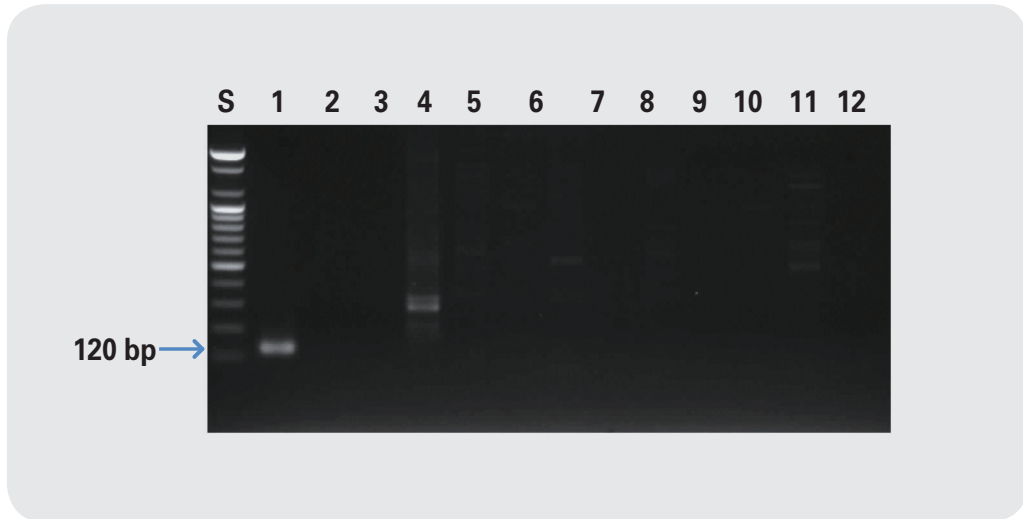


그림 101. 땅콩 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 땅콩, lane 2 ; 올리브, lane 3 ; 포도, lane 4 ; 옥수수, lane 5 ; 들깨, lane 6 ; 호박, lane 7 ; 콩, lane 8 ; 현미, lane 9 ; 해바라기, lane 10 ; 야자, lane 11 ; 고추, lane 12 ; 참깨

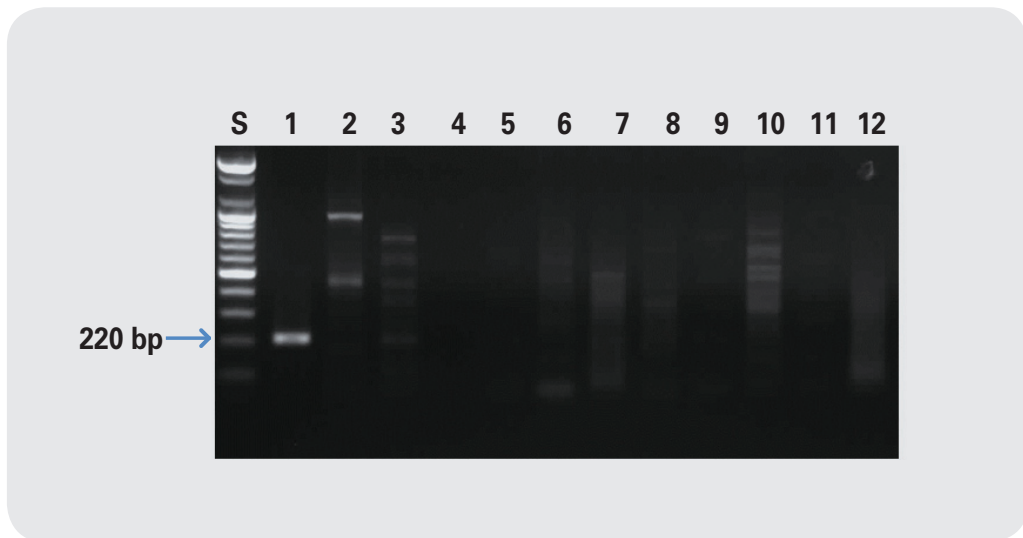


그림 102. 참깨 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 참깨, lane 2 ; 고 추, lane 3 ; 호박, lane 4 ; 올리브, lane 5 ; 포도, lane 6 ; 옥수수, lane 7 ; 들깨, lane 8 ; 콩, lane 9 ; 현미, lane 10 ; 해바라기, lane 11 ; 야자, lane 12 ; 땅콩

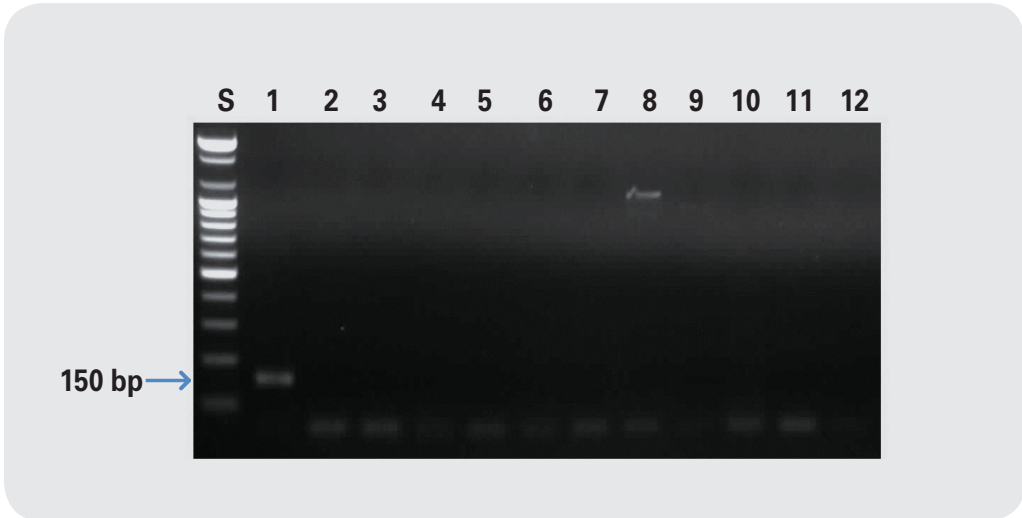


그림 103. 들깨 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 들깨, lane 2 ; 올리브, lane 3 ; 포도, lane 4 ; 옥수수, lane 5 ; 참깨, lane 6 ; 호박, lane 7 ; 콩, lane 8 ; 현미, lane 9 ; 해바라기, lane 10 ; 땅콩, lane 11 ; 아자, lane 12 ; 고추

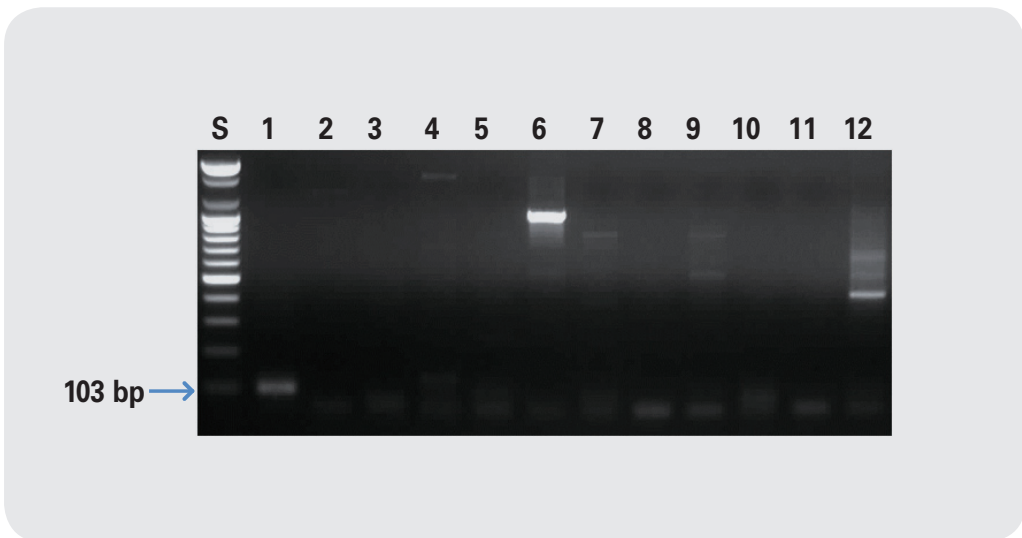


그림 104. 올리브 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 올리브, lane 2 ; 포도, lane 3 ; 옥수수, lane 4 ; 들깨, lane 5 ; 참깨, lane 6 ; 호박, lane 7 ; 콩, lane 8 ; 현미, lane 9 ; 해바라기, lane 10 ; 땅콩, lane 11 ; 아자, lane 12 ; 고추



그림 105. 아몬드 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 아몬드, lane 2 ; 살구, lane 3 ; 복숭아, lane 4 ; 앵두, lane 5 ; 땅콩, lane 6 ; 올리브, lane 7 ; 체리, lane 8 ; 자두, lane 9 ; 블루베리, lane 10 ; 수박, lane 11 ; 호박

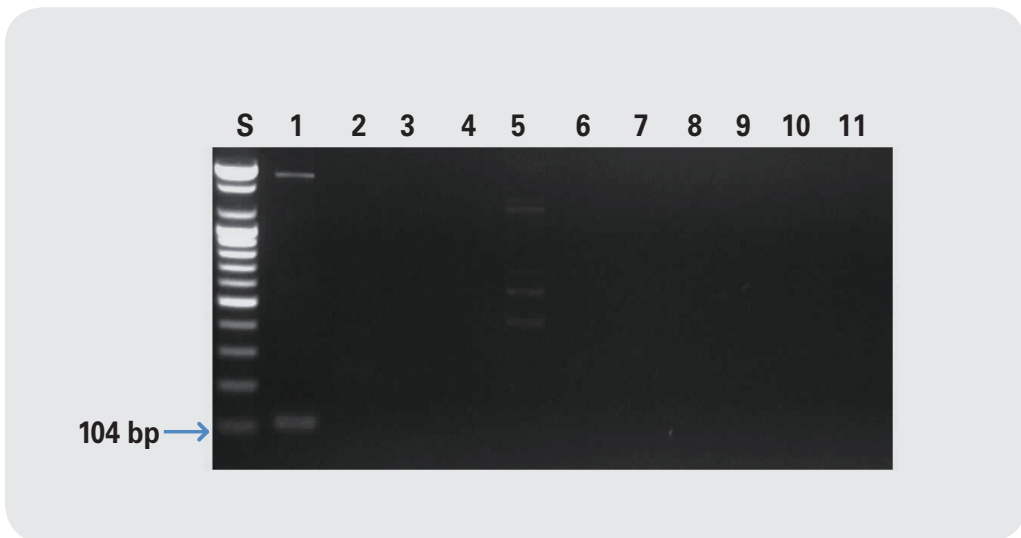


그림 106. 해바라기 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 해바라기, lane 2 ; 포도, lane 3 ; 옥수수, lane 4 ; 참깨, lane 5 ; 들깨, lane 6 ; 호박, lane 7 ; 콩, lane 8 ; 현미, lane 9 ; 땅콩, lane 10 ; 아자, lane 11 ; 고추

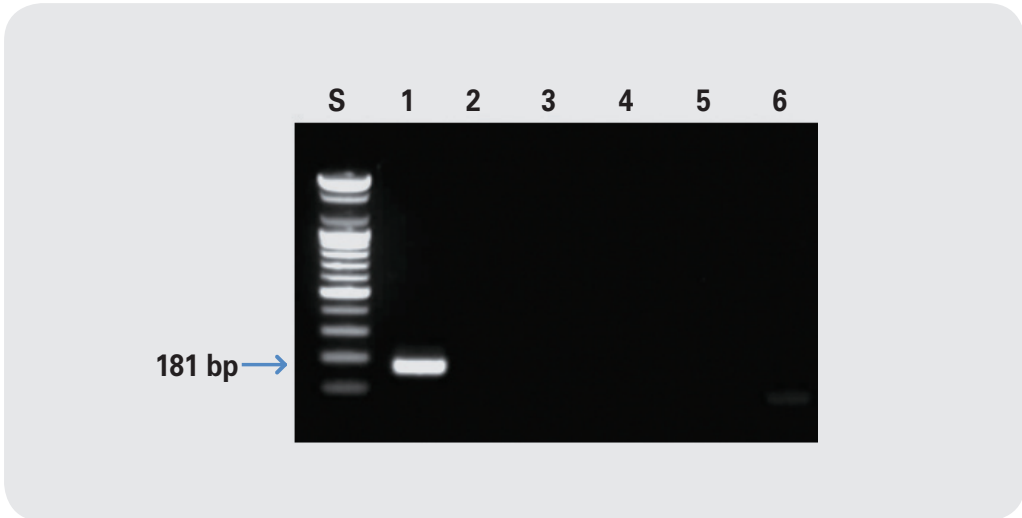


그림 107. 밤 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 밤, lane 2 ; 고구마, lane 3 ; 울금, lane 4 ; 호두, lane 5 ; 잣, lane 6 ; 도토리

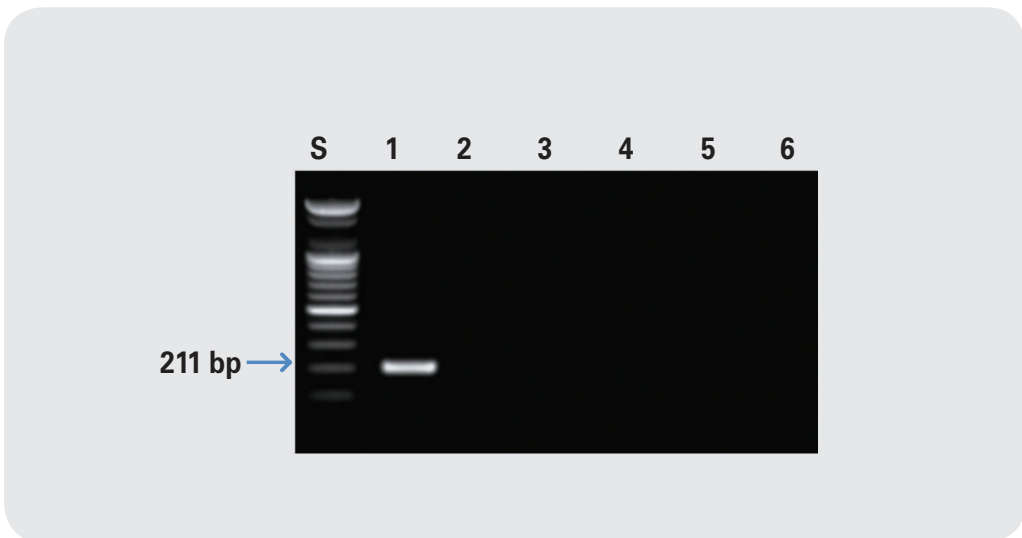


그림 108. 잣 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 잣, lane 2 ; 호두, lane 3 ; 포도, lane 4 ; 호박, lane 5 ; 해바라기, lane 6 ; 땅콩

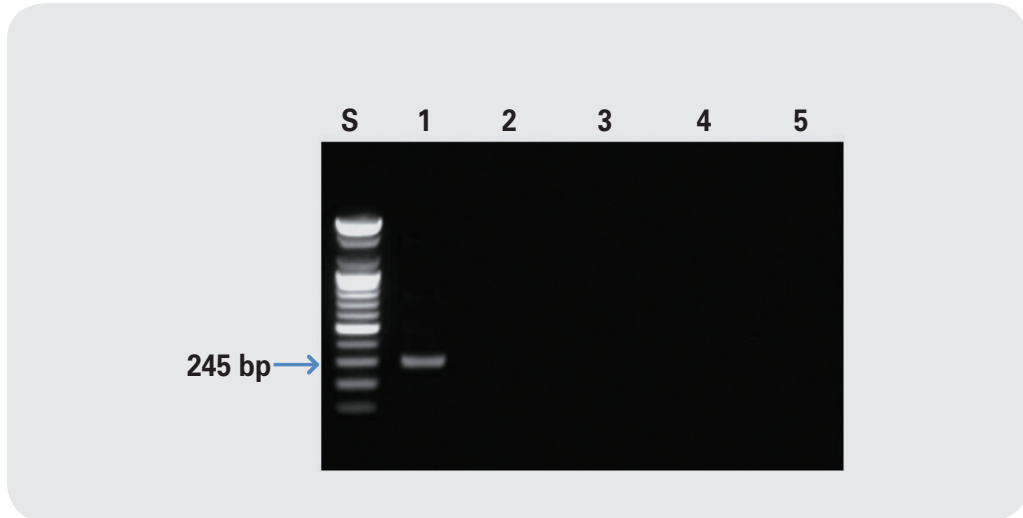


그림 109. 호두 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 호두, lane 2 ; 잣, lane 3 ; 아몬드, lane 4 ; 땅콩, lane 5 ; 밤

5 과실류(복숭아, 딸기, 앵두, 포도, 대추, 복분자류, 복분자, 라즈베리, 블랙라즈베리, 블루베리, 블랙초크베리, 아사이베리)

5.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

복숭아 등 종 특이 프라이머는 아래 표 109에 명시된 것과 같다.

표 109. 복숭아 등 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
복숭아	SFI12-UDP96015-F	CCT TGA CCT ATT TGT TCG TCA	174	SSR
	SFI12-UDP96015-R	ACT AGT CAA ACA ATC CCC CG		
딸기	SFI12-ARSFL27-F	GCG AAG CCC AGA CTC AAT TAC C	164	SSR
	SFI12-ARSFL27-R	GCG TAC CCG CCA TTG TTA C		
앵두	SFI12-Sweetch-F	ATC CTT GGC CAA CAC TTC AG	236	ITS1
	SFI12-Sweetch-R	GAG AGT CGT TTT AGA CTT TAC ATT G		
포도	SFI14-Grape-F	CCA AAG AAA TCA ATT TCC A	228	matK
	SFI14-Grape-R	ACC ATA AGA TTG TCT GAA AAT C		
대추	SFI13-date-F	AAA CCG CGC CAA GGA ACA CCT	196	ITS
	SFI13-date-R	GAT GGT TCA CGG GAT TCT GC		
복분자류 (나무딸기류)	SFI14-Rubus-F	TAC AGC TCC ACG TCC CTT T	146	ITS
	SFI14-Rubus-R	GGA ACG CTC TTT CTT TCA A		
복분자	SFI14-coreanus-F	CCC CTG TAC TAT TAA AAT TAA	157	psbA -trnH ¹⁶
	SFI14-coreanus-R	AAA TTA GTA TTT TAC TAG TAT TTC		
라즈베리	SFI14-raspberry-F	GAA ATT TCA AAT ATT TAC	120	psbA -trnH
	SFI14-raspberry-R	TTT ACT AAT TTC GGG TG		

식품 중 사용원료 진위 판별 지침서
- 유전자 분석법 활용 -

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
블랙라즈베리	SFI14-blackraspberry-F	ATT AAA AAT GTA CTA TAT T	196	<i>psbA-trnH</i>
	SFI14-blackraspberry-R	GAT CAA GAG ATT TGG AT		
블루베리	SFI14-blueberry-F	AAC CTT TCT AGA ACG AAT CTT	221	<i>matK</i>
	SFI14-blueberry-R	GGT TGA GCC CAT ATG G		
블랙초크베리	SFI14-Aronia-F	ACA TTT ATT ACG ACG C	289	<i>matK</i>
	SFI14-Aronia-R	GAA CCA TAA GAT GGC		
아사이베리	SFI14-acaiberry-F	GCT GGA TCC AA GAT GTT C	291	<i>matK</i>
	SFI14-acaiberry-R	GAA AAT AAT TAC GGC GC		

16 *psbA-trnH* (Intergenic spacer)

포도 프라이머 정보 및 PCR조건 개선(14')

5.2. PCR 반응 조건

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 110 ~ 표 121와 같다.

표 110. PCR 반응 조건(복숭아)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	55°C	20초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 111. PCR 반응 조건(딸기)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	53°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 112. PCR 반응 조건(앵두)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	61°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 113. PCR 반응 조건 (포도)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	52°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 114. PCR 반응 조건 (대추)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	68°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 115. PCR 반응 조건 (복분자류)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	50°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 116. PCR 반응 조건(복분자)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	46°C	30초	40	
신장(extension)	72°C	20초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 117. PCR 반응 조건(라즈베리)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	42°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	20초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 118. PCR 반응 조건(블랙라즈베리)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	44°C	30초	40	
신장(extension)	72°C	20초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 119. PCR 반응 조건 (블루베리)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	50°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 120. PCR 반응 조건 (블랙초크베리)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	40°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 121. PCR 반응 조건 (아사이베리)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	51°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

5.3. PCR 반응 결과

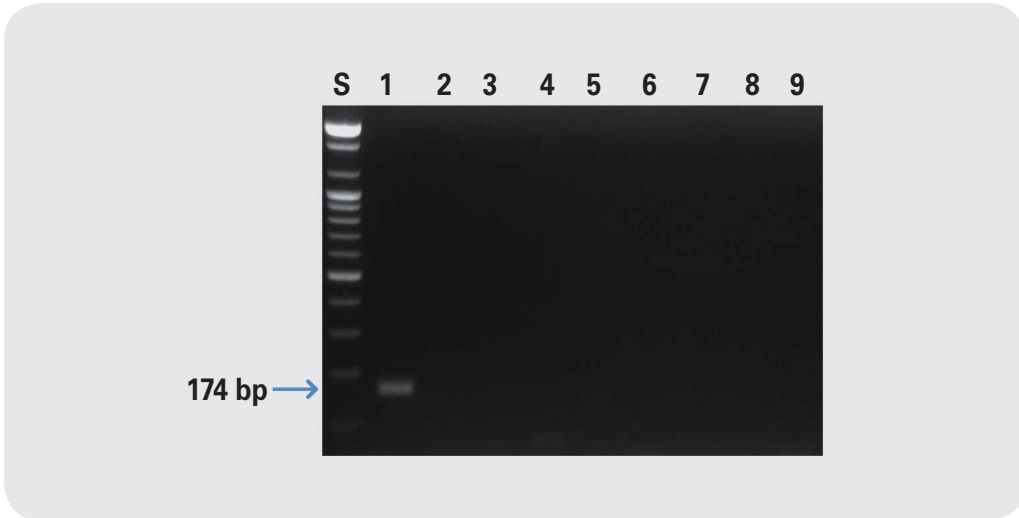


그림 110. 복숭아 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 복숭아, lane 2 ; 아몬드, lane 3 ; 살구, lane 4 ; 앵두, lane 5 ; 땅콩, lane 6 ; 올리브, lane 7 ; 체리, lane 8 ; 자두, lane 9 ; 블루베리

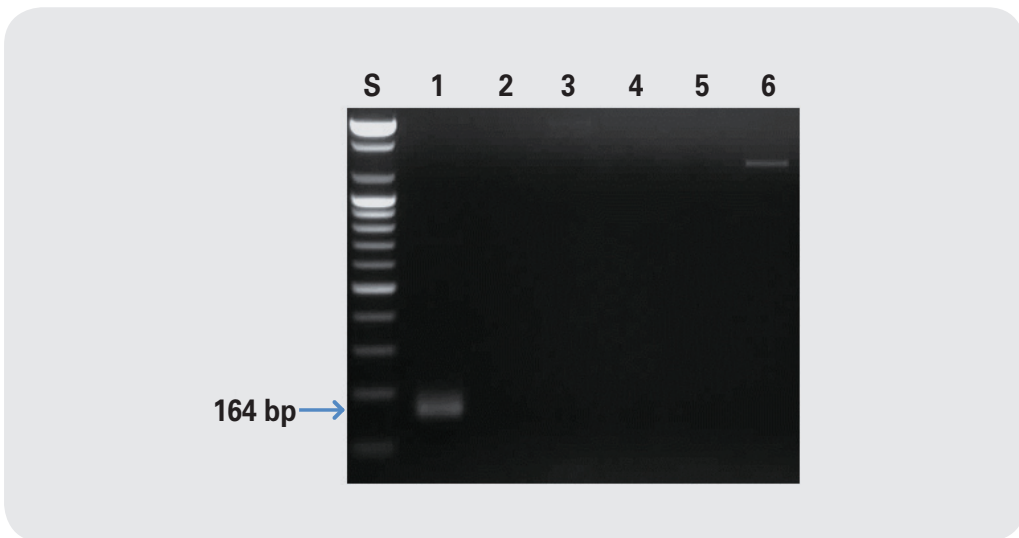


그림 111. 딸기 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 딸기, lane 2 ; 복분자, lane 3 ; 블루베리, lane 4 ; 포도, lane 5 ; 체리, lane 6 ; 당근

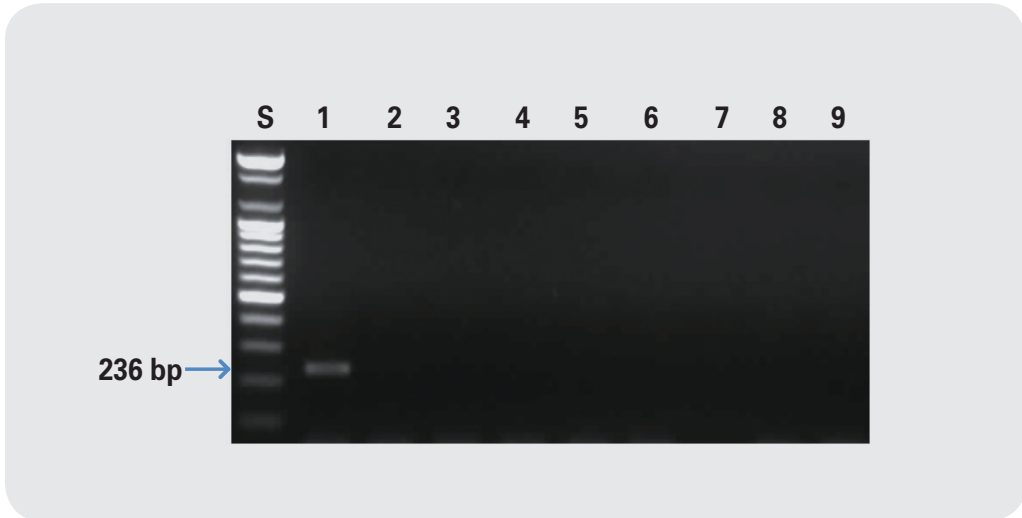


그림 112. 애플 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 애플, lane 2 ; 딸콩, lane 3 ; 복숭아, lane 4 ; 살구, lane 5 ; 아몬드, lane 6 ; 올리브, lane 7 ; 체리, lane 8 ; 자두, lane 9 ; 블루베리

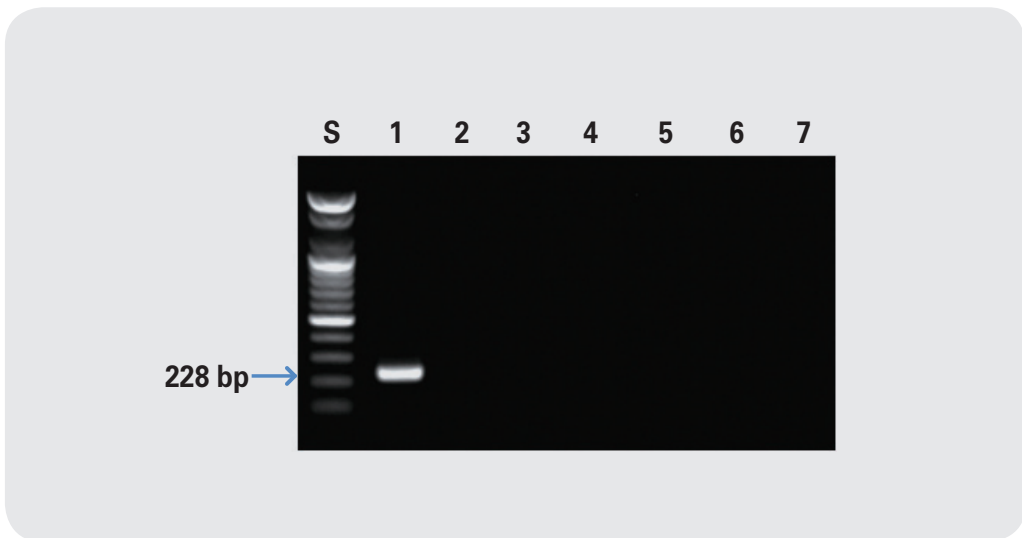


그림 113. 포도 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 포도, lane 2 ; 블루베리, lane 3 ; 아로니아, lane 4 ; 아사이베리, lane 5 ; 하니베리, lane 6 ; 블랙커런트베리, lane 7 ; 복분자

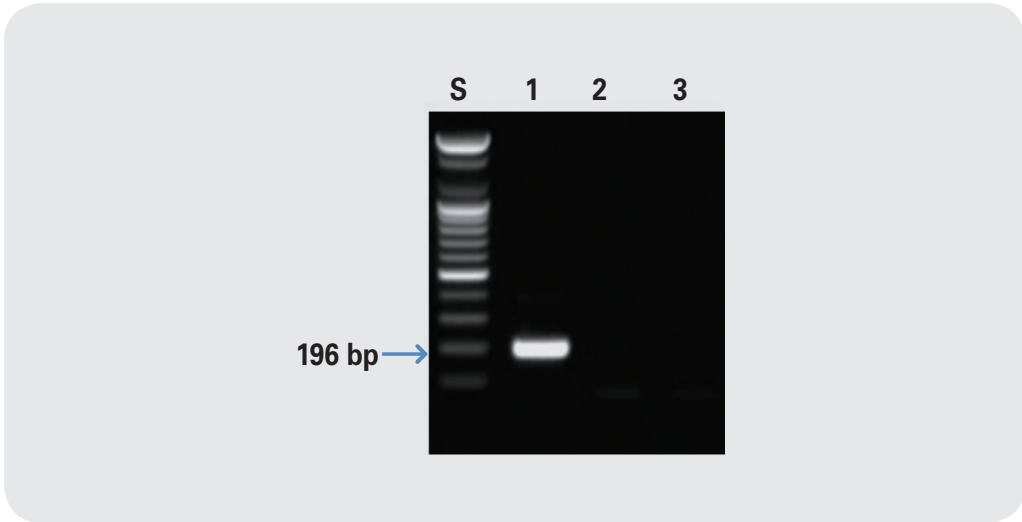


그림 114. 대추 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 대추, lane 2 ; 포도, lane 3 ; 블루베리

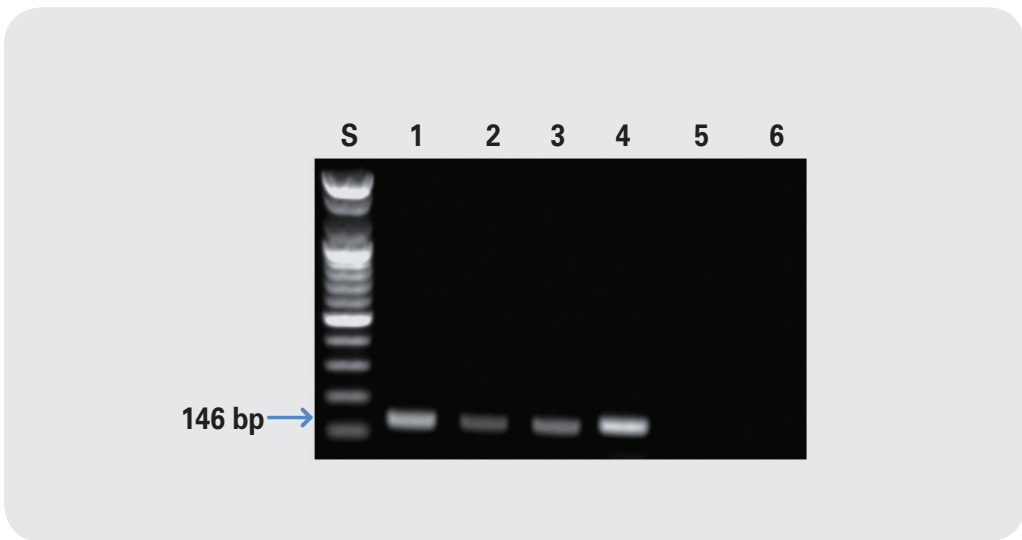


그림 115. 복분자류 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 복분자, lane 2 ; 라즈베리, lane 3 ; 블랙라즈베리, lane 4 ; 블랙베리, lane 5 ; 포도, lane 6 ; 블루베리

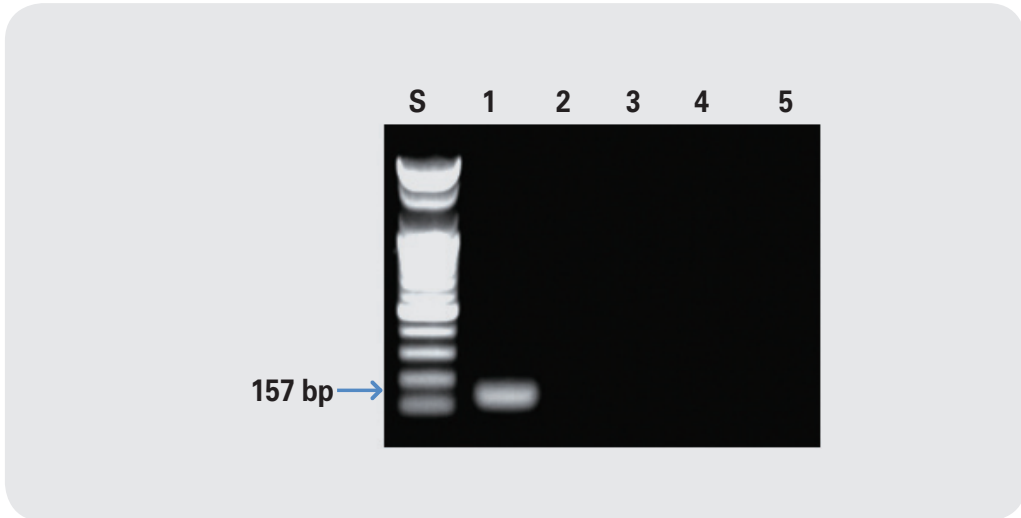


그림 116. 복분자 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 복분자, lane 2 ; 라즈베리, lane 3; 블랙라즈베리, lane 4 ; 블랙베리, lane 5 ; 포도

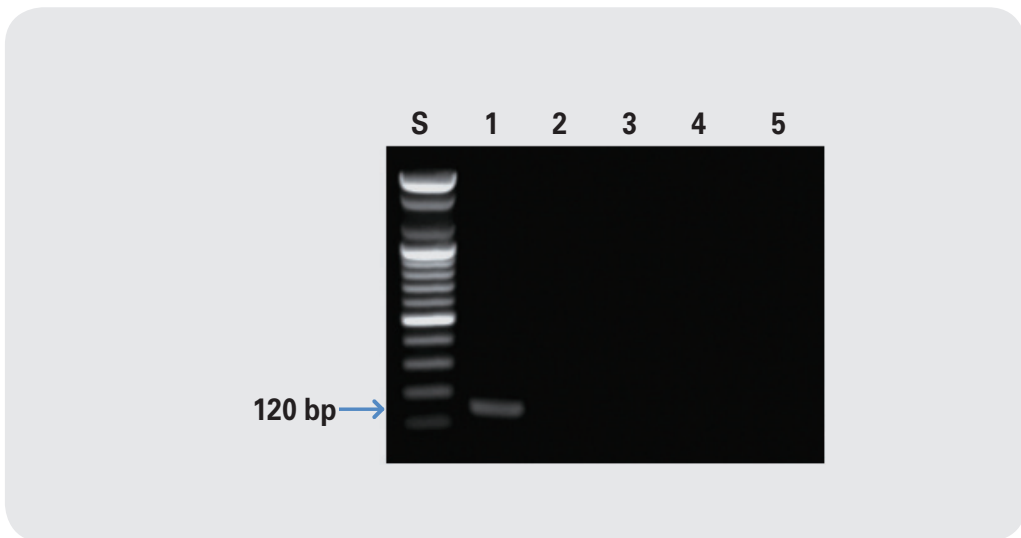


그림 117. 라즈베리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 라즈베리, lane 2 ; 복분자, lane 3; 블랙라즈베리, lane 4 ; 블랙베리, lane 5 ; 포도

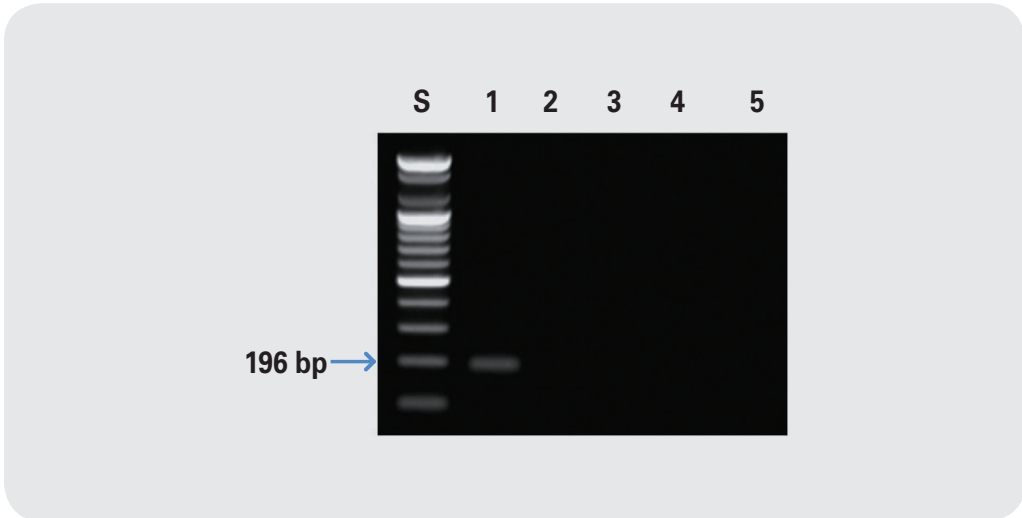


그림 118. 블랙라즈베리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 블랙라즈베리, lane 2 ; 복분자, lane 3 ; 라즈베리, lane 4 ; 블랙베리, lane 5 ; 포도

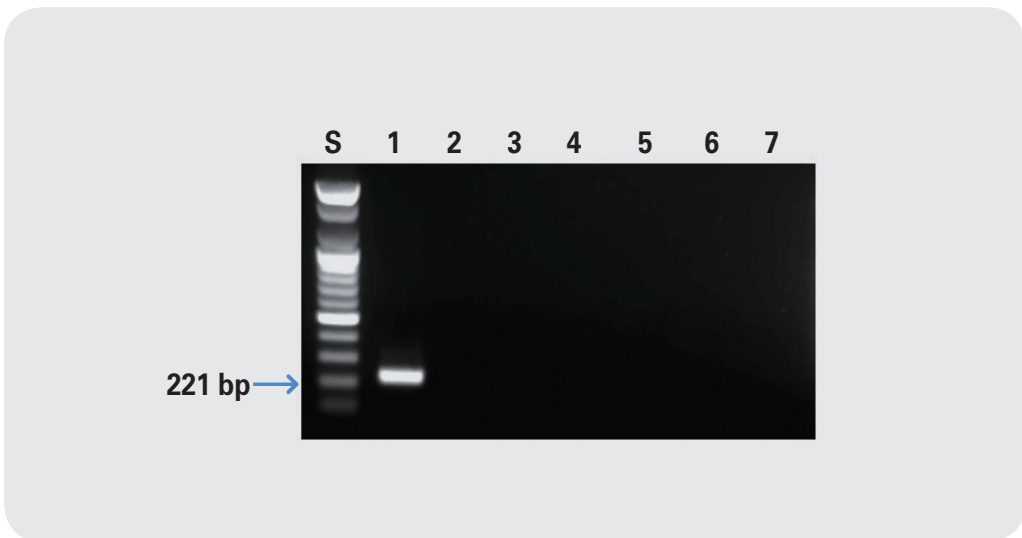


그림 119. 블루베리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 블루베리, lane 2 ; 블랙쵸크베리, lane 3 ; 아사이베리, lane 4 ; 포도, lane 5 ; 하니베리, lane 6 ; 블랙커렌트베리, lane 7 ; 복분자

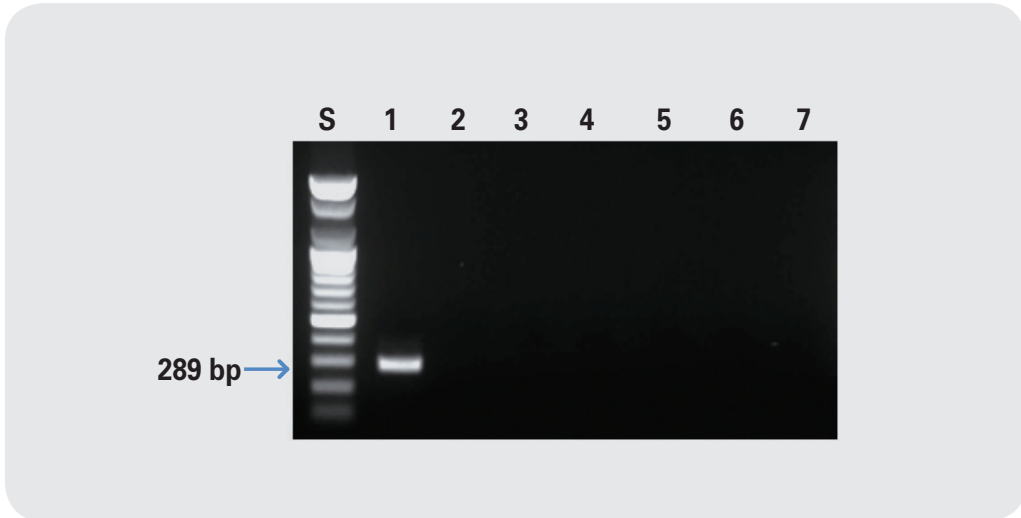


그림 120. 블랙초크베리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 블랙초크베리, lane 2 ; 블루베리, 3; 아사이베리, lane 4 ; 포도, lane 5 ; 하니베리, lane 6 ; 블랙커렌트베리, lane 7 ; 복분자

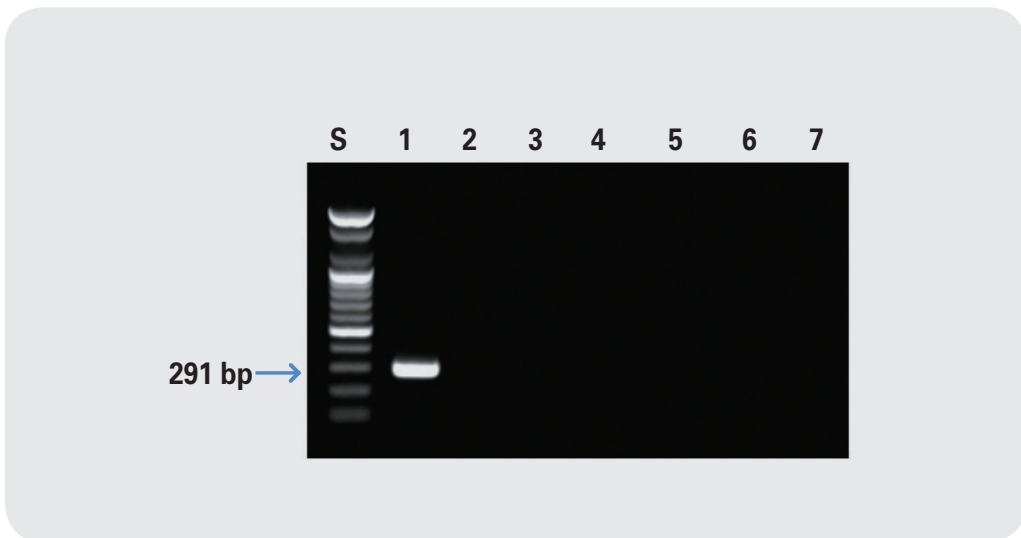


그림 121. 아사이베리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 아사이베리, lane 2 ; 블루베리, 3; 블랙초크베리, lane 4 ; 포도, lane 5 ; 하니베리, lane 6 ; 블랙커렌트베리, lane 7 ; 복분자

6 채소류(배추, 파(쪽파), 토마토, 호박, 알로에, 미나리, 부추, 오이, 고추냉이, 겨자, 참나물, 파드득나물, 고려엉겅퀴)

6.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

배추 등 종 특이 프라이머는 아래 표 122에 명시된 것과 같다.

표 122. 배추 등 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
배추	SFI12-Cabbage-F	ATC CTT GGC CAA CAC TTC AG	173	ITS1
	SFI12-Cabbage-R	GAG AGT CGT TTT AGA CTT TAC ATT G		
파 및 쪽파*	SFI12-Spronion-F	ACC CAC CTA CGG TAA ACT TAC AC	136	ITS1
	SFI12-Spronion-R	TGT GTT AAC TCG ATA CAC CAT T		
토마토	SFI12-TGS1543-F	GAG GTG GTT GGT AAG TGG TGG	132	SSR
	SFI12-TGS1543-R	TTC AAG TTT CAA GGC TGG CT		
호박	SFI12-CMTm48-F	AAG CCT TTG GGG ACC TTT AC	101	SSR
	SFI12-CMTm48-R	TTG AAA CCT TCA AAC AAG AAA TTG		
알로에	SFI13-Aloe-F	AAG GAC GAC CGC GAA CCA TT	175	ITS
	SFI13-Aloe-R	CCT CCG ACC GWT GTG TTC CTT		
미나리	SFI13-Water parsley-F	ACG ACC CGC TAA CGT GTA AAC	193	ITS
	SFI13-Water parsley-R	TAC AYG AAG CGC GCG YGC ATT		
부추	SFI13-Chives-F	TAT TGT TTA GAA GGG TTT CC	235	ITS
	SFI13-Chives-R	AAG TGT CGC ATT TCG CTA		
오이	SFI13-Cucumber-F	TCG TAC CGG CCT CGG TGG TGC	178	ITS
	SFI13-Cucumber-R	TTC AAA GAC TCG GTG GTT CAC		

* 파 및 쪽파는 동시 검출용 프라이머임.

식품 중 사용원료 진위 판별 지침서
- 유전자 분석법 활용 -

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
고추냉이	SFI13-Wasabi-F	GTY TYG GTY GGA TCG TRC GCA	166	ITS
	SFI13-Wasabi-R	TTG CCG AGA GTC GTT TTA GAC T		
겨자	SFI13-Mustard-F	TAT CTC GGC TGG GTC ATG CGT G	167	ITS
	SFI13-Mustard-R	TTG CCG AGA GTC GTT TTA GAC T		
참나물	SFI14-brachycarpa-F	TTT GAA CGC AAG TTG CGC CCG	221	ITS
	SFI14-brachycarpa-R	CGC GAC AAG ACA AGA AGG TC		
파드득나물	SFI14-Cryptotaenia-F	GCC TGA GGC CAT TAG GCC A	230	ITS
	SFI14-Cryptotaenia-R	ATT AAG GCG ACG GGC ATT GGC A		
고려엉겅퀴 (곤드레)	SFI14-Cirsium-F	GAG GTG GTT GGT AAG TGG TGG	162	18S rRNA ¹⁷
	SFI14-Cirsium-R	CGT CGC CCC AGA CCA CGT		

17 18S rRNA (18S ribosomal RNA)

6.2. PCR 반응 조건

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 123 ~ 표 134와 같다.

표 123. PCR 반응 조건(배추)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	67°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 124. PCR 반응 조건(파 및 쪽파)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	68°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 125. PCR 반응 조건(토마토)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	67°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 126. PCR 반응 조건(호박)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	53°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 127. PCR 반응 조건(알로에)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	53°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	45초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 128. PCR 반응 조건(미나리 및 부추)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	53°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 129. PCR 반응 조건(오이)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	15초		
결합(annealing)	53°C	5초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 130. PCR 반응 조건(고추냉이)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	15초		
결합(annealing)	53°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 131. PCR 반응 조건(겨자)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	53°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 132. PCR 반응 조건(참나물)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	20초		
결합(annealing)	65°C	10초	30	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 133. PCR 반응 조건(파드득나물)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	20초		
결합(annealing)	65°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 134. PCR 반응 조건(고려엉겅퀴)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	20초		
결합(annealing)	63°C	10초	30	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

6. 3. PCR 반응 결과

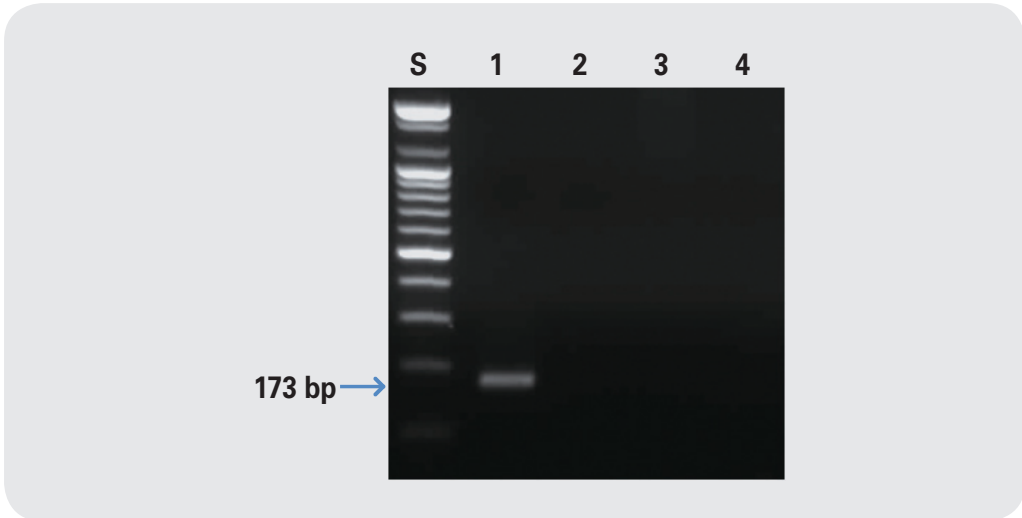


그림 122. 배추 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 배추, lane 2 ; 무, lane 3 ; 마늘, lane 4 ; 양파

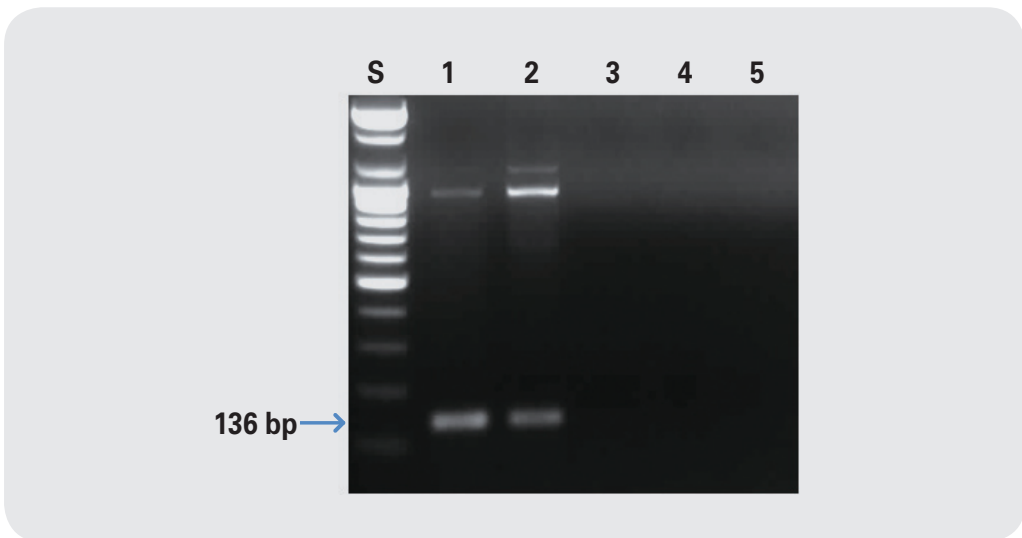


그림 123. 파 및 쪽파 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 파, lane 2 ; 쪽 파, lane 3 ; 양파, lane 4 ; 마늘, lane 5 ; 생강

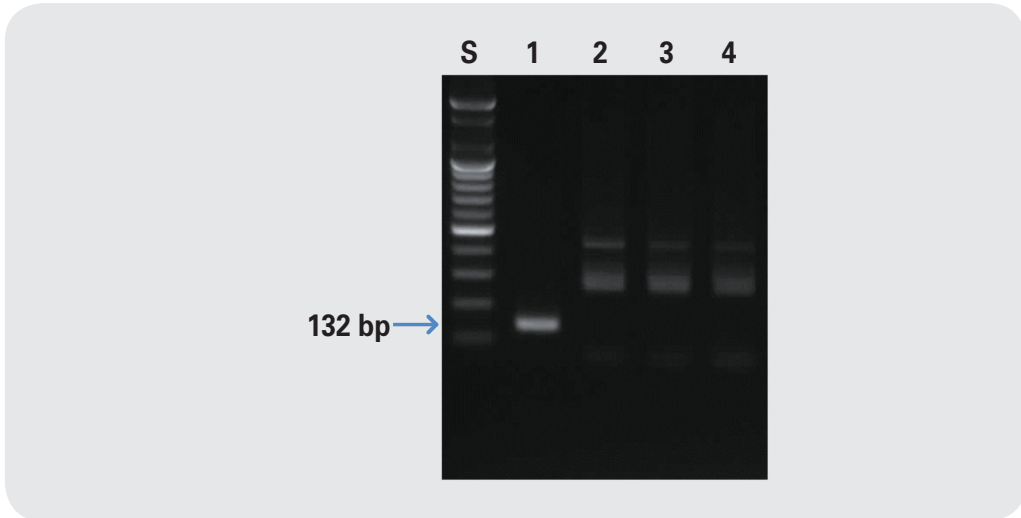


그림 124. 토마토 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 토마토, lane 2 ; 고추, lane 3 ; 적파프리카, lane 4 ; 청피망

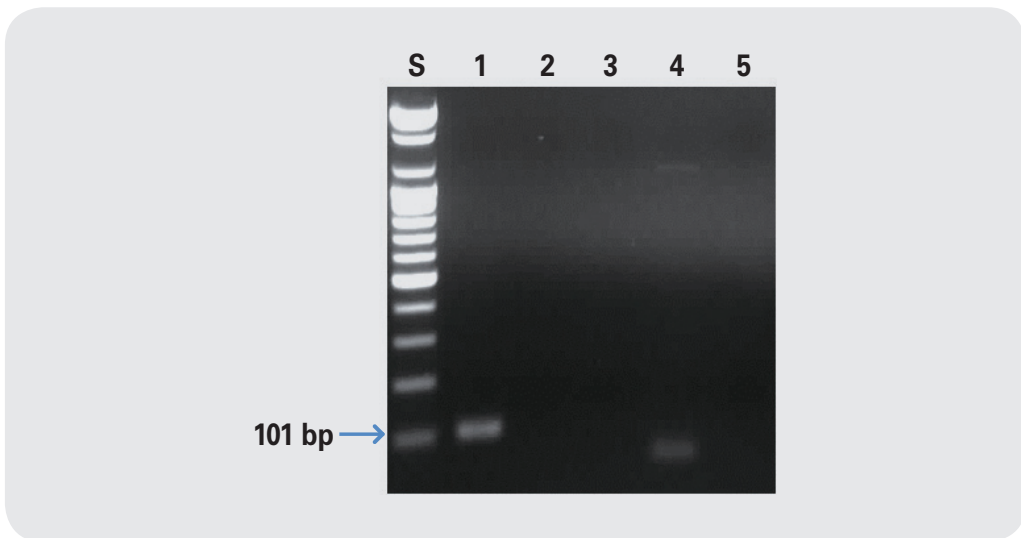


그림 125. 호박 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 호박, lane 2 ; 당근, lane 3 ; 현미, lane 4 ; 옥수수, lane 5 ; 밀

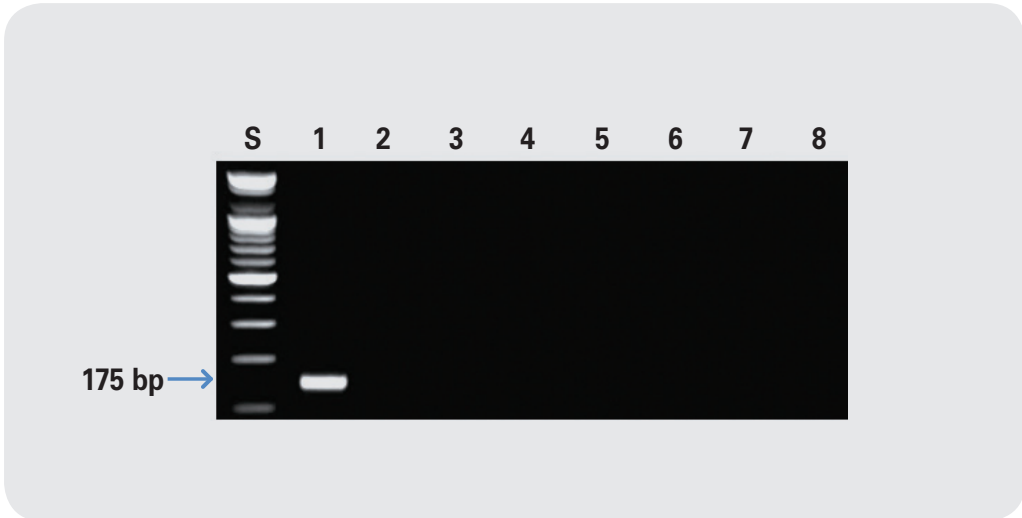


그림 126. 알로에 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 알로에, lane 2 ; 오이, lane 3 ; 양파, lane 4 ; 배추, lane 5 ; 마늘, Lane 6 ; 호박, lane 7 ; 수박, lane 8 ;참외

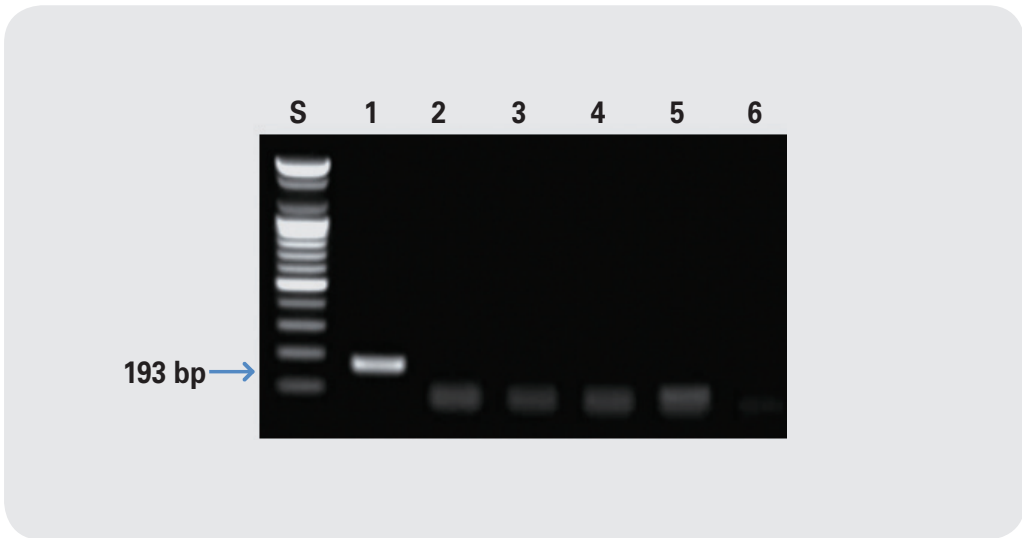


그림 127. 미나리 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 미나리, lane 2 ; 배추, lane 3 ; 녹차, lane 4 ; 시금치, lane 5 ; 콜로렐라, Lane 6 ; 스피루리나

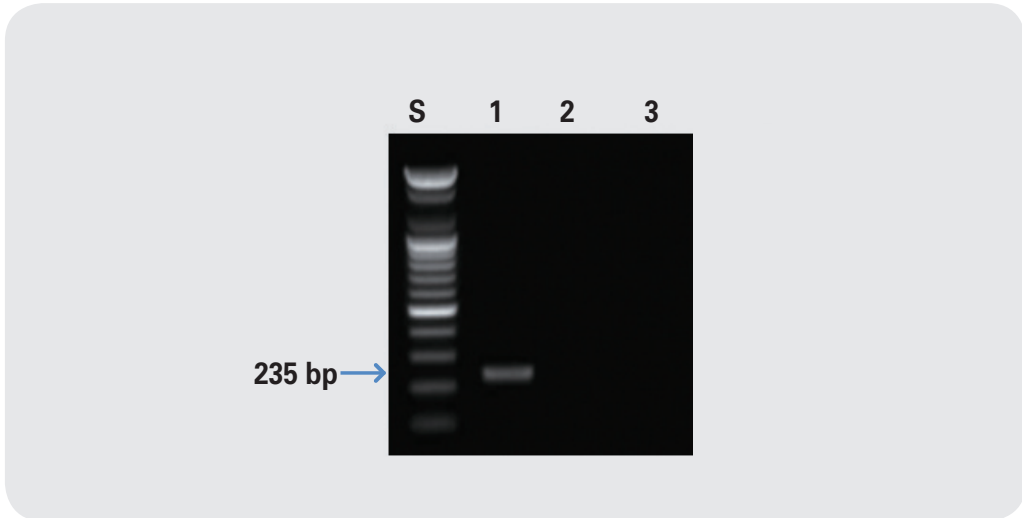


그림 128. 부추 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 부추, lane 2 ; 파, lane 3 ; 쪽파

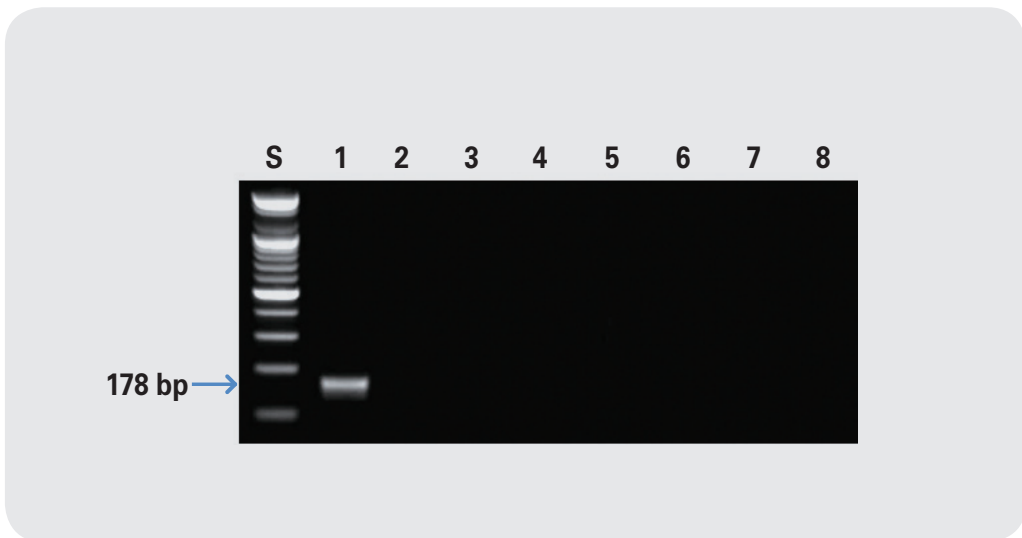


그림 129. 오이 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 오이, lane 2 ; 알로에, lane 3 ; 양파, lane 4 ; 배추, lane 5 ; 마늘, Lane 6 ; 호박, lane 7 ; 수박, lane 8 ;참외

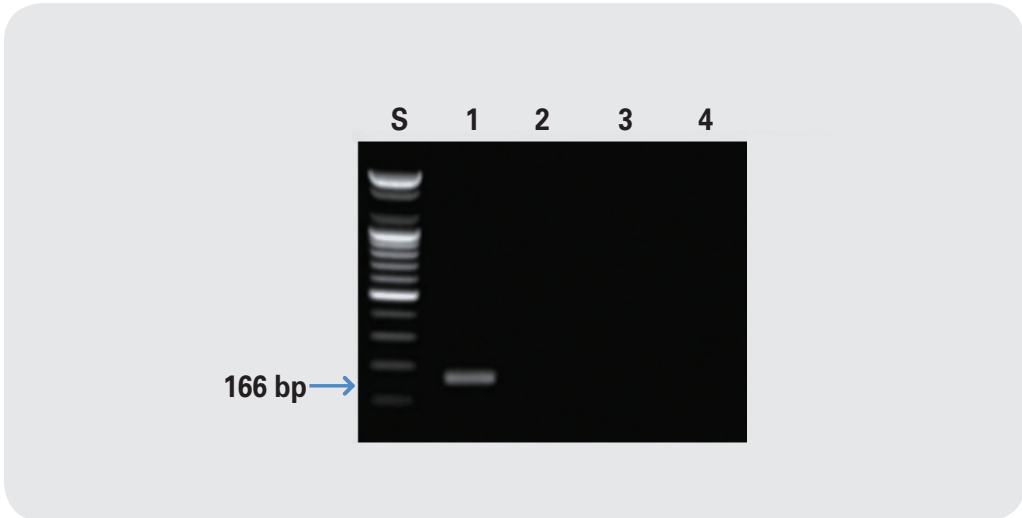


그림 130. 고추냉이 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 고추냉이, lane 2 ; 겨자, lane 3 ; 후추, lane 4 ; 무

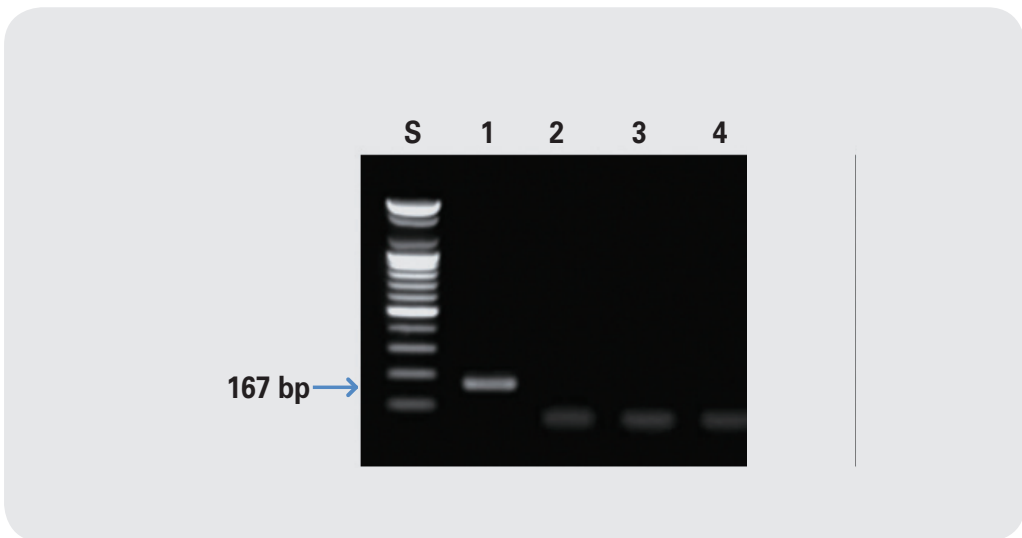


그림 131. 겨자 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 겨자, lane 2 ; 고추냉이, lane 3 ; 후추, lane 4 ; 무

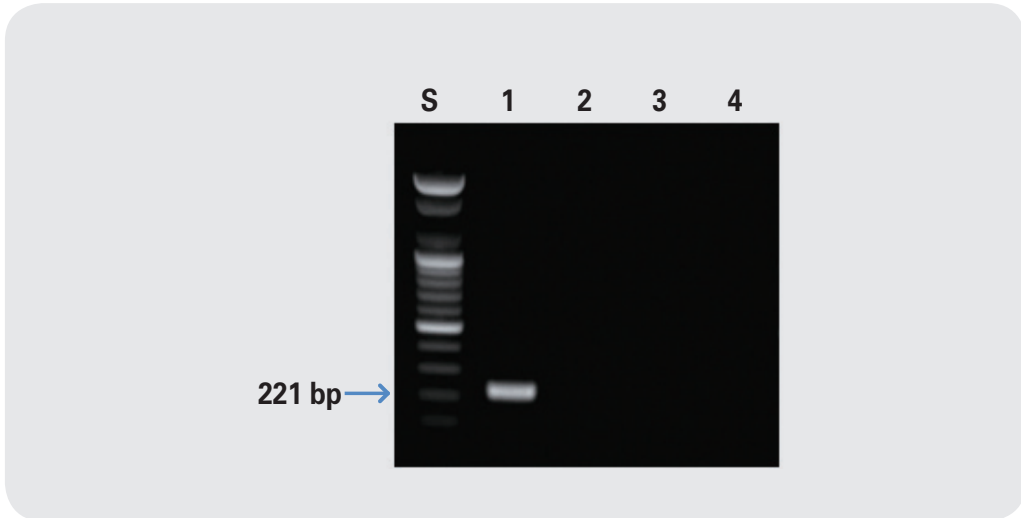


그림 132. 참나물 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 참나물, lane 2 ; 파드득나물, 3; 고사리, lane 4 ; 곤드레

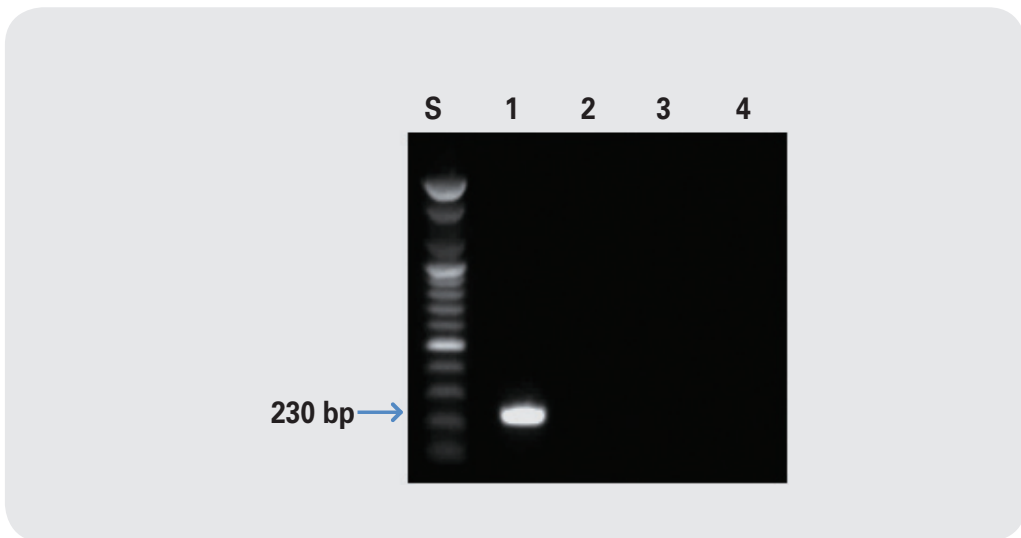


그림 133. 파드득나물 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 파드득나물, lane 2 ; 참나물, 3; 고사리, lane 4 ; 곤드레

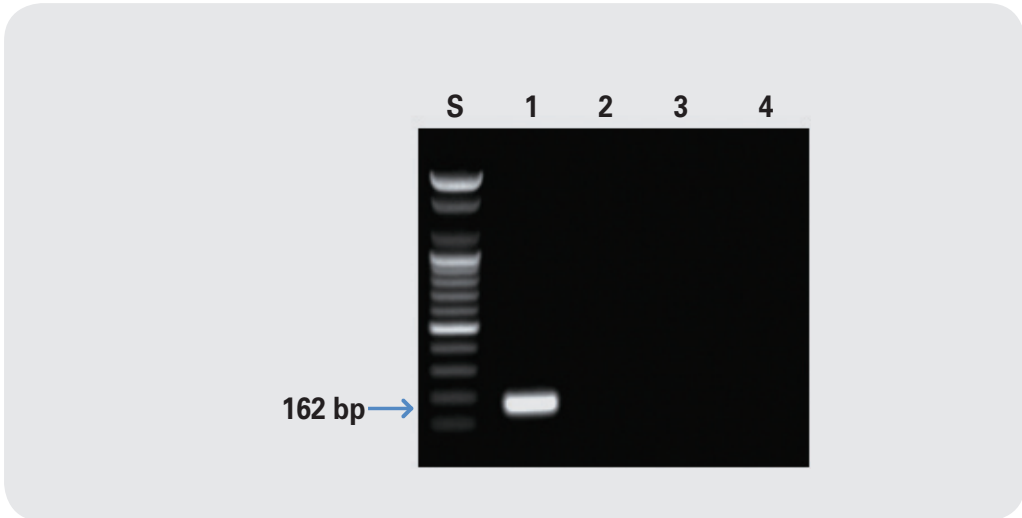


그림 134. 고려엉겅퀴(곤드레) 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 고려엉겅퀴(곤드레), lane 2 ; 참나물, 3; 파드득나물, lane 4 ; 고사리

7 근채류(인삼, 더덕, 도라지, 마, 마늘, 양파, 무, 생강, 당근, 한국취, 천마, 하수오, 백수오, 이엽우피소)

7.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

인삼 등 종 특이 프라이머는 아래 표 135에 명시된 것과 같다.

표 135. 인삼 등 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
인삼	SFI11-Gin-F	GAT CCC GGA CGT AAT CCT G	150	<i>psbI</i> ¹⁸
	SFI11-Gin-R	TTT ATT TCT CTT TCA AAT TTC GCC		
더덕	SFI11-Deo-F	CCT GGA CGT GAA GAA TAA TCA AC	113	<i>psbI</i>
	SFI11-Deo-R	AAT TTA GAA AAC CCC TTT TCC TAT T		
도라지	SFI11-Bal-F	GTA ATC CTG GAC GTG AAG AAT AAT AT	137	<i>psbI</i>
	SFI11-Bal-R	AAT TTA GAA AAC CCC TTT TCC TAT T		
마	SFI11-Hem-F	GAT CCC GGA CGT AAT CCT G	181	<i>psbI</i>
	SFI11-Hem-R	TGC TTA TGA TCA CTT GAT AGT TTT GAA		
마늘	GBASM080-F	AAT CTC CCT CCA AAG TCC C	180	<i>SSR</i>
	GBASM080-R	CTG TAT TTT GTG TAA AGC ATC A		
양파	API73-F	GTT TCT TGG ATG CGA TTT TG	280	<i>SSR</i>
	API73-R	GCA ACT GTA TAA TCA GCA TAT GC		
무	A137-F	GGG AGA GCT ATT CCC GAC TT	266 및 (또는) 333	<i>Rfd</i>
	A137-R	CTC CCC AAG TCC AAC CAG TA		
생강	SFI12-Ginger-F	CTC GGA ATC AAT CAA TCA ACC	113	<i>ITS1</i>
	SFI12-Ginger-R	TCA CGA GAT TCT GCA ATT CAC AC		

II. 종 특이 프라이머를 이용한 유전자 증폭(PCR)

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
당근	SFI12-Carrot-F	CTA GAT GCG CCA AGG AAG TAA	194	<i>ITS1</i>
	SFI12-Carrot-R	AAC TTG CGT TCA AAG ACT CG		
한국취	SFI14-lobata-F	TCA CCG GAC GAC CGT TG	235	<i>ITS1</i>
	SFI14-lobata-R	CGT CAT CAA TCA GGG AGT CCT TC		
천마	SFI14-Gastrodia-F	CAT TTT CTT GTT CTG TCA AGA GGG TG	140	<i>psbA-trnH</i>
	SFI14-Gastrodia-R	GAA TAA ATG CAA GCA AAT ACC CTC TC		
하수오	SFI14-multiflorum-F	AAG TTT TCC TTA CCT TAC CCA TTA	160	<i>psbA-trnH</i>
	SFI14-multiflorum-R	AAC CAA AAC ACC AAA GAG GCC		
백수오	SFI14-wilfordii-F	ATA TTA TAT TCT AAA ATT AGA T	147	<i>psbA-trnH</i>
	SFI14-wilfordii-R	CTC TAT TTC TAT TTC TAT		
이엽우피소	SFI14-auriculatum-F	AAA TGA ATT TAA AAA TTC AAT ACA	119	<i>psbA-trnH</i>
	SFI14-auriculatum-R	GTT CTA TTT CTA TTT ATT TTT AT		

¹⁸ *psbI* (*photosystem II reaction center I*)

7.2. PCR 반응 조건

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 136 ~ 표 147과 같다.

표 136. PCR 반응 조건(인삼)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	10분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	55°C	15초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	3분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 137. PCR 반응 조건(더덕, 도라지)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	10분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	57°C	15초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	3분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 138. PCR 반응 조건(마)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	64°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 139. PCR 반응 조건(마늘, 양파)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	10분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	50°C	10초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 140. PCR 반응 조건(무)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	4분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	67°C	30초	10	결합cycle은 0.8°C씩 감소
신장(extension)	72°C	2분		
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	59°C	30초	30	
신장(extension)	72°C	2분		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 141. PCR 반응 조건(생강)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	66°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 142. PCR 반응 조건(당근)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	67°C	5초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 143. PCR 반응 조건(한국참)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	55°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 144. PCR 반응 조건(천마)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	30초	40	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 145. PCR 반응 조건(하수오)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	10초		
결합(annealing)	60°C	5초	35	
신장(extension)	72°C	20초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 146. PCR 반응 조건(백수오)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	42°C	30초	40	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 147. PCR 반응 조건(이엽우피소)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	20초		
결합(annealing)	38°C	1분	45	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

7.3. PCR 반응 결과

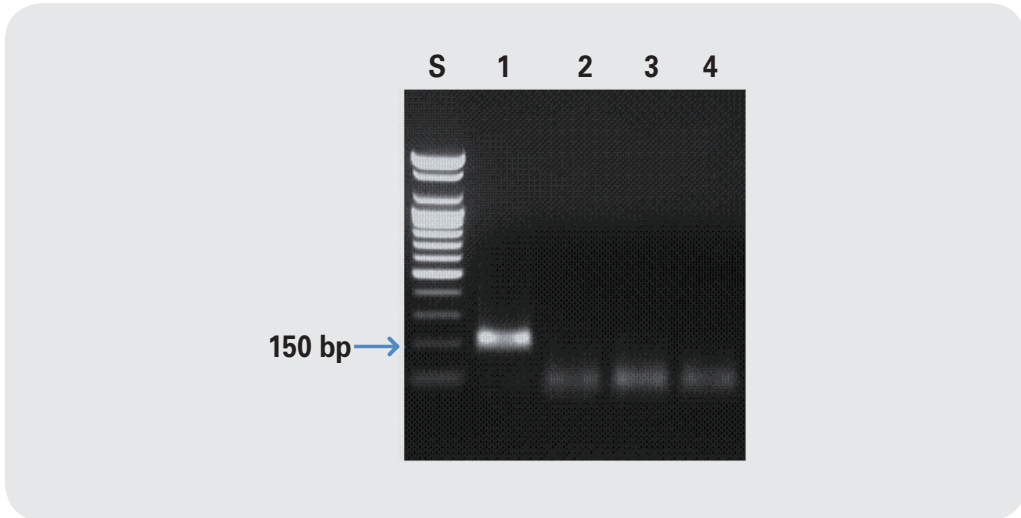


그림 135. 인삼 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 인삼, lane 2 ; 더덕, lane 3 ; 도라지, lane 4 ; 마

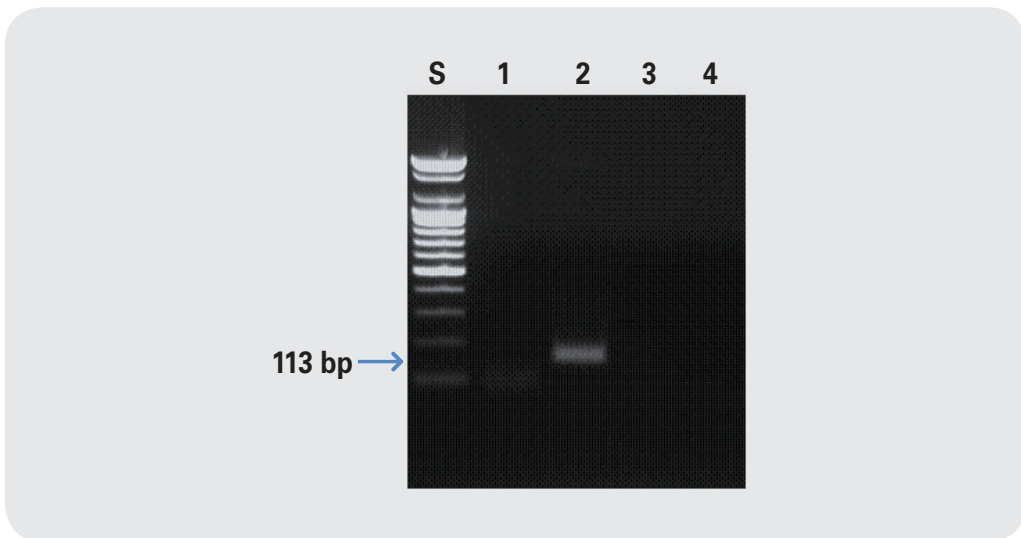


그림 136. 더덕 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 인삼, lane 2 ; 더덕, lane 3 ; 도라지, lane 4 ; 마

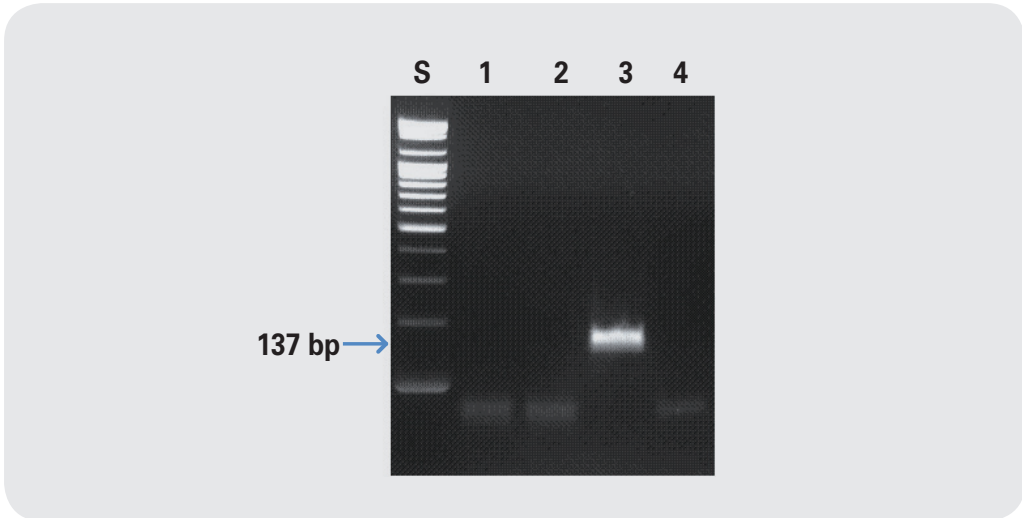


그림 137. 도라지 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 인삼, lane 2 ; 더덕, lane 3 ; 도라지, lane 4 ; 마

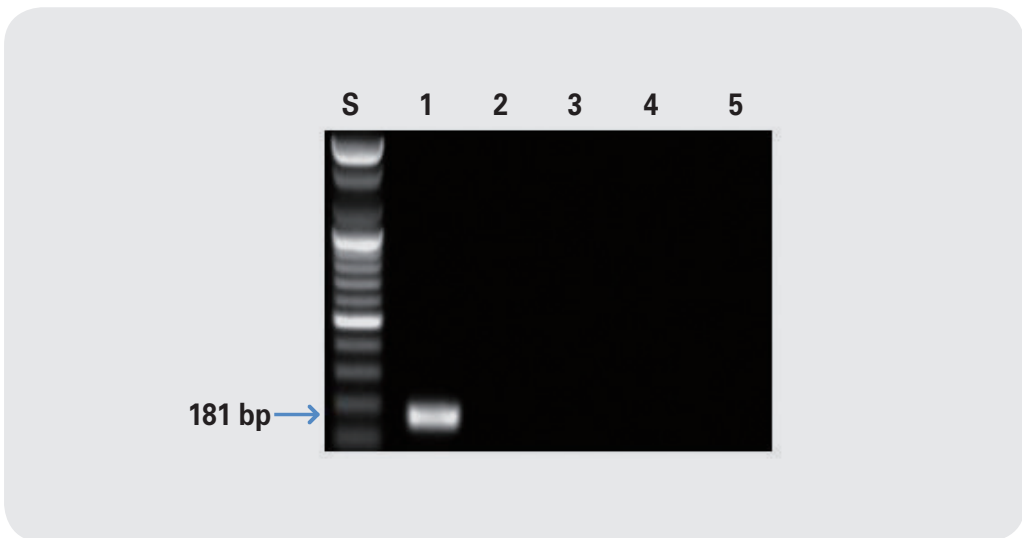


그림 138. 마 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 마, lane 2 ; 인삼, 3 ; 더덕, lane 4 ; 도라지, lane 5 ; 황기

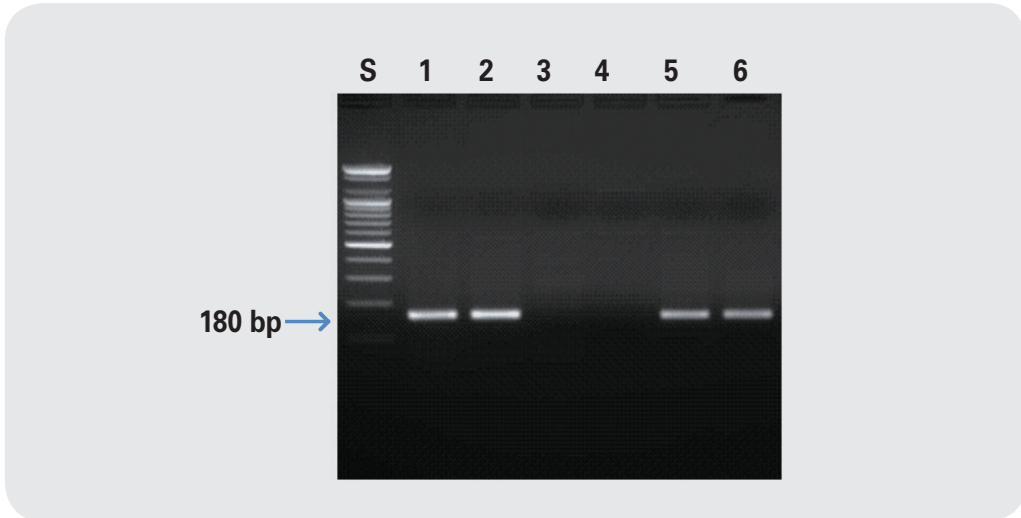


그림 139. 마늘 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1, 2 ; 마늘, lane 3, 4 ; 양파, lane 5, 6 ; 마늘 및 양파 혼합물

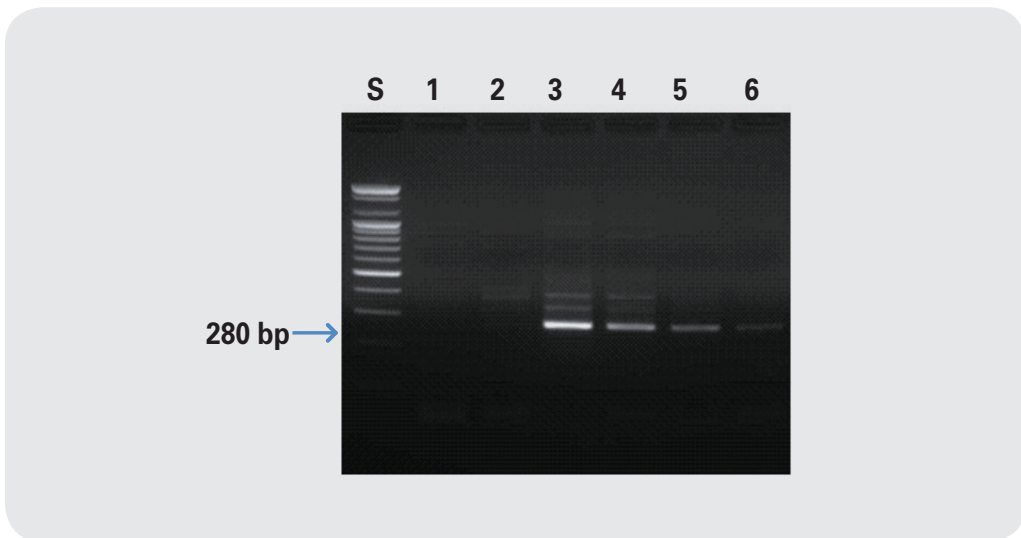


그림 140. 양파 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1, 2 ; 마늘, lane 3, 4 ; 양파, lane 5, 6 ; 마늘 및 양파 혼합물

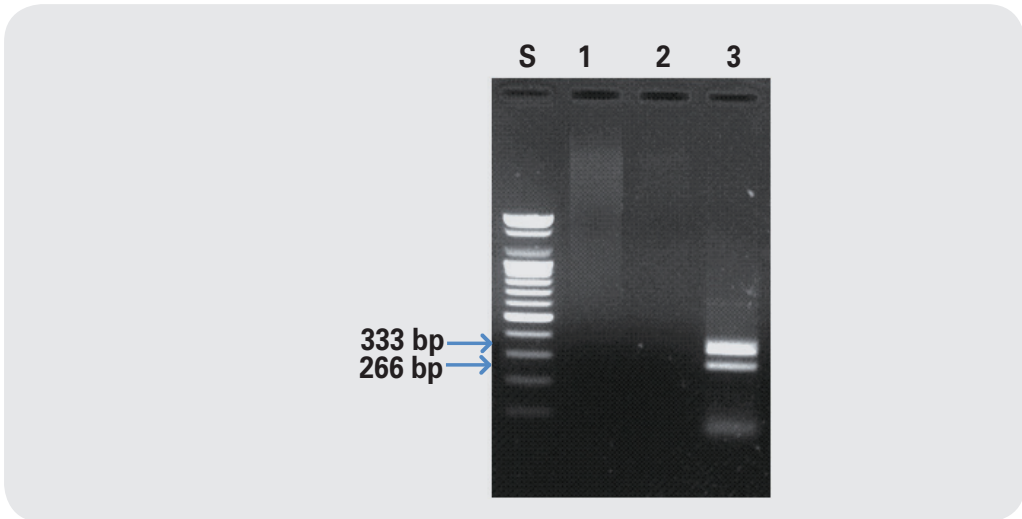


그림 141. 무 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 : 마늘, lane 2 ; 양파, lane 3 ; 무

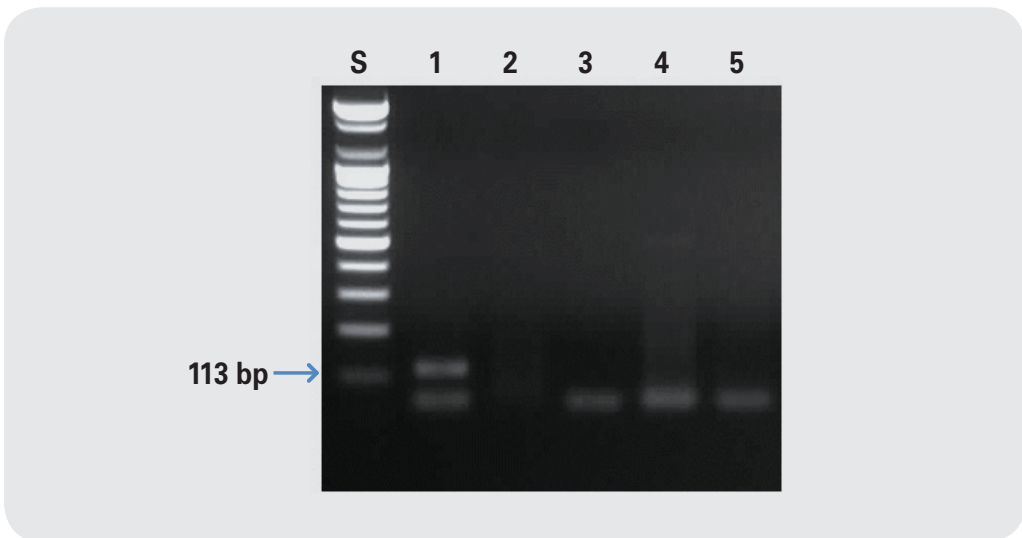


그림 142. 생강 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 생강, lane 2 ; 강황, lane 3 ; 마늘, lane 4 ; 양파, lane 5 ; 파



그림 143. 당근 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 당근, lane 2 ; 적무, lane 3 ; 고추, lane 4 ; 토마토, lane 5 ; 체리, lane 6 ; 앵두, lane 7 ; 적파프리카, lane 8 ; 딸기

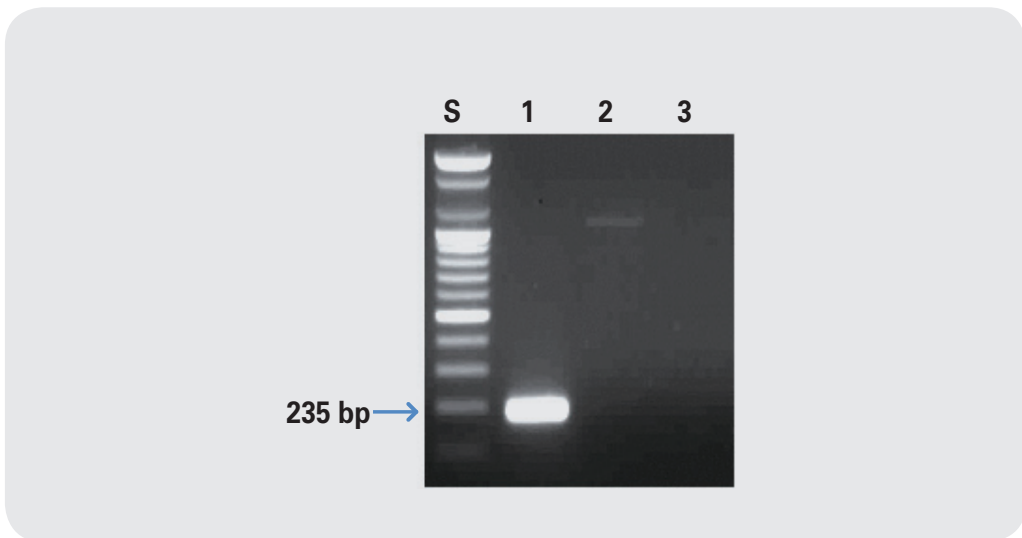


그림 144. 한국참(갈근) 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 한국참(갈근), lane 2 ; 태국참(*Pueraria mirifica*), 3; 태국참(*Butea superba*)

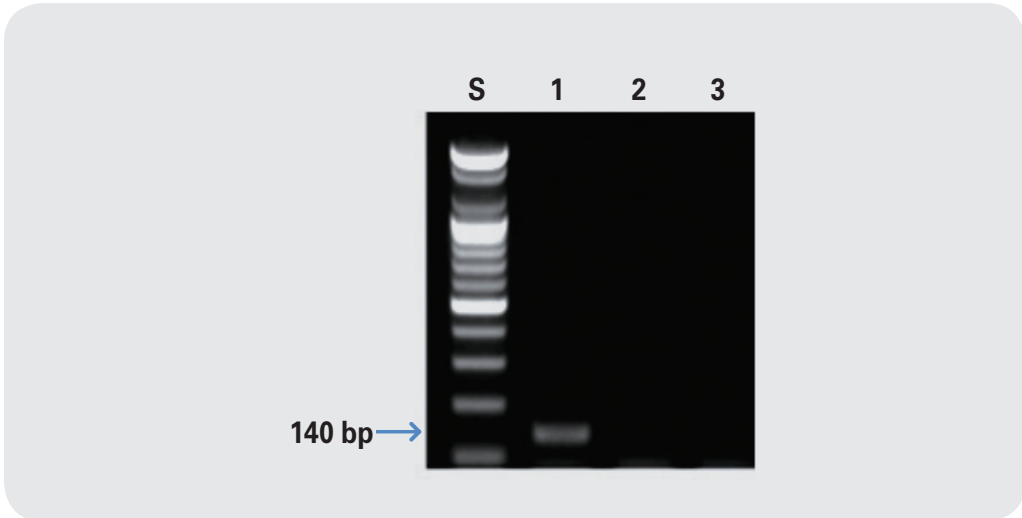


그림 145. 천마 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 천마, lane 2 ; 마, lane 3; 황기

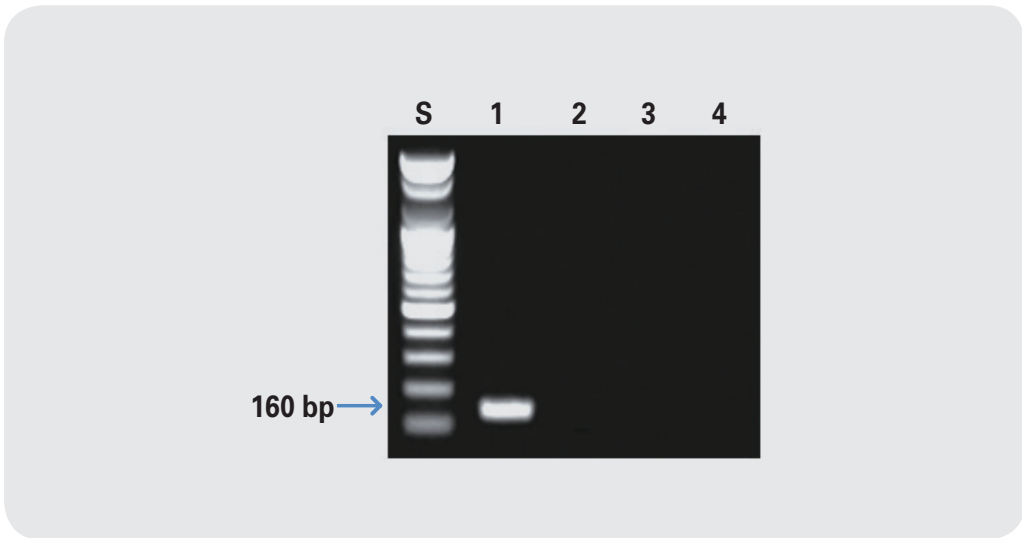


그림 146. 하수오 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 하수오, lane 2 ; 백수오, 3; 이엽우피소, lane 4 ; 절관우피소

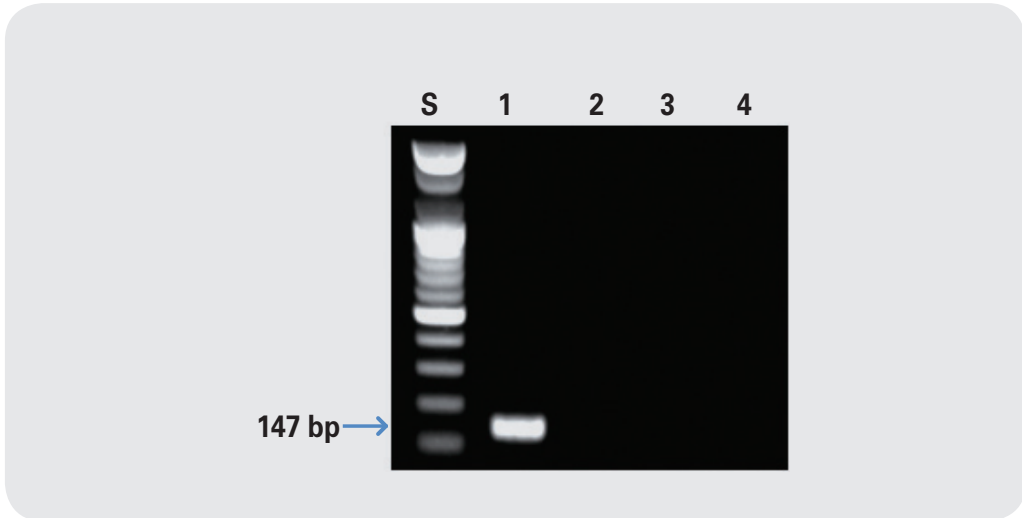


그림 147. 백수오 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 백수오, lane 2 ; 하수오, 3; 이엽우피소, lane 4 ; 절관우피소

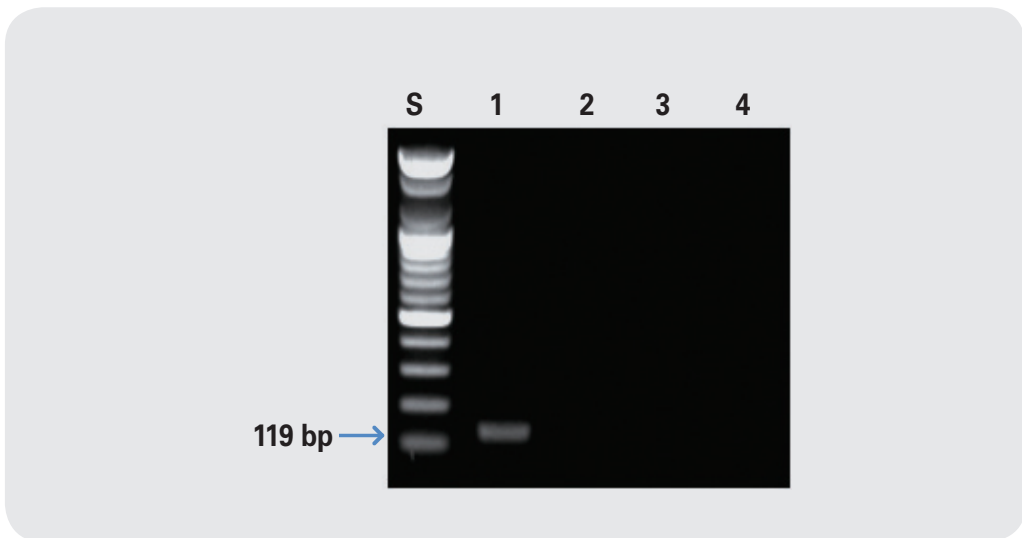


그림 148. 이엽우피소 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 이엽우피소, lane 2 ; 하수오, 3; 백수오, lane 4 ; 절관우피소

8 버섯류(팽이버섯, 표고버섯, 양송이버섯, 영지버섯, 새송이버섯, 느타리버섯, 목이버섯, 송이버섯, 능이버섯)

8.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

팽이버섯 등 종 특이 프라이머는 아래 표 148에 명시된 것과 같다.

표 148. 팽이버섯 등 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
팽이버섯	SFI13-Enokitake-F	ATG TAA CGA ATG TCA TTG ATT A	210	ITS
	SFI13-Enokitake-R	TGA CAC TCA AAC AGG CAT GC		
표고버섯	SFI13-Shiitake-F	ATA GAA TGW TCT KGT TAT TGGG	210	ITS
	SFI13-Shiitake-R	TGA CAC TCA AAC AGG CAT GC		
양송이버섯	SFI13-Agaricus-F	CAT GGG CTA TGC CTA TGA AA	190	ITS
	SFI13-Agaricus-R	TGA CAC TCA AAC AGG CAT GC		
영지버섯	SFI13-Ganoderma-F	TTG CGA TGT AAC ACA TCT ATA T	188	ITS
	SFI13-Ganoderma-R	TGA CAC TCA AAC AGG CAT GC		
새송이버섯	SFI13-King oyster-F	CTC AAA CTC ACT CTG GTT TTT CC	197	ITS
	SFI13-King oyster-R	GGT TAG AGA GCC AGA CTC TAT TC		
느타리버섯	SFI13-oyster-F	CTC AAA CTC ACT TTG GTT TCT TT	206	ITS
	SFI13-oyster-R	TTG CGG ACG ATT RGA GAG CTG		
목이버섯	SFI14-Auricularia-F	ACC CTC GCG ATG TAA CA	182	ITS
	SFI14-Auricularia-R	AGC GCC GCT GAA GAG GCC		
송이버섯	SFI14-Tricholoma-F	ATT TTA TTA TAC ACT CGG	251	ITS
	SFI14-Tricholoma-R	CTA TTC AAC AAA AAG CTG A		
능이버섯	SFI14-Sarcodon-F	TCT TTG CTG GCG TGG GC	166	ITS
	SFI14-Sarcodon-R	ACG TTT TTT GTA GGG GCT		

8.2. PCR 반응 조건

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 149 ~ 표 153과 같다.

표 149. PCR 반응 조건(팽이버섯, 표고버섯, 양송이버섯, 영지버섯 및 새송이버섯)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	55°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 150. PCR 반응 조건(느타리버섯)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	62°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 151. PCR 반응 조건(목이버섯)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	64°C	10초	30	
신장(extension)	72°C	20초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 152. PCR 반응 조건(송이버섯)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	48°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 153. PCR 반응 조건(능이버섯)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	58°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

8.3. PCR 반응 결과

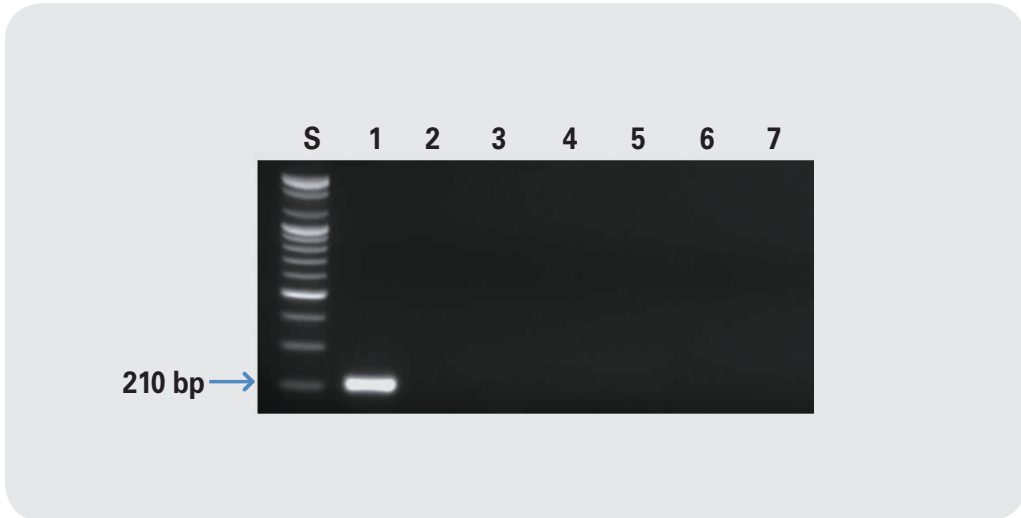


그림 149. 팽이버섯 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 팽이버섯, lane 2 ; 목이버섯, lane 3 ; 양송이버섯, lane 4 ; 표고버섯, lane 5 ; 새송이버섯, lane 6 ; 느타리버섯, lane 7 ; 영지버섯

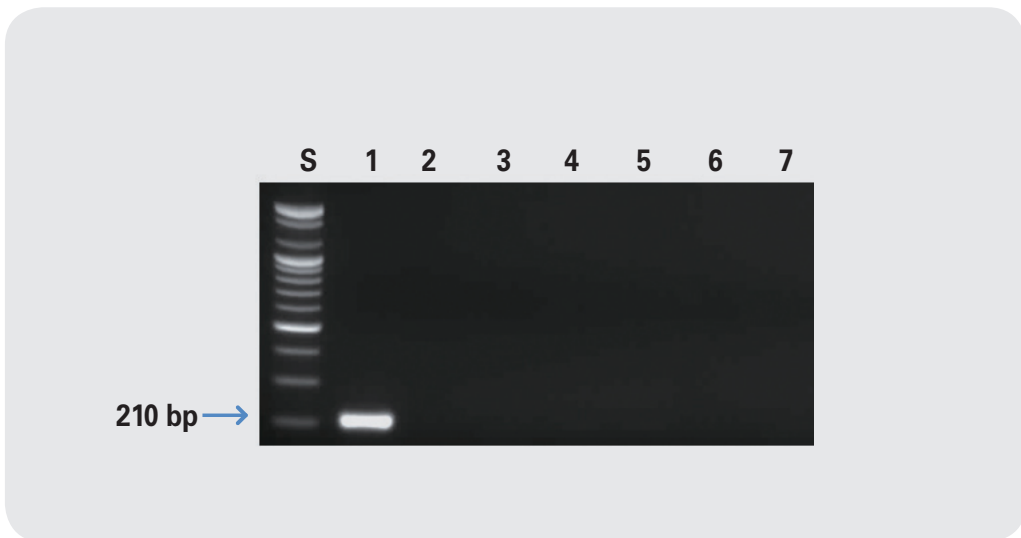


그림 150. 표고버섯 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 표고버섯, lane 2 ; 목이버섯, lane 3 ; 양송이버섯, lane 4 ; 팽이버섯, lane 5 ; 새송이버섯, lane 6 ; 느타리버섯, lane 7 ; 영지버섯



그림 151. 양송이버섯 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 양송이버섯, lane 2 ; 목이버섯, lane 3 ; 팽이버섯, lane 4 ; 표고버섯, lane 5 ; 새송이버섯, lane 6 ; 느타리버섯, lane 7 ; 영지버섯



그림 152. 영지버섯 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 영지버섯, Lane 2 ; 꽃영지버섯, lane 3 ; 목이버섯, lane 4 ; 양송이버섯, lane 5 ; 표고버섯, lane 6 ; 새송이버섯, lane 7 ; 느타리버섯, lane 8 ; 팽이버섯

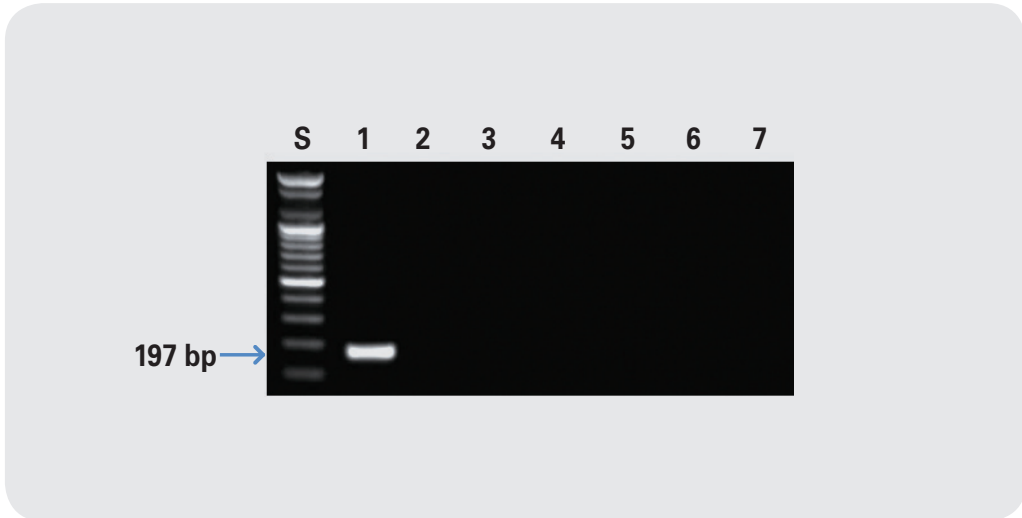


그림 153. 새송이버섯 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 새송이버섯, lane 2 ; 목이버섯, lane 3 ; 팽이버섯, lane 4 ; 표고버섯, lane 5 ; 양송이버섯, lane 6 ; 느타리버섯, lane 7 ; 영지버섯

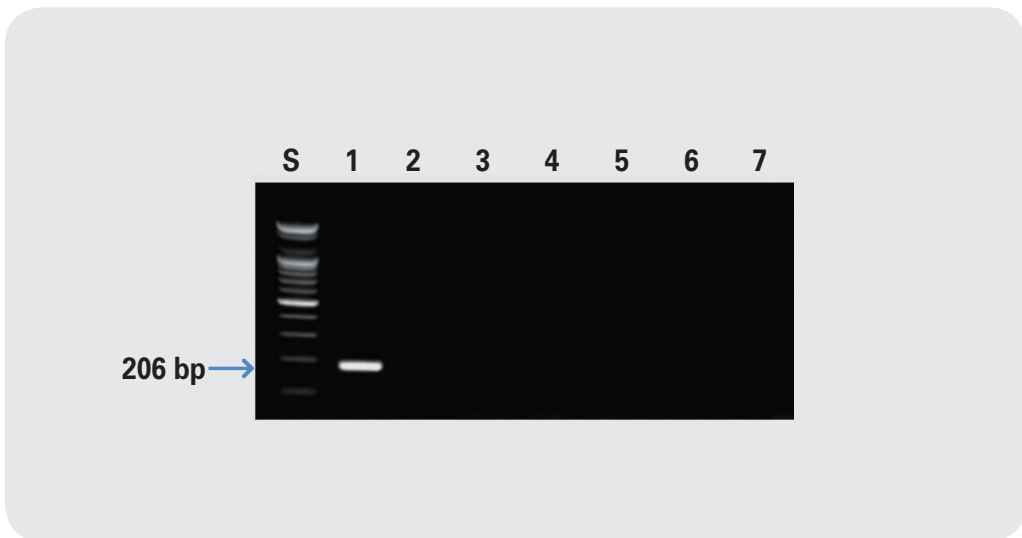


그림 154. 느타리버섯 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 느타리버섯, lane 2 ; 목이버섯, lane 3 ; 팽이버섯, lane 4 ; 표고버섯, lane 5 ; 새송이버섯, lane 6 ; 양송이버섯, lane 7 ; 영지버섯

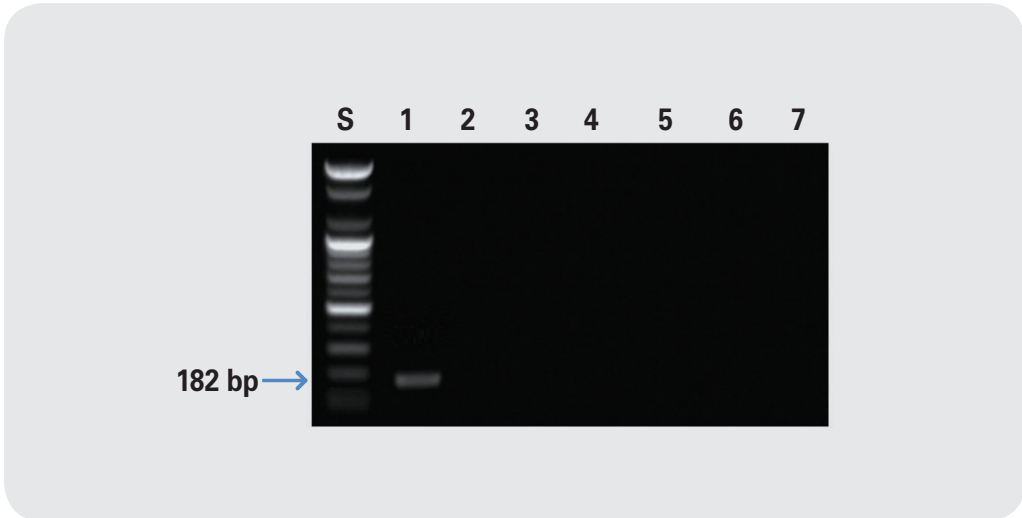


그림 155. 목이버섯 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 목이버섯, lane 2 ; 양송이버섯, 3; 팽이버섯, lane 4 ; 표고버섯, lane 5 ; 새송이버섯, lane 6 ; 느타리버섯, lane 7 ; 영지버섯

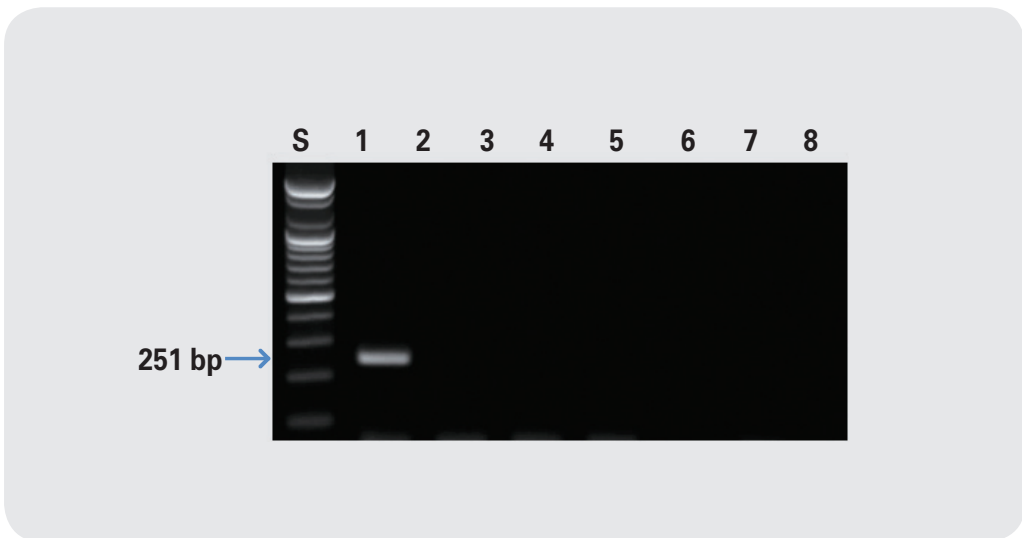


그림 156. 송이버섯 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 송이버섯, lane 2 ; 양송이버섯, 3; 팽이버섯, lane 4 ; 표고버섯, lane 5 ; 새송이버섯, lane 6 ; 느타리버섯, lane 7 ; 영지버섯, lane 8 ; 목이버섯

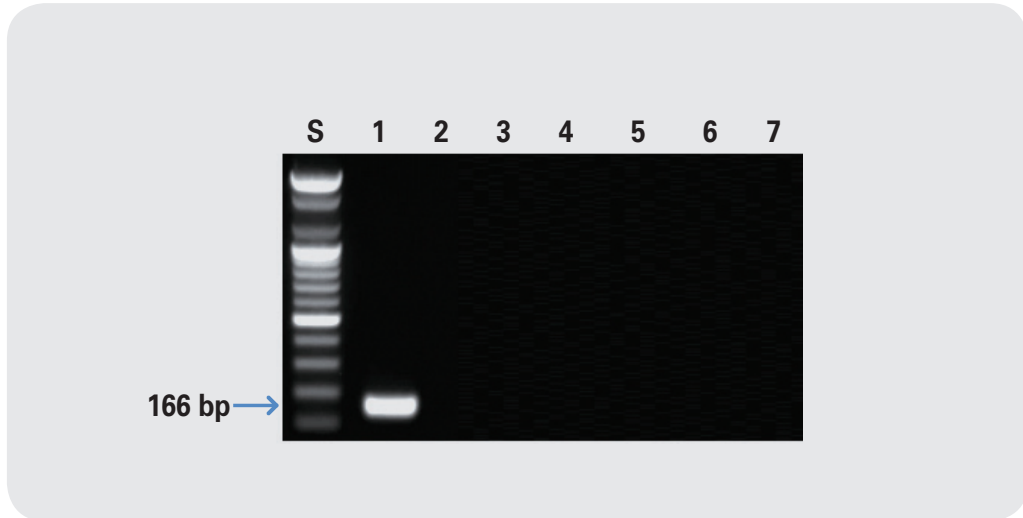


그림 157. 능이버섯 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 능이버섯, lane 2 ; 양송이버섯, 3; 팽이버섯, lane 4 ; 표고버섯, lane 5 ; 새송이 버섯, lane 6 ; 느타리버섯, lane 7 ; 영지버섯

9 기타(녹차, 시금치, 클로렐라, 태국참, 과라나, 흰민들레, 민들레, 아파니조메논 플로스아쿠아)

9.1. 종(種) 특이 프라이머 서열

녹차 등 종 특이 프라이머는 아래 표 154에 명시된 것과 같다.

표 154. 녹차 등 종 특이 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
녹차	SFI10-G-F	CAT TAC CTC CAA TCT CCG	224	SSR
	SFI10-G-R	CAC GCT CAT CTC CTC TTT		
시금치	SFI10-SP-F	ACT AGT GAG GGG GCC AGT TTA CA	138	SSR
	SFI10-SP-R	CAG CTG AGG CTC TTC TTC TTC TTC		
클로렐라	SFI10-CL-F	GGC GCA CCC GTA GGA T	154	18S rRNA
	SFI10-CL-R	GCA GGT GGT AAA TCC CAT CT		
태국참	SFI12-Miri-F	TCT CAC ACG ACA CGT TCT G	216	ITS2
	SFI12-Miri-R	TCT CGT TGA GAG CGT CTC CCC GAA		
과라나	SFI13-Guarana-F	CAT CGT TGC CCC CAA ACC T	219	ITS
	SFI13-Guarana-R	CTC CCA GCC CTC GGA CCC TCT		
흰민들레	SFI13-coreanum-F	TCA CGC ATC GCG TCG CTC CTG	196	ITS
	SFI13-coreanum-R	TCT TTT TTG AGG GCT TCC CTG G		
민들레	SFI13-Platycarpum-F	CTG TGT GTC GTG AGC TGC A	195	ITS
	SFI13-Platycarpum-R	GAT TTT CAA GCT GGG CTA G		
아파니조메논 플로스아쿠아*	SFI14-AFA-F	TAG TTG GTA GTG TAA GAG ACT	363	16S rRNA
	SFI14-AFA-R	CTC TTA TTT GGT TGA GCC AAA C		

* 아파니조메논 플로스아쿠아: *Aphanizomenon flos-aquae* (AFA), 남조류(미세조류)의 일종, 독성물질 생성하여 식품에 사용할 수 없는 원료임

9.2. PCR 반응 조건

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 155 ~ 표 160과 같다.

표 155. PCR 반응 조건(녹차 및 시금치)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	10분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	50°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 156. PCR 반응 조건(클로렐라)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	10분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	64°C	10초	40	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 157. PCR 반응 조건(태국참)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	65°C	30초	30	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 158. PCR 반응 조건(과라나)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	65°C	15초	40	
신장(extension)	72°C	45초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 159. PCR 반응 조건(흰민들레 및 민들레)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	5초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

표 160. PCR 반응 조건(아파니조메논 플로스아쿠아)

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초		
결합(annealing)	60°C	15초	35	
신장(extension)	72°C	30초		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

9.3. PCR 반응 결과

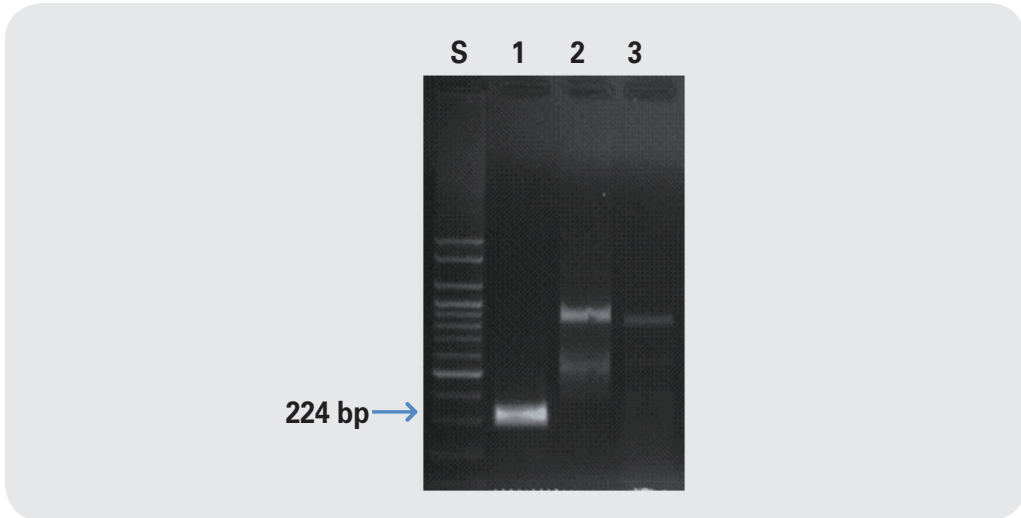


그림 158. 녹차 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 녹차, lane 2 ; 시금치, lane 3 ; 클로렐라

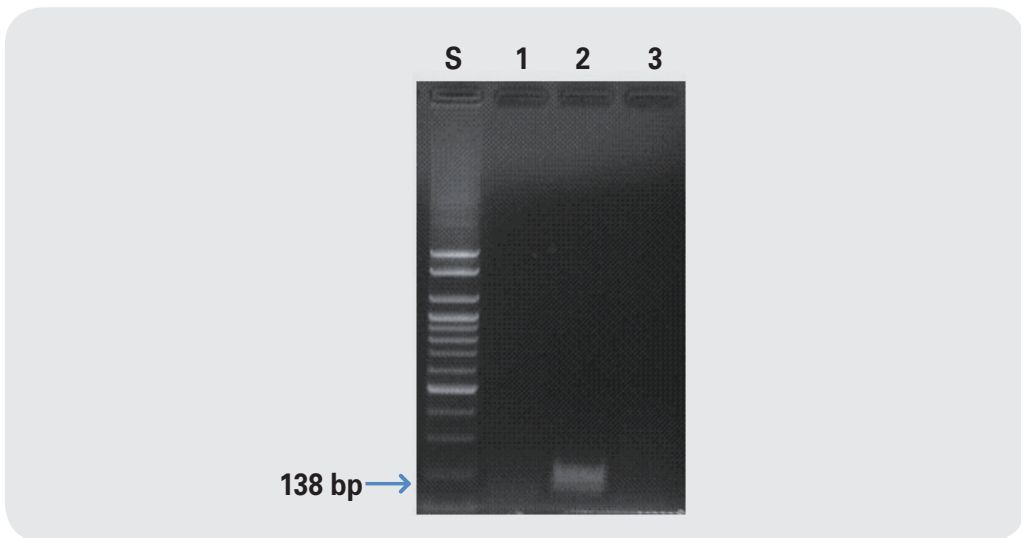


그림 159. 시금치 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 녹차, lane 2 ; 시금치, lane 3 ; 클로렐라

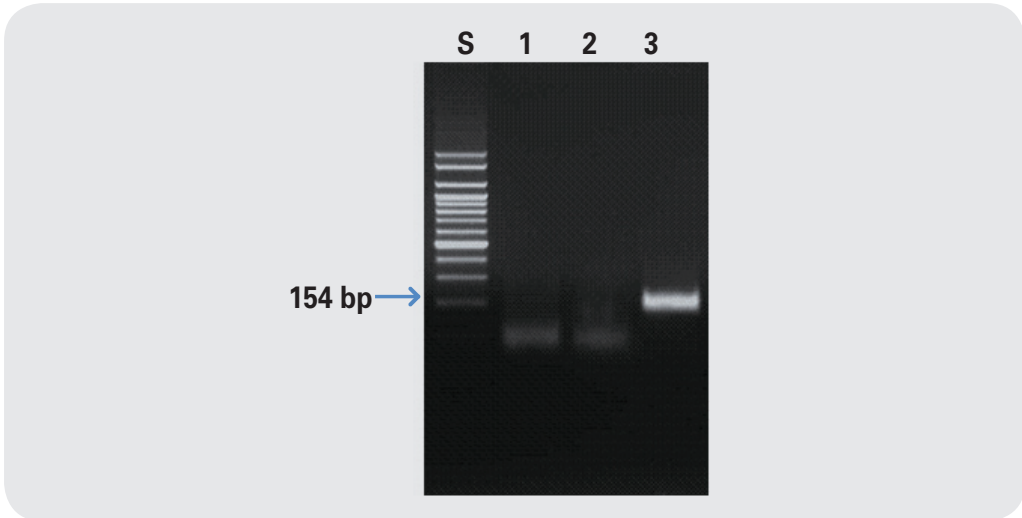


그림 160. 클로렐라 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 녹차, lane 2 ; 시금치, lane 3 ; 클로렐라

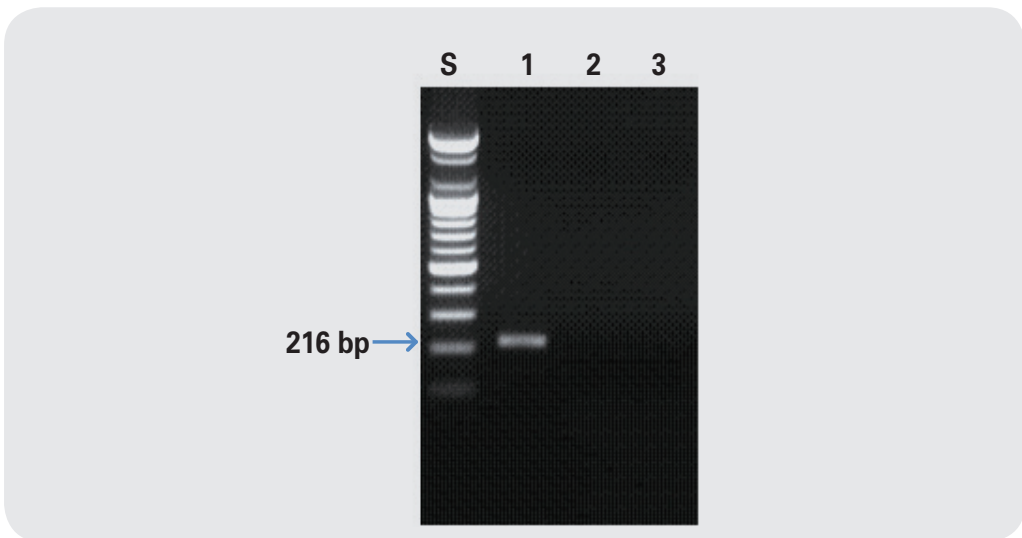


그림 161. 태국참 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 태국참(*Pueraria mirifica*), lane 2 ; 한국참(*Pueraria lobata*), lane 3 ; 태국참(*Butea superba*)

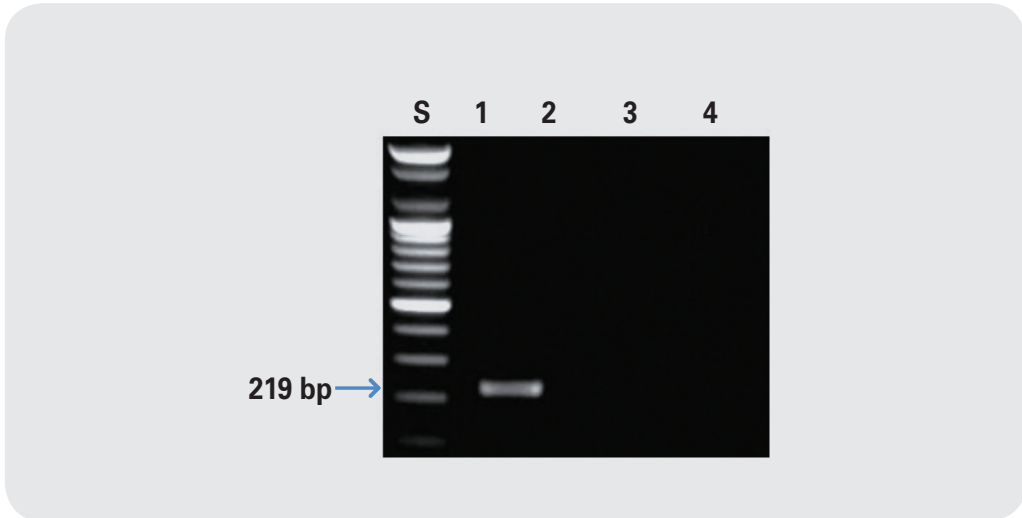


그림 162. 과라나 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 과라나, lane 2 ; 커피, lane 3 ; 카카오, lane 4 ; 단풍나무

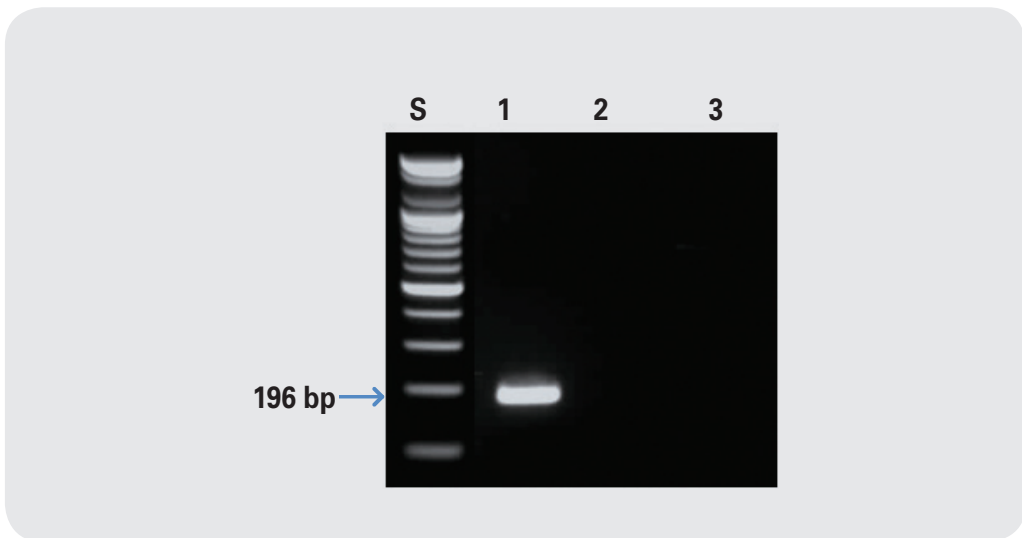


그림 163. 흰민들레 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 흰민들레, lane 2 ; 민들레, lane 3 ; 서양민들레

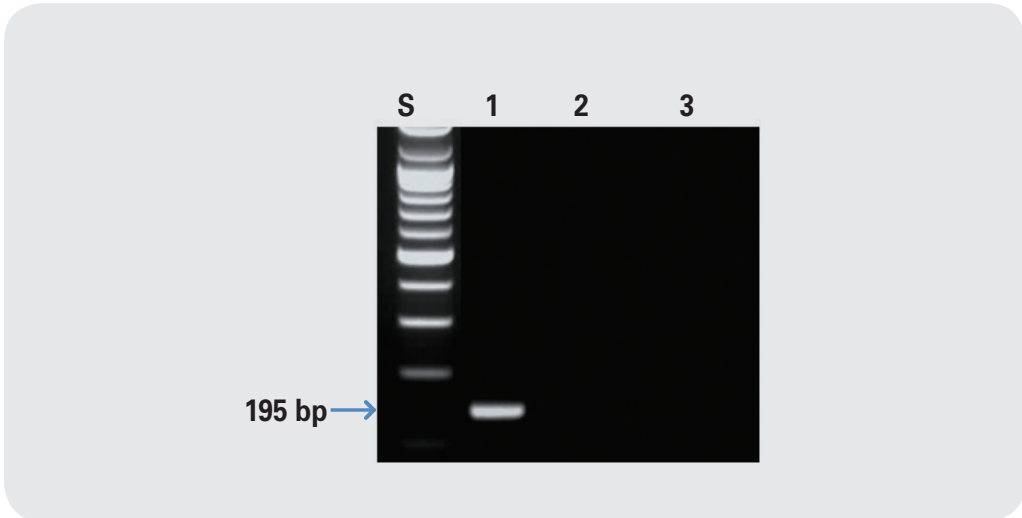


그림 164. 민들레 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 민들레, lane 2 ; 흰민들레, lane 3 ; 서양민들레

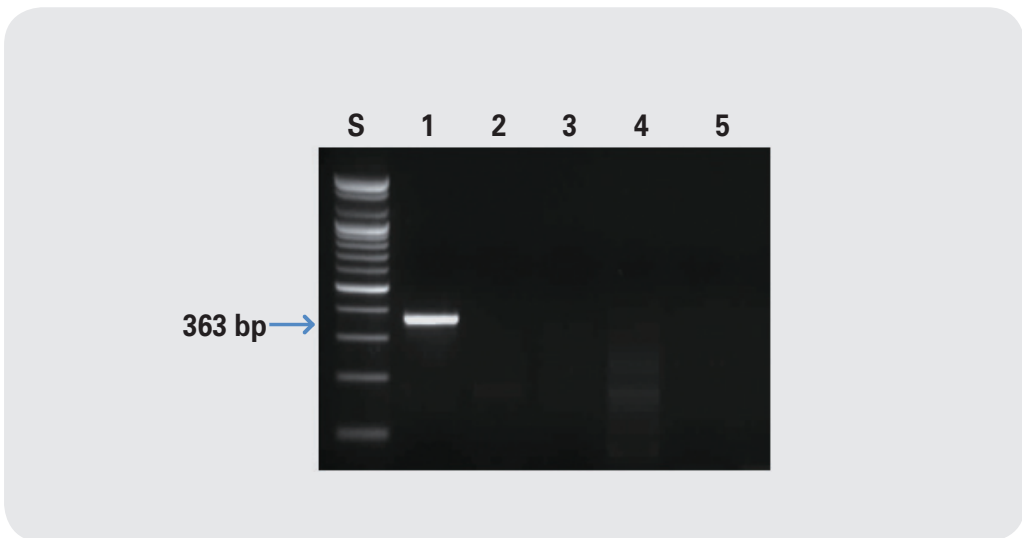


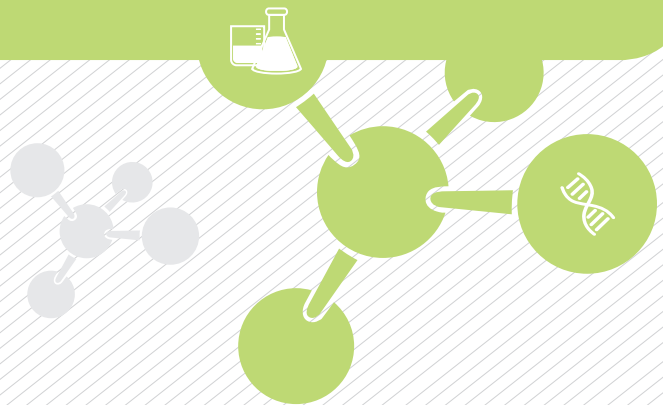
그림 165. 아파니조메논 플로스아쿠아 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 아파니조메논 플로스아쿠아, lane 2 ; 클로렐라, 3 ; 스피루리나, lane 4 ; 녹차, lane 5 ; 시금치





일반(universal) 프라이머를 이용한 유전자 증폭(PCR)

III - I . 동물성 원료



III

일반(universal) 프라이머를 이용한 유전자 증폭(PCR)

III - I . 동물성 원료

1 LCO1490/HCO2198 프라이머를 이용한 방법

※ 본 프라이머는 일반적으로 동물의 미토콘드리아 유전자(mtDNA)에 존재하는 *Cytochrome c oxidase (COI)*에 존재하는 부위를 증폭하기 위한 방법임.

1.1. LCO1490/HCO2198 프라이머 서열

COI 부위를 증폭하기 위한 프라이머는 아래 표 161에 명시된 것과 같다.

표 161. COI 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
미토콘드리아 (COI)	LCO1490	GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G	약 700bp	Folmer et al. (1994)
	HCO2198	TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA		

1.2. PCR 반응액의 조성

PCR을 위한 반응액의 조성은 아래 표 162과 같다.

표 162. PCR 반응액의 조성

성분	Stock 용액 농도	최종 농도(튜브)	1회 분량
Taq DNA polymerase	5 U/μℓ	1.0 U	0.2 μℓ
완충액	10 x	1 x	2.0 μℓ
MgCl ₂	25 mM	2.0 mM	1.6 μℓ
dNTPs	2.5 mM	200 μM	1.6 μℓ
프라이머	각 10 pmol	각 10 pmol	각 1.0 μℓ
주형DNA	50 ng/μℓ	50 ng	1.0 μℓ
멸균증류수			11.6 μℓ
전체량			20.0 μℓ

※ 반응액의 조성은 모든 항목에 공통으로 적용되며 경우에 따라 MgCl₂의 농도를 1.0~2.5 mM로 조절할 수 있다.

1.3. PCR 반응 조건

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 163과 같다.

표 163. PCR 반응 조건

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	95°C	5분	1	
변성(denaturation)	95°C	1분		
결합(annealing)	40°C	1분	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

1.4. PCR 반응 결과

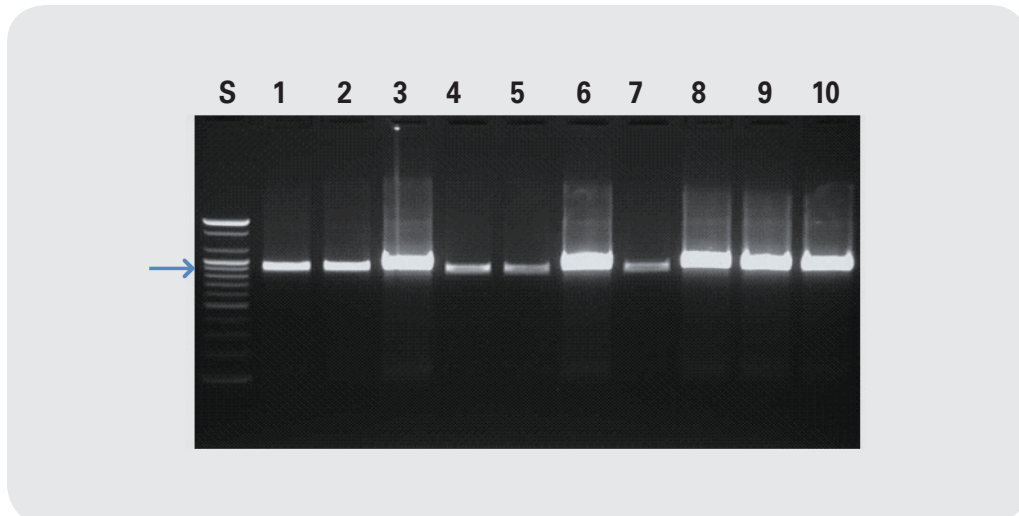


그림 166. LCO1490/HCO2198 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 : 양, lane 2 : 염소, lane 3 : 소, lane 4 : 말, lane 5 : 사슴, lane 6 : 돼지, lane 7 : 오리, lane 8 : 닭, lane 9 : 타조, lane 10 : 칠면조

2 VF2(I)/FISH R2 프라이머를 이용한 방법

※ 본 프라이머는 일반적으로 동물의 미토콘드리아에 존재하는 *Cytochrome c oxidase (COI)*에 존재하는 부위를 증폭하기 위한 방법이며 어류에 주로 이용된다.

2.1. VF2(I)/FISH R2 프라이머 서열

COI 부위를 증폭하기 위한 프라이머는 아래 표 164에 명시된 것과 같다.

표 164. COI 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
미토 콘드리아 (COI)	VF2(I)	TGT AAA ACG ACG GCC AGT CAA CCA ACC ACA AAG ACA TTG GCA C	약 1,100bp	Zhang (2011)
	FISH R2	CAG GAA ACA GCT ATG ACA CTT CAG GGT GAC CGA ATC AGA A		

2.2. PCR 반응 조건

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 165와 같다.

표 165. PCR 반응 조건

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	95°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	1분		
결합(annealing)	※°C	1분	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

※ 단, 결합온도는 종에 따라 최적의 온도는 달리하였음(참어, 청대구 및 명태(이상 40°C), 대구 및 우럭(55°C), 다랑어(54°C), 양, 염소, 소, 말, 사슴, 돼지, 오리, 닭, 타조 및 칠면조(이상 50°C)).

2.3. PCR 반응 결과

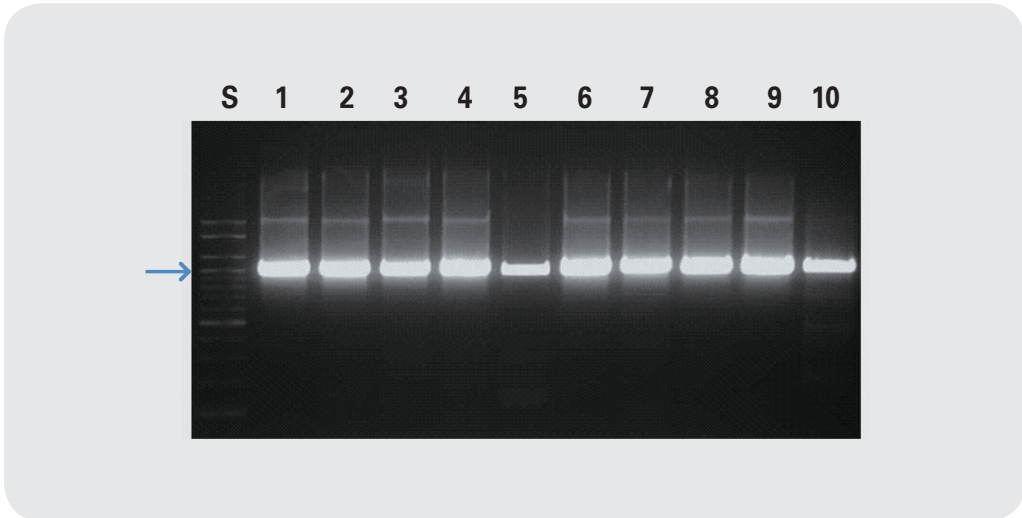


그림 167. VF2/FISH R2 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 양, lane 2 ; 염소, lane 3 ; 소, lane 4 ; 말, lane 5 ; 사슴, lane 6 ; 돼지, lane 7 ; 오리, lane 8 ; 닭, lane 9 ; 타조, lane 10 ; 칠면조

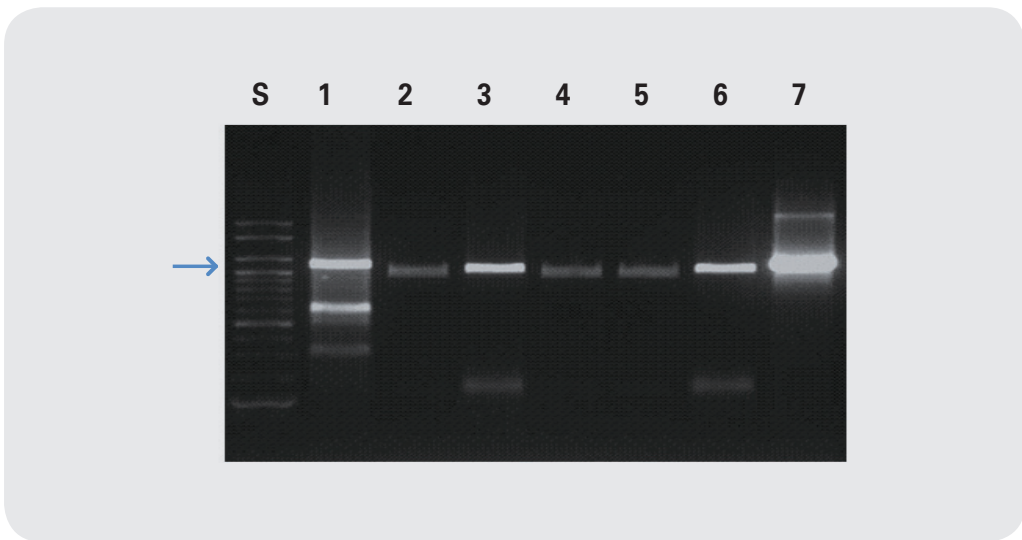


그림 168. VF2(I)/FISH R2 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 청어, lane 2 ; 명태, lane 3 ; 대구, lane 4 ; 청대구, lane 5 ; 송어, lane 6 ; 다랑어, lane 7 ; 우럭

제1장

제2장

제3장

제4장

제5장

제6장

제7장

3 VF2(Ⅱ)/FISH R1 프라이머를 이용한 방법

※ 본 프라이머는 일반적으로 동물의 미토콘드리아에 존재하는 *Cytochrome c oxidase (COI)*에 존재하는 부위를 증폭하기 위한 방법이며 어류에 주로 이용된다.

3.1. VF2(Ⅱ)/FISH R1 프라이머 서열

COI 부위를 증폭하기 위한 프라이머는 아래 표 166에 명시된 것과 같다.

표 166. COI 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
미토 콘드리아 (COI)	VF2(Ⅱ)	CGA CTA ATC ATA AAG ATA TCG GCA C	약 600bp	Ward et al. (2005)
	FISH R1	TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AAT CA		

3.2. PCR 반응 조건

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 167와 같다.

표 167. PCR 반응 조건

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기 변성(Initial denaturation)	95°C	3분	1	
변성(denaturation)	94°C	30초	35	
결합(annealing)	52°C	40초		
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	5분	1	
보존	4°C	-	-	-

3.3. PCR 반응 결과

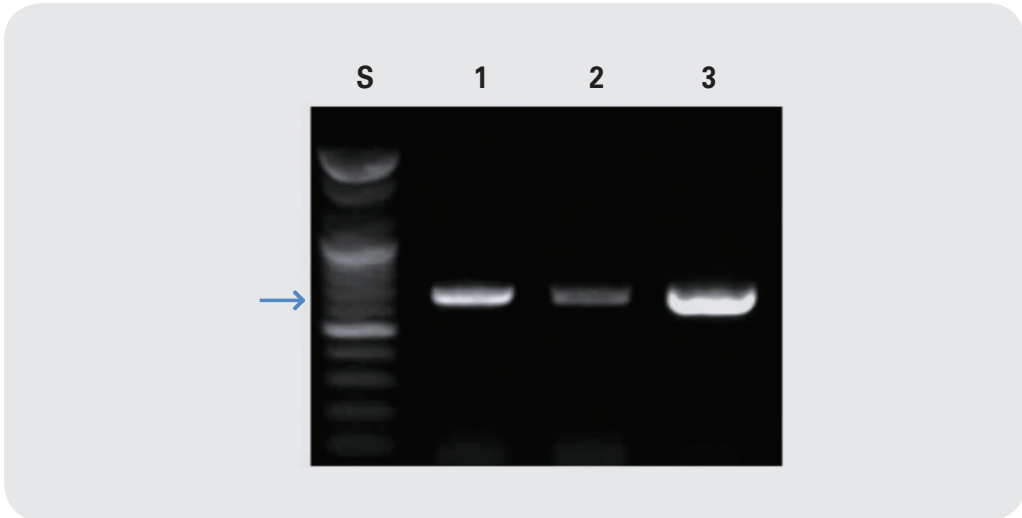


그림 169. VF2(Ⅱ)/FISH R1 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 참조기, lane 2 ; 아귀, lane 3 ; 복어

제1장

제2장

제3장

제4장

제5장

제6장

제7장

4 L14724/H15915 프라이머를 이용한 방법

※ 본 프라이머는 일반적으로 동물의 미토콘드리아에 존재하는 *Cytochrome b (Cytb)*에 존재하는 부위를 증폭하기 위한 방법임.

4.1. L14724/H15915 프라이머 서열

Cytb 부위를 증폭하기 위한 프라이머는 아래 표 168에 명시된 것과 같다.

표 168. *Cytb* 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
미토 콘드리아 (<i>Cytb</i>)	L14724	CGA AGC TTG ATA TGA AAA ACC ATC GTT G	약 1,200bp	Irwin et al. (1991)
	H15915	AAC TGC AGT CAT CTC CGG TTT ACA AGA C		

4.2. PCR 반응 조건

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 169과 같다.

표 169. PCR 반응 조건

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기 변성(Initial denaturation)	94°C	4분	1	
변성(denaturation)	94°C	45초	35	
결합(annealing)	44°C	1분		
신장(extension)	72°C	1분30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

4.3. PCR 반응 결과

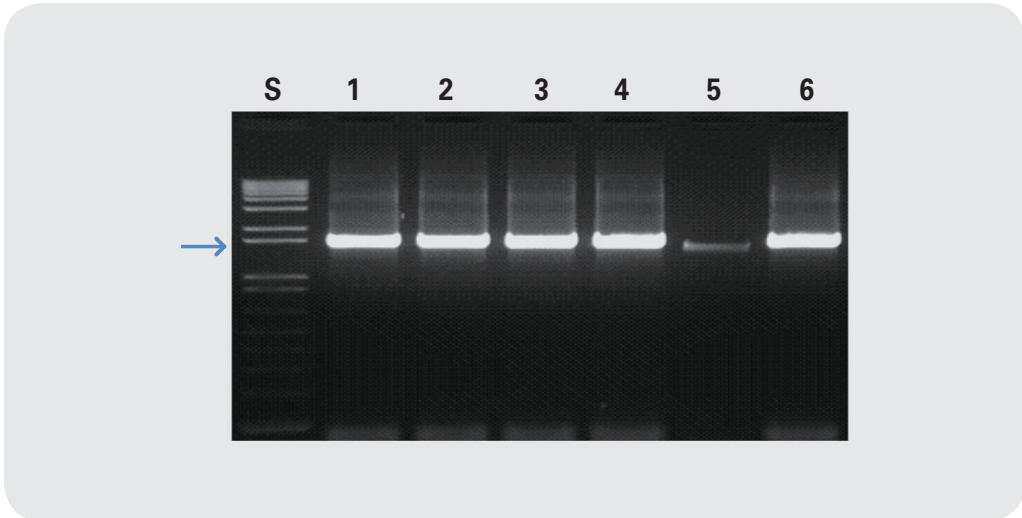


그림 170. L14724/H15915 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 양, lane 2 ; 염소, lane 3 ; 소, lane 4 ; 말, lane 5 ; 사슴, lane 6 ; 돼지

Ⅲ-Ⅱ. 식물성 원료

1 psbA/trnH 프라이머를 이용한 방법

※ 본 프라이머는 일반적으로 식물의 엽록체에 존재하는 부위를 증폭하기 위한 방법임

1.1. psbA/trnH 프라이머 서열

엽록체에 존재하는 유전자의 일부분을 증폭하기 위한 프라이머는 아래 표 170에 명시된 것과 같다.

표 170. psbA/trnH 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
엽록체	trnH	CGC GCA TGG TGG ATT CAC AAT CC	종에 따라 차이 있음	Mattia et al. (2011)
	psbA	GTT ATG CAT GAA CGT AAT GCT C		

1.2. PCR 반응 조건

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 171과 같다.

표 171. PCR 반응 조건

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	7분	1	
변성(denaturation)	94°C	45초	35	
결합(annealing)	53°C	30초		
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

1.3. PCR 반응 결과

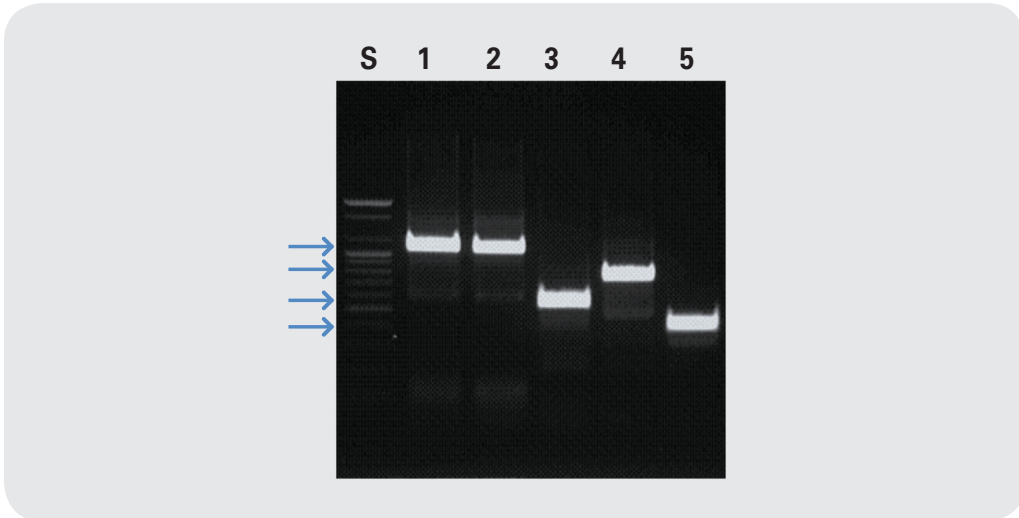


그림 171. psbA/trnH 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 마늘, lane 2 ; 양파, lane 3 ; 녹차, lane 4 ; 시금치, lane 5 ; 무

2 rpoB 프라이머를 이용한 방법

※ 본 프라이머는 일반적으로 식물의 엽록체에 존재하는 부위를 증폭하기 위한 방법임.

2.1. rpoB 프라이머 서열

엽록체에 존재하는 유전자의 일부분을 증폭하기 위한 프라이머는 아래 표 172에 명시된 것과 같다.

표 172. rpoB 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
엽록체	rpoB 1f	AAG TGC ATT GTT GGA ACT GG	약 600bp	Mattia et al. (2011)
	rpoB 4r	GAT CCC AGC ATC ACA ATT CC		

2.2. PCR 반응 조건

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 173과 같다.

표 173. PCR 반응 조건

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	7분	1	
변성(denaturation)	94°C	45초		
결합(annealing)	55°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

2.3. PCR 반응 결과

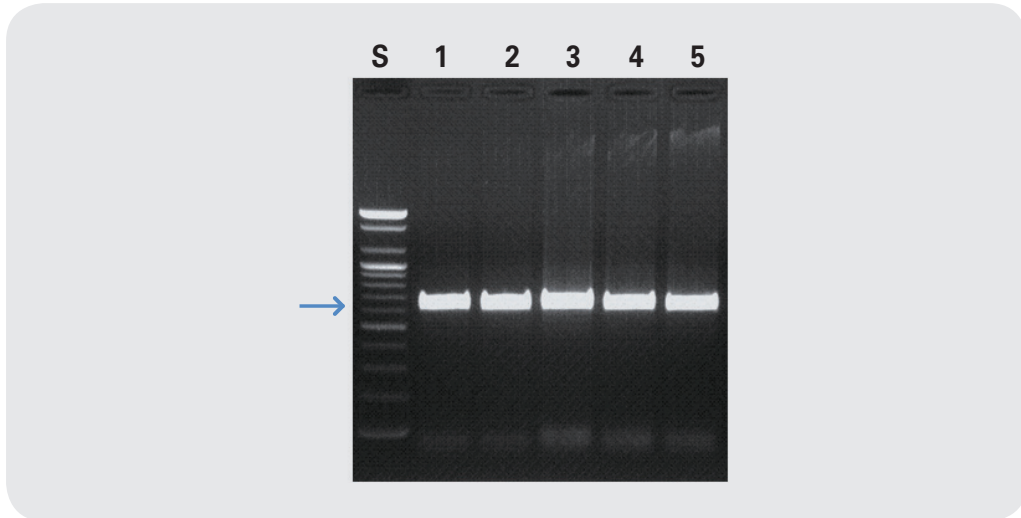


그림 172. rpoB 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 마늘, lane 2 ; 양파, lane 3 ; 녹차, lane 4 ; 시금치, lane 5 ; 무

제1장

제2장

제3장

제4장

제5장

제6장

제7장

3 rbcL 프라이머를 이용한 방법

※ 본 프라이머는 일반적으로 식물의 엽록체에 존재하는 부위를 증폭하기 위한 방법임.

3.1. rbcL 프라이머 서열

엽록체에 존재하는 유전자의 일부분을 증폭하기 위한 프라이머는 아래 표 174에 명시된 것과 같다.

표 174. rbcL 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
엽록체	rbcL 1F	ATG TCA CCA CAA ACA GA AAC	약 1,100bp	Mattia et al. (2011)
	rbcL 724R	TCG CAT GTA CCT GCA GTA GC		

3.2. PCR 반응 조건

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 175과 같다.

표 175. PCR 반응 조건

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기변성(Initial denaturation)	94°C	7분	1	
변성(denaturation)	94°C	45초		
결합(annealing)	55°C	30초	35	
신장(extension)	72°C	1분		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

3.3. PCR 반응 결과

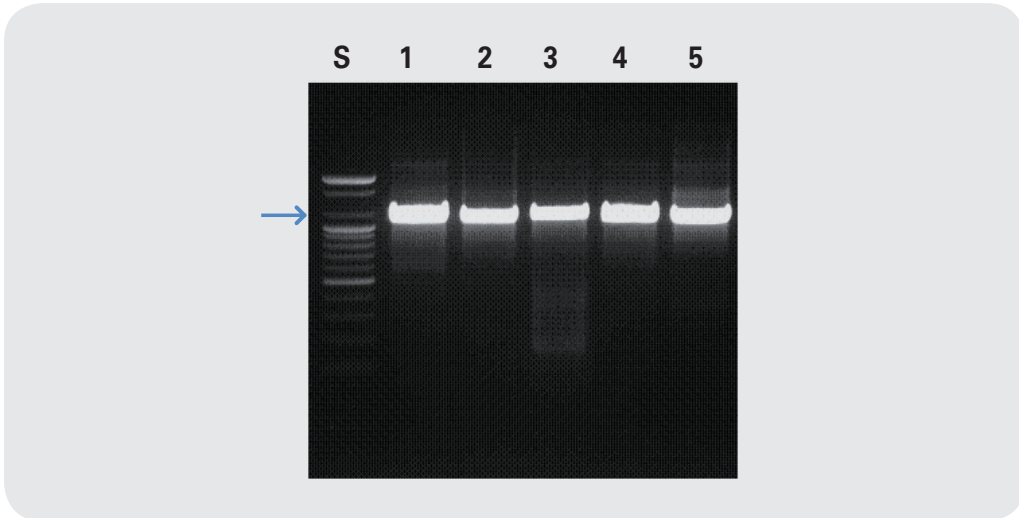


그림 173. rbcL 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 마늘, lane 2 ; 양파, lane 3 ; 녹차, lane 4 ; 시금치, lane 5 ; 무

제1장

제2장

제3장

제4장

제5장

제6장

제7장

4 ITS1/4 프라이머를 이용한 방법

※ 본 프라이머는 일반적으로 식물의 엽록체에 존재하는 부위를 증폭하기 위한 방법임.

4.1. ITS1/4 프라이머 서열

핵 내에 존재하는 유전자의 일부분을 증폭하기 위한 프라이머는 아래 표 176에 명시된 것과 같다.

표 176. ITS1/4 프라이머 정보

구분	프라이머 명	염기서열(5'-3')	예상 크기(bp)	비고
핵	ITS1	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G	약 707bp	White, T. J. (1990)
	ITS4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC		

4.2. PCR 반응 조건

PCR을 위한 반응조건은 아래 표 177과 같다.

표 177. PCR 반응 조건

구분	온도	시간	반복 수	비고
초기 변성(Initial denaturation)	94°C	5분	1	
변성(denaturation)	94°C	1분		
결합(annealing)	50°C	1분	30	
신장(extension)	72°C	1분 30초		
최종신장(elongation)	72°C	7분	1	
보존	4°C	-	-	-

4.3. PCR 반응 결과

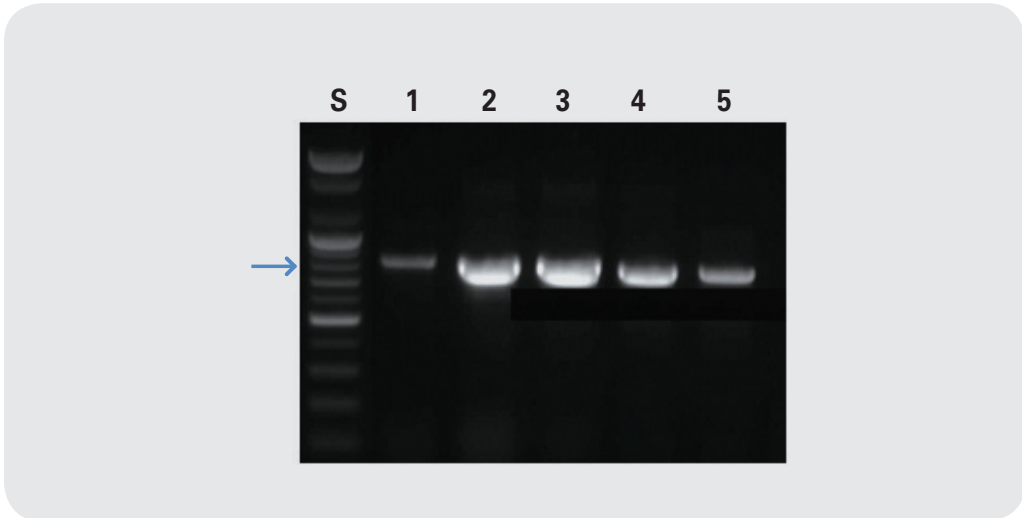


그림 174. ITS1/4 프라이머를 이용한 PCR 결과. Lane 1 ; 복분자, lane 2 ; 라즈베리, lane 3 ; 블랙베리, lane 4 ; 블랙라즈베리, lane 5 ; 포도

제1장

제2장

제3장

제4장

제5장

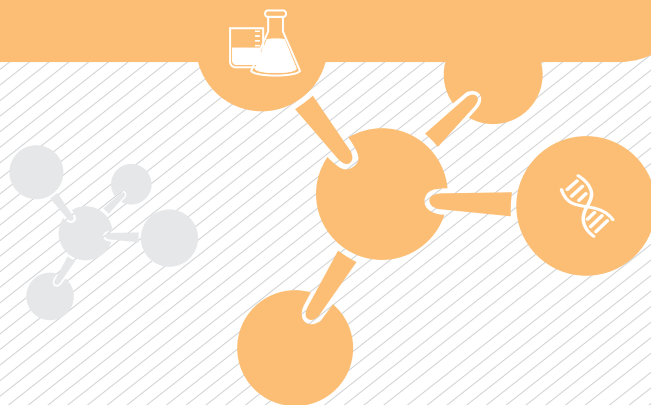
제6장

제7장





유전자 증폭산물의 확인



IV

유전자 증폭산물의 확인

IV- I . 전기영동에 따른 결과의 판정

PCR 증폭 결과는 아가로스 겔(agarose gel) 등을 이용한 전기영동에 의해 확인할 수 있다.

1. 1. 영동조의 준비

오염 등의 위험방지를 위해 실험용 고무장갑을 착용하여 조작한다. 먼저 겔 조제용 틀(gel maker)을 조립한다. 겔의 농도는 전기영동할 DNA 길이와 아가로스 겔의 종류에 따라 결정한다. 본 실험에서는 전기영동하고자 하는 대상이 검체에서 추출한 DNA와 크기가 200 bp 전후의 PCR 증폭 산물이므로 이에 적합한 아가로스 겔을 제조사의 설명서를 참고하여 사용한다. 필요량의 아가로스를 칭량하여 전기영동 완충액을 넣고 가열하여 아가로스를 녹여 사용한다. 전기영동 완충액으로는 0.5 ~ 1배의 TAE (Tris-acetate/EDTA) 완충액 또는 TBE (Tris-borate/EDTA) 완충액을 사용할 수 있으며, 아가로스 겔의 제조 시 사용된 완충액과 같은 것을 전기영동 과정 및 겔의 염색과정에서도 사용하여야 한다.

또한 200 bp 이하의 작은 크기의 PCR 증폭산물을 전기영동 하므로 아가로스는 겔 농도가 높은 것을 사용한다(PCR 산물의 크기에 따라 1.5~2.5% 사용). 아가로스가 충분히 녹아 겔이 균일하게 되면 55°C 정도로 식혀서 겔 조제용 틀에 넣고 콤(comb)을 끼운 후 30분 정도 방치하여 충분히 겔을 굳힌다. 전(前)염색법은 겔 조제용 틀에 넣기 전에 아가로스겔 100 mL 당 5 µL의 에티디움 브로마이드(EtBr) 용액(10 mg/mL)을 넣고 잘 혼합한다. 겔이 굳으면 겔이 잠기도록 전기영동 완충액을 부어 콤을 조심스럽게 뺀다. 겔을 전기영동조에 장착하고, 겔의 윗면이 충분히 잠길 정도로 전기영동 완충액을 채운다.

1. 2. 전기영동

PCR 증폭산물에 염색액(gel loading buffer)을 혼합 후 겔의 각 홈에 시료를 조심스럽게 넣으며, 양끝의 각 홈에는 PCR 증폭 산물의 크기를 식별하기에 적당한 표식 DNA (Marker DNA)을 넣는다. 시료를 주입 후 사용하는 전기영동조의 규격에 맞는 전압에서 전기영동 한다. 염색액에 함유된 BpB (Bromophenol Blue)가 겔의 1/2에서 2/3가량 진행하면 전기영동을 멈추고 화상분석기 등을 이용하여 전기영동 결과를 확인한다.

1.3. 겔의 염색

후(後)염색법의 경우 전기영동 완충액 100 mL당 5 μ L의 에티디움 브로마이드(EtBr)용액(10 mg/mL)을 넣은 염색액에 영동이 끝난 겔을 즉시 넣은 후, 용기를 진탕기(shaker)에 올려놓고 가볍게 진동시키면서 20~30분 정도 염색한 후 다시 30분 정도 전기영동 완충액에 넣어 탈색시킨다(단, 전염색법은 이 조작은 불필요하며 바로 결과를 확인할 수 있다).

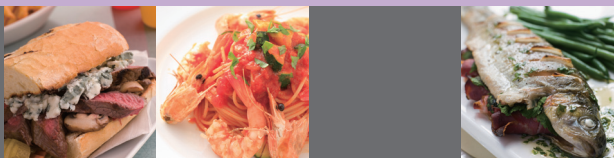
! 주의사항

에티디움 브로마이드(Ethidium bromide) 시약은 2중 나선 DNA의 나선 사이에 삽입되는 형광시약으로 강력한 돌연변이원성 물질이므로 취급에 주의해야 한다. 취급 시 반드시 고무장갑을 끼고 마스크를 착용하여야 한다. 폐액은 에티디움 브로마이드 처리용의 기구를 사용하는 것이 좋으나, 그럴 수 없는 경우에는 반드시 활성탄(Activated charcoal) 등으로 처리한 후에 폐기하고 고농도의 경우 처리업자에게 위탁한다.

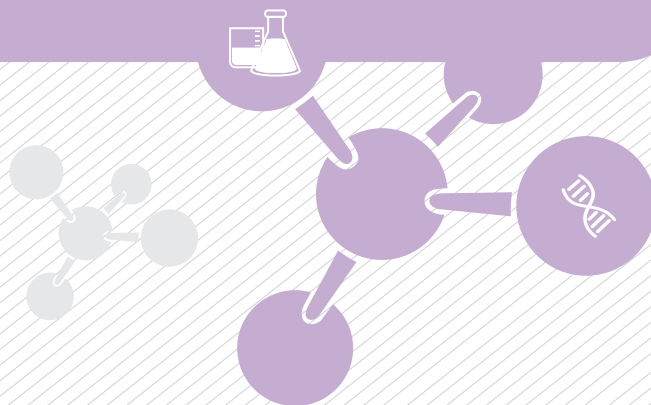
1.4. 결과의 확인

화상분석기나 Trans-illuminator에 랩을 깔고, 그 위에 염색이 끝난 겔을 올려놓고 자외선을 조사한다. CCD 카메라에 의한 촬영으로 유형을 확인하며, 목적하는 위치에서 밴드(band)가 얻어졌는지를 확인한 후 결과는 화상데이터로 보존해둔다. 폴라로이드 카메라를 사용할 경우 겔의 사진을 촬영하여 보관한다.





유전자 증폭산물의 결과 판정



V

유전자 증폭산물의 결과 판정

V- I. 결과 판정

1.1. PCR 산물 확인

종 특이 프라이머(Species-specific primer)를 사용한 PCR 결과 산물의 생성유무 및 크기를 확인하여 종을 판별 한다. 다만 필요시에는 PCR 산물에 대하여 염기서열을 결정하고 유전자 DB를 이용하여 종 동정을 할 수 있다.

1.2. 염기서열 분석

일반 프라이머(universal primer)를 사용한 경우 PCR 산물은 염기서열을 결정하고 NCBI(www.ncbi.nlm.nih.gov) 등 유전자 DB를 사용하여 최종 동정을 실시한다.

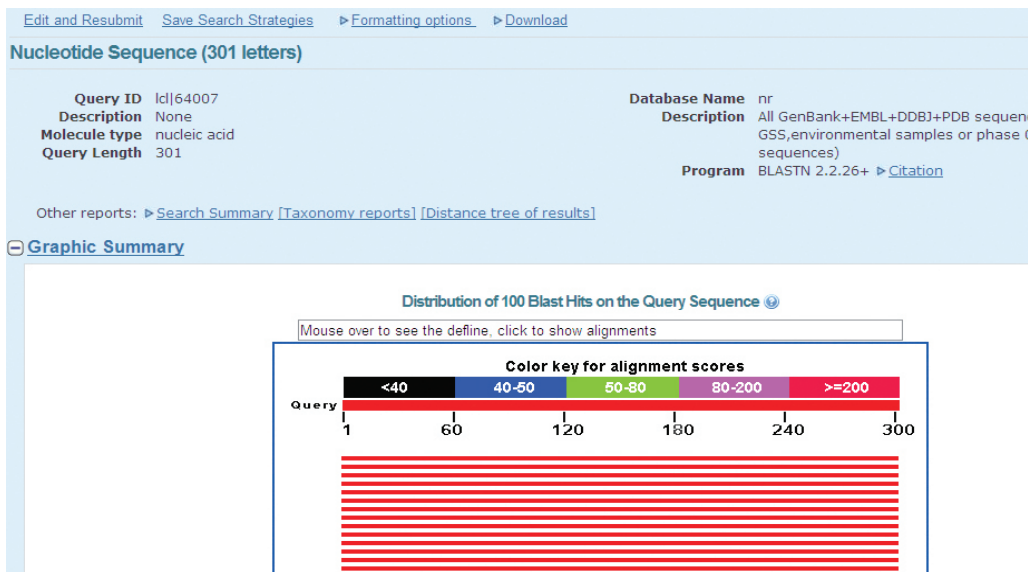
예시) COI 부위를 증폭할 수 있는 일반프라이머(LC01490/HC02198)를 이용하여 육류를 대상으로 PCR 후 염기서열을 결정하고 아래의 방법으로 수행한다.

가) BioEdit 등의 프로그램을 이용하여 염기서열을 편집한다.



나) Blastn 등의 프로그램을 이용하여 염기서열을 입력한다.

다) 입력된 자료는 DB내의 염기서열 자료와 비교한다.



제1장

제2장

제3장

제4장

제5장

제6장

제7장

라) 염기서열을 분석하여 가장 근접한 종과의 일치도를 나타낸다.

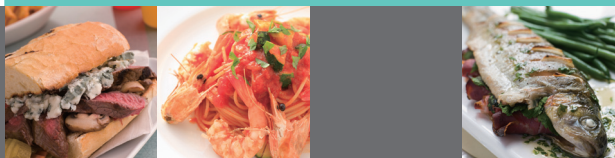
[본 데이터는 소고기(학명 : *Bos taurus*)로 판명된 경우임]

Descriptions

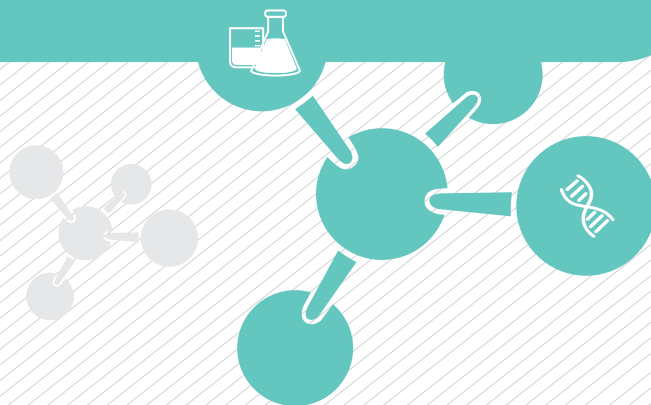
Legend for links to other resources: [U](#) UniGene [E](#) GEO [G](#) Gene [S](#) Structure [M](#) Map Viewer [P](#) PubChem BioAssay

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max iden
HQ219063.1	Bos taurus isolate BS4 cytochrome oxidase subunit I gene, partial cc	556	556	100%	2e-155	100%
HQ184039.1	Bos taurus isolate Chi466 mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%
HQ184038.1	Bos taurus isolate Cab1 mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%
HQ184037.1	Bos taurus isolate Ga16 mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%
HQ184036.1	Bos taurus isolate Gal5 mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%
HQ184035.1	Bos taurus isolate Rom590 mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%
HQ184034.1	Bos taurus isolate Rom534 mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%
HQ184033.1	Bos taurus isolate Rom550 mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%
HQ184032.1	Bos taurus isolate Chi597 mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%
HQ184031.1	Bos taurus isolate Chi490 mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%
HQ184030.1	Bos taurus isolate Chi467 mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%
GU947021.1	Bos taurus isolate CLH_19 mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%
GU947020.1	Bos taurus isolate CB86Clone mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%
GU947019.1	Bos taurus isolate CB86 mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%
GU947018.1	Bos taurus isolate H1389 mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%
GU947017.1	Bos taurus isolate H1207 mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%
GU947016.1	Bos taurus isolate H1301 mitochondrion, complete genome	556	556	100%	2e-155	100%



참고문헌



VI

참고문헌

박용춘, 김미라, 김용상, 이호연, 김규현, 이재황, 김재이, 이상재, 이화정 : 전분의 주원료 판별을 위한 유전자 분석법 개발 및 적용, 한국식품위생안전성학회지, 2013, 28(2), 181~187

박용춘, 김미라, 신준호, 김규현, 이재황, 조태용, 이화정, 이상재, 한상배 : PCR을 이용한 식품 중 알레르기 유발물질 검출법 개발, 한국식품위생안전성학회지, 2013, 28(2), 124~129

박용춘, 김미라, 임지영, 박영은, 신준호, 황초롱, 임잔디, 김규현, 이재황, 조태용, 이화정, 한상배 : 고추식육추출가공품의 사용원료 확인을 위한 유전자추출 방법의 비교 및 검토, 한국식품위생안전성학회지, 2012, 27(2), 146~151

박용춘, 신승정, 이호연, 김용상, 김미라, 이상재, 이화정, 한상배 : 식품 중 사용금지 원료인 *Aphanizomenon flos-aquae* 검출법 개발 및 응용, 한국식품위생안전성학회지, 2013, 28(2), 188~193

박용춘, 안치영, 진상욱, 임지영, 김규현, 이재황, 조태용, 이화정, 박건상, 윤혜성 : 종 특이 프라이머를 이용한 식육가공품의 사용원료 판별법, 한국식품위생안전성학회지, 2012, 27(1), 68~73

박용춘, 임지영, 김미라, 박영은, 임잔디, 황초롱, 김규현, 이재황, 조태용, 이화정, 이상재, 한상배 : 고추다대기 혼입 불량고춧가루 판별법 개발, 한국식품위생안전성학회지, 2012, 27(2), 182~187

박용춘, 진상욱, 임지영, 김규현, 이재황, 조태용, 이화정, 한상배, 이상재, 이광호, 윤혜성 : 일반 프라이머를 이용한 PCR의 식품원료 진위 판별에 적용, 한국식품위생안전성학회지, 2012, 27(3), 317~324

박종근, 신기현, 신성철, 정구용, 정의룡 : 미토콘드리아 12S rRNA 유전자의 종 특이적 PCR-RFLP Fingerprinting를 이용한 식육원료의 판별, 한국축산식품학회지, 2007, 27(2), 209~215.

진봄비 : 한국산 버드나무속(Salix) 식물의 DNA barcode marker 변이 연구, 대구대학교 석사학위논문, 2011,

허만규, 윤혜정, 최주수 : trnL-trnF 서열에 의한 한국 굴나무속과 두 근연 식물종의 계통분류학적 연구, 생명과학회지, 2011, 21(10), 1452~1459

홍은정, 김미화, 박수지, 강지원, 김동술, 이화정, 김은정, 이재황, 김승희, 이광호, 노봉수 : 유사식품인 오징어 젓갈과 한치 젓갈의 판별을 위한 MS-전자코 분석, 산업식품공학, 2011, 15(2), 122~129

홍은정, 김미화, 박수지, 김지은, 김동술, 이화정, 김은정, 이재황, 김승희, 이광호, 노봉수 : 황태채, 북어채 및 대구채 판별을 위한 전자코 분석, 산업식품공학, 2011, 15(2), 162~168

Am Hee Kim, Hye Jung An, Ji Young Hyun, Soon Ho Choi, and Chee Hark Harn. Application of Simple Sequence Repeats (SSR) Analysis for Determining the Degree of Purity and Variety Identification from Pepper F1 Varieties. SOL, PS-78 (2007)

Anderson, S, de Bruijn M. H., Coulson, A. R., Eperon, I. C., Sanger, F. & Young, I. G. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA. Conserved features of the mammalian mitochondrial genome. *J. Mol. Biol.* 156(4), 683-717 (1982)

Antonella, P., Cinzia, M., Francesco, C. & Antonio, B. Identification of Virgin Olive Oil from Different Cultivars by Analysis of DNA Microsatellites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1068-1071 (2004)

Arong, L., Aibing, Z., Simon, Y. W., Ho, W. X., Yanzhou, Z., Weifeng, S., Stephen, L. C. & Chaodong, Z. Potential Efficacy of Mitochondrial Genes for Animal DNA Barcoding: A Case Study Using Eutherian Mammals. *BMC Genomics*, 12(84), 1471-2164 (2011)

Ba, R. E. C., Stephenson, P., Edwards, K., Melzer, S., Nkumbira, J., Gullberg, U., Apel, K., Gale, M., Tohme, J. & Fregene, M. Simple sequence repeat (SSR) markers survey of the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genome: towards an SSR-based molecular genetic map of cassava. *Theor Appl Genet.* 102, 21-31 (2001)

Baldwin, B. G. Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: An example from the compositae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1, 3–16 (1992)

Bellagamba, F., Moretti, V. M., Comincini, S. & Valfre, F. Identification of species in animal feedstuffs by polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism analysis of mitochondrial DNA. *J. Agric. Food. Chem.* 49(8) 3775–81 (2001)

Brown, W. M., George, M., Jr. & Wilson, A. C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 76, 1967–1971 (1979)

Busconi, M., Foroni, C., Corradi, M., Bongiorni, C., Cattapan, F. & Fogher, C. DNA Extraction from Olive Oil and Its Use in the Identification of the Production Cultivar. *Food Chemistry*, 83, 127–134 (2003)

Buteler, M. I., Jarret, R. L. & LaBonte, D. R. Sequence characterization of microsatellites in diploid and polyploid Ipomoea. *Theor Appl Genet.* 99, 123–132 (1999)

Buteler, M. I., Jarret, R. L. & LaBonte, D. R. Sequence characterization of microsatellites in diploid and polyploid Ipomoea. *Theor Appl Genet.* 99, 123–132 (1999)

Callum, J., Clarke, A., Pither–Joyce, M., Shaw, M., Butler, R., Brash, D., Scheffer, J., Sims, I., Sjaak van Heusden & Shigyo, M. et al. Genetic mapping of a major gene affecting onion bulb fructan content. *Theor Appl Genet.* 112, 958–967 (2006)

Calvo, J. H., Rodellar, C., Zaragoza, P. & Osta, R. Beef and bovine–derived material identification in processed and unprocessed food and feed by PCR amplification. *J. Agric. Food, Chem.* 50(19), 5262–4 (2002)

Christopher, P. & Meyer, G. P. DNA Barcoding: Error Rates Based on Comprehensive Sampling. *PLoS Biology*, 3, 12 (2005)

Cipriani, G., Marrazzo, M. T., Marconi, R., Cimato, A. & Testolin, R. Microsatellite

markers isolated in olive (*Olea europaea* L.) are suitable for individual fingerprinting and reveal polymorphism within ancient cultivars. *Theor Appl Genet.* 104, 223–228 (2002)

Cipriani, G., Marrazzo, M. T., Marconi, R., Cimato, A., Testolin, R. Microsatellite markers isolated in olive (*Olea europaea* L.) are suitable for individual fingerprinting and reveal polymorphism within ancient cultivars. *Theor Appl Genet.* 104, 223–228 (2002)

Eong-Hye, K., Uik, S., Hyun-Cheol, L., Jae-Chul, K. & So-Deuk, P. Phylogenetic Analysis of Herbaceous Peony Using Ribosomal DNA Partial Sequencing and RAPDs. *Korean J. Breed.* 29, 349–358 (1997)

Fabrice, T., Celia, M. & Catherine, H. Food and forensic molecular identification: update and challenges. *TRENDS in Biotechnology.* 23, 359–366 (2005)

Fabrice, T., Celia, M. & Catherine, H. Food and Forensic Molecular Identification: Update and Challenges. *TRENDS in biotechnology.* 23, 7 (2005)

Filipe, P., João, C. & António, A. Identification of Species with DNA-Based Technology: Current Progress and Challenges. *Recent Patents on DNA & Gene Sequences.* 2, 187–200 (2008)

Fischer, D. & Bachmann, K. Onion microsatellites for germplasm analysis and their use in assessing intra- and interspecific relatedness within the subgenus *Rhizirideum*. *Theor Appl Genet.* 101, 153–164 (2000)

Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. DNA Primers for Amplification of Mitochondrial Cytochrome C Oxidase Subunit I from Diverse Metazoan Invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology.* 3(5), 294–299 (1994)

Gianmarco, F., Milena, A., Beatrice, C., Manuela, L. & Giovanni, B.. Species Identification Through DNA "Barcodes". *Genetic testing and molecular biomarkers.* 13(3), 421–426 (2009)



Gong, L., Stift, G., Kofler, R., Pachner, M. & Lelley, T. Microsatellites for the genus *Cucurbita* and an SSR-based genetic linkage map of *Cucurbita pepo* L. *Theor Appl Genet* 117, 37–48 (2008)

Gracia, Z. & Lila, V. Cloning of the Pleiotropic T Locus in Soybean and Two Recessive Alleles That Differentially Affect Structure and Expression of the Encoded *Flavonoid 3' Hydroxylase*. *Genetics*, 163, 295–309 (2003)

Gudmundur, H., Kristina, K., Monica, L., Antonios, M., Viggo, M., Manfred, N., Serge, P., Fausto, T., Cemal, T., Moleyur, N. V., Hannes, W., Dietmar, B. Identifying Fishes through DNA Barcodes and Microarrays. *PLoS ONE*, 5, e12620 (2010)

Guohao, H., Ronghua, M., Melanie, N., Guoqing, G., Roy, N. P. & Prakash, C. S. Microsatellites as DNA markers in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.). *BMC Plant Biology*. 3, 1471–2229 (2003)

He, G., Meng, R., Newman, M., Gao, G., Roy, N. P. & Prakash, C. S. Microsatellites as DNA markers in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.). *BMC Plant Biology*. 3, 1471–2229 (2003)

Hiai, Y. & Watabe, S. Identification of fish species in dried fish products by immunostaining using antimyosin light chain antiserum. *Food Research International*, 36, 1029–1035 (2003)

Hold, G. L., Russell, V. J., Pryde, S. E., Rehbein, H., Quinteiro, J., Vidal, R., Rey-Mendez, M., Sotelo, C. G., Perez-Martin, R. I., Santos, A. T. & Rosa, C. Development of a DNA-based method aimed at identifying the fish species present in food products. *J. Agric. Food. Chem.* 49(3), 1175–9 (2001)

Hollingsworth, P. M., Graham, S. W. & Little, D. P. Choosing and Using a Plant DNA Barcode. *PLoS one*, 6, 5 (2011)

Ichiaki, Y., Atsushi, N., Jun, I., Yasuharu, T., Mohammed, A. H., Takeshi, Y. & Yumiko, Y. Molecular Identification of Species and the Geographic Origin of Seafood.

Fisheries for Global Welfare and Environment. 5, 297–303 (2008)

Icolas, H., Robert, H., Erling, H., Nicholas, E. M., Eric, T., Mary, B., Douglas, W., Pierre, D., Allen, C., Paul, B., Junbin, Z., Julien, A. & Louis, B. Identifying Canadian Freshwater Fishes through DNA Barcodes. *PLoS ONE*. 3, e2490 (2008)

Ineiro, C., Sotelo, C. G., Medina, I., Gallardo, J. M. & Perez–Martin, R. I. Reversed phase HPLC as a method for the identification of gadoid fish species. *Zeitschrift fur Lebensmittel– Untersuchung und–Forschung*, 204, 411–416 (1997)

Ins–Lopes, P., Gomes, S., Santos, E. & Guedes–Pinto, H. DNA Markers for Portuguese Olive 59. Oil Fingerprinting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, 11786–11791 (2008)

Irwin DM, Kocher TD, Wilson AC,. Evolution of cytochrome b gene in mammals, *J Mol Biol Evol* 2:13~34 (1991)

Irkin, E. V. & Mirkin, S. M. Replication fork stalling at natural impediments. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 71, 13–35 (2007)

Jun, C., Qi, L., Lingfeng, K. & Hong, Y. How DNA Barcodes Complement Taxonomy and Explore Species Diversity: The Case Study of a Poorly Understood Marine Fauna. *PLoS one*. 6, 6 (2011)

Junbin, Z. Species Identification of Marine Fishes in China with DNA Barcoding. *Evidence–Based Complementary and Alternative Medicine*. 10, 1155 (2011)

Kenta, S., Erika, A., Hiroyuki, F., Akio, O., Shusei, S., Yasukazu, N., Satoshi, T., Shigemi, S., Tsuyuko, W., Yoshie, K., Hisano, T., Tsunakazu, F., Manabu, Y. & Sachiko, I. An interspeciWc linkage map of SSR and intronic polymorphism markers in tomato. *Theor Appl Genet*. 121, 731–739 (2010)

Kenta, S., Erika, A., Hiroyuki, F., Akio, O., Shusei, S., Yasukazu, N., Satoshi, T., Shigemi, S., Tsuyuko, W., Yoshie, K., Hisano, T., Tsunakazu, F., Manabu, Y. &



Sachiko, I. An interspecific linkage map of SSR and intronic polymorphism markers in tomato. *Theor Appl Genet.* 121, 731–739 (2010)

Kim, Y. C., Lee, C. S., Hwang, S. W., Kim, S. J., Lee, Y. O., Yoon, S. W., Seo, J. H. & Nam, Y. S. Comparative Evaluation on Qualitative PCR using Different Extraction Methods for Nucleic Acids on Soybean and Corn Processed Foods. *J. Fd Hyg. Safety.* 18, 6–13 (2003)

Lahiff, S., Glennon, M., O'Brien, L., Lyng, J., Smith, T., Maher, M. & Shilton, N. Species-specific PCR for the identification of ovine, porcine and chicken species in meta and bone meal (MBM). *Mol. Cell. Probes.* 15(1), 27–35 (2001)

Lewers, K. S. & Styan, S. M. N. Strawberry GenBank-derived and genomic simple sequence repeat (SSR) markers and their utility with strawberry, blackberry, and red and black raspberry. *JASHS January* 130, 102–115 (2005)

Maria, T. B. & Alessandra, D. Animal Species Identification in Food Products: Evolution of Biomolecular Methods. *The Veterinary Journal.* 10, 1016 (2010)

Mattia F., I. Bruni, A. Galimberti, F. Cattaneo, M. Casiraghi, and M. Labra, A comparative study of different DNA barcoding markers for the identification of some members of Lamiaceae. *Food Research International.* vol. 44, no. 3, pp. 693~702 (2011)

Nnocenzo, M. & Enzo, P. Recovery and Characterisation of DNA from Virgin Olive Oil. *European Food Research and Technology.* 214, 528–531 (2002)

Onaghan, M. T., Balke, M., Gregory, T. R. & Vogler, A. P. DNA-based Species Delineation in tropical Beetles Using Mitochondrial and Nuclear Markers. *Philosophical Transactions of The Royal Society B.* 360, 1925–1933 (2005)

Ontiel-Sosa, J. F., Ruiz-Pesini, E., Montoya, J., Roncales, P., Lopez-Perez, M. J. & Perez-Martos, A. Direct and highly species-specific detection of pork meat and fat in meat products by PCR amplification of mitochondrial DNA. *J. Agric. Food. Chem.* 48(7) 2829–32 (2000)

Park, Y. J., Dixit, A., Ma, K. H., Lee, J. K., Lee, M. H., Chung, C. S., Nitta, M., Okuno, K., Kim, T. S. Cho, E. G. & Rao, V. R. Evaluation of genetic diversity and relationships within an on-farm collection of *Perilla frutescens* (L.) Britt. using microsatellite markers. *Genet Resour Crop* 55, 523–535 (2008)

Paul, D. N., Hebert, A. C., Shelley, L. B. & Jeremy, R. d. Biological Identifications through DNA Barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 270, 313–321 (2003)

Pineiro, C., Barros-Velazquez J., Perez-Martin R. I. & Gallardo, J. M. Specific enzyme detection following isoelectric focusing as a complimentary tool for the differentiation of related Gadoid fish species. *Food Chemistry.* 70, 241–245 (2000)

Rakoczy-Trojanowska, M. & Bolibok, H. Characteristics and comparison of three classes of microsatellite-based markers and their application in plants. *Cell Mol Biol Lett.* 9, 221–238 (2004)

Ratnasingham, S. & Hebert, P. D. N. Barcoding Bold: The Barcode of Life Data System. *Molecular Ecology Notes.* 7, 355–364 (2007)

Rcmar, P. & Rencova, E. Identification of bovine-specific DNA in feedstuffs. *J. Food. Prot.* 64(1), 117–9 (2001)

Ryosuke, Y., Motoshige, Y., Jong, L., Kristian, R., von, S., Glenn, A. C., Marianne, B. S., Adrienne, R., William, S. D., Simon, R. M. J. & Ben, F. K. EST and Mitochondrial DNA Sequences Support a Distinct Pacific Form of Salmon Louse, *Lepeophtheirus salmonis*. *Mar Biotechnol.* 10, 741–749 (2008)

Sasimanas, U., Piyachat, M., Komsan, A., Duangtip, A., Kornorn, S. & Kiattawee, C. Identification of species (meat and blood samples) using nested-PCR analysis of mitochondrial DNA. *African Journal of Biotechnology.* 10, 5670–5676 (2011)

Shu-Biao W., Michelle, G., Wirthensohn, P. H. & John, P. G. Margaret Sedgley High resolution melting analysis of almond SNPs derived from ESTs. *Theor Appl Genet.* 118, 1–14 (2008)

Sieh, H. M., Chiang, H. L., Tsai, L. C., Lai, S. Y., Huang, N. E., Linacre, A. & Lee, J. C. Cytochrome b gene for species identification of the conservation animals. *Forensic. Sci. Int.* 122(1), 7–18 (2001)

Silvia, N., Enrico, N., Giulia, E., Roberto, M., Tomaso, P., David, L., Erickson, W., John, K. & Gianni, B. DNA Barcoding as a Reliable Method for the Authentication of Commercial Seafood Products. *Original scientific paper.* (2012)

Simona, P., Matteo, B., Caterina, A., Corrado, F. & Nelson, M. Storage–time Effects on Olive Oil DNA Assessed by Amplified Fragments Length Polymorphisms. *Food Chemistry.* 123, 787–793 (2010)

Springer, M. S., Hollar, L. J. & Burk, A. Compensatory Substitutions and the Evolution of the Mitochondrial 12S rRNA Gene in Mammals. *Mol. Biol. Evol.* 12(6), 1138–1150 (1995)

Sunggil, K., Heerae, L., Suhyung, P., Kang–Hee, C., Soon–kee, S., Dae–Geun, O. & Ki–Taek, K. Identification oh A Novel Mitochondrial Genome Type and Development oh Molecular Markers for Cytoplasm Classification in Radish(Raphanus sativus L.). *Theor Appl Genet.* 115, 1137–1145 (2007)

Sussie, D., Kevin, A. G., Anne, G. E. S., Bjørghild, B. S. & John, B. T. Forensic identification of severely degraded Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) tissues. *Investigative Genetics.* 1, 12 (2010)

Tajima, K., Enishi, O., Amari, M., Mitsumori, M., Kajikawa, H., Kurihara, M., Yanai, S., Matsui, H., Yasue, H., Mitsuhashi, T., Kawashima, T. & Matsumoto, M. PCR detection of DNAs of animal origin in feed by primers based on sequences of short and long interspersed repetitive elements. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66, 2247–2250 (2002)

Ubalkova, Z., Kralik, P., Tremlova, B. & Rencova, E. Methods of gadoid fish species identification in food and their economic impact in the Czech Republic:a review. *Veterinarni Medicina.* 52, 273–292 (2007)

- Ulrich, G. M. and LaReesa, W. AFLP genotyping and fingerprinting. *TREE*. 14, 389–394 (1999)
- Umar, S., Kahlon, T., & Chaudhary, S. A Rapid Screening for Adulterants in Olive Oil using DNA Barcodes. *Food Chemistry*. 127, 1335–1341 (2011)
- Urnng–Yi, W., Mung–Pei, T., Ming–chung, T. & Sin–Che, L. Universal Primers for Amplification of the Complete Mitochondrial 12S rRNA Gene in Vertebrates. *Zoological Studies*. 39(1), 61–66 (2000)
- Vanova, N. V., Zemlak, T. S., Hanner, R. H. & Herbert, P. D. N. Universal Primer Cocktails for Fish DNA Barcoding. *Molecular Ecology Notes*. 10, 1111 (2007)
- Verkaar, E. L. C., Nijman, I. J., Boutaga, K. & Lenstra, J. A. Differentiation of cattle species in beef by PCR–RFLP of mitochondrial and satellite DNA. *Meat. Sci.* 60(4), 365–369 (2002)
- Ward R.D., Zemlak T.S., Innes B.H., Last PR and Hebert PDN. DNA barcoding Australia’ s fish species. *Phil Trans R Soc B* 360, 1847–1857 (2005)
- Wei, W., Qi, X., Wang, L., Zhang, Y., Hua, W., Li, D., Lv, H. & Zhang, X. Characterization of the sesame (*Sesamum indicum* L.) global transcriptome using Illumina paired–end sequencing and development of EST–SSR markers. *BMC Genomics*. 12, 451 (2011)
- Wenliang, W., Xiaoqiong, Q., Linhai, W., Yanxin, Z., Wei, H., Donghua, L., Haixia, L. & Xiurong, Z. Characterization of the sesame (*Sesamum indicum* L.) global transcriptome using Illumina paired–end sequencing and development of EST–SSR markers. *BMC Genomics*. 12, 451 (2011)
- White T. J., Bruns T., Lee S. and J.Taylor, in: A. Innis, Gelfand D. H. and J. J. Sninsky (eds.), PCR Protocols, Academic Press, *San Diego, USA*. 315–322 (1990)

Williams, J., Kubelik, A. R., Livak, K., Rafalski, J. & Tingey, S. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucl Acids Res.* 18, 6531–6535 (1990).

Wolstenholme, D. R. Animal mitochondrial DNA: structure and evolution. *Int. Rev. Cytol.* 141, 173–216 (1992)

Wunsch, A. & Hormaza, J. I. Molecular characterisation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) genotypes using peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] SSR sequences. *Heredity* 89, 56–63 (2002)

Yers, M. J., Friedman, S. L., Farrell, D. E., Dove-Pettit, D. A., Bucker, M. F., Kelly, S., Madzo, S., Campbell, W., Wang, R. F., Paine, D. & Cerniglia, C. E. Validation of a polymerase chain reaction method for the detection of rendered bovine-derived materials in feedstuffs. *J. Food. Prot.* 64(4), 564–6 (2001)

Yong-Jin P., Anupam, D., Kyung-Ho M., Ju-Kyung L., Myoung-Hee L., Chan-Sik C., Miyuki, N., Kazutoshi, O., Tae-San K., Eun-Gi C., V. Ramanatha, R. Evaluation of genetic diversity and relationships within an on-farm collection of *Perilla frutescens* (L.) Britt. using microsatellite markers. *Genet Resour Crop.* 55, 523–535 (2008)

Yuhyun, K., Young-pyo, L., Heerae, L., Taeho, H., Soon-Kee, S. & Sunggil, K. Identification of *Rfd1*, A Novel Restorer-of-Fertility Locus for Cytoplasmic Male-Sterility caused by DCGMS Cytoplasm and Development of Simple PCR Markers Linked to The *Rfd1* Locus in Radish(*Raphanus sativus* L.). *Euhytica.* 175, 79–90 (2010)

Yuk-Sang, K., Eun-Hee, Y., Seung-Woo, Y., Byoung-Hwa, K. & Tae-Yong, K. Rapid Identification of Probiotic Lactobacillus Species by Multiplex PCR Using Species-Specific Primers Based on the Region Extending from 16S rRNA through 23S rRNA. *FEMS Microbiology Letters.* 239, 267–275 (2004)

Zhang J. Species Identification of Marine Fishes in China with DNA Barcoding. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* Volume 2011 (2011)

NATIONAL INSTITUTE OF FOOD AND DRUG SAFETY EVALUATION

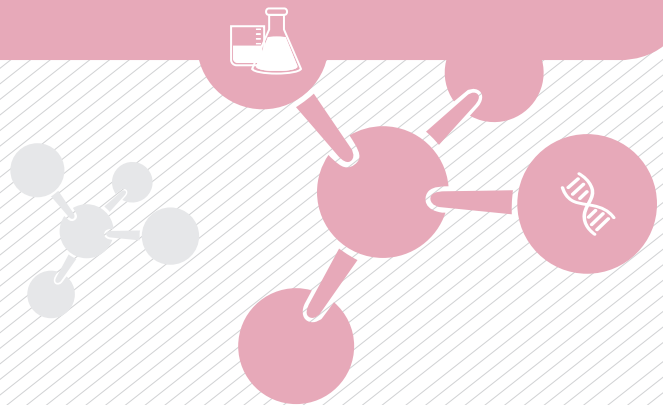
식품 중 사용원료 진위 판별 지침서
- 유전자 분석법 활용 -

Chapter

VII



부록



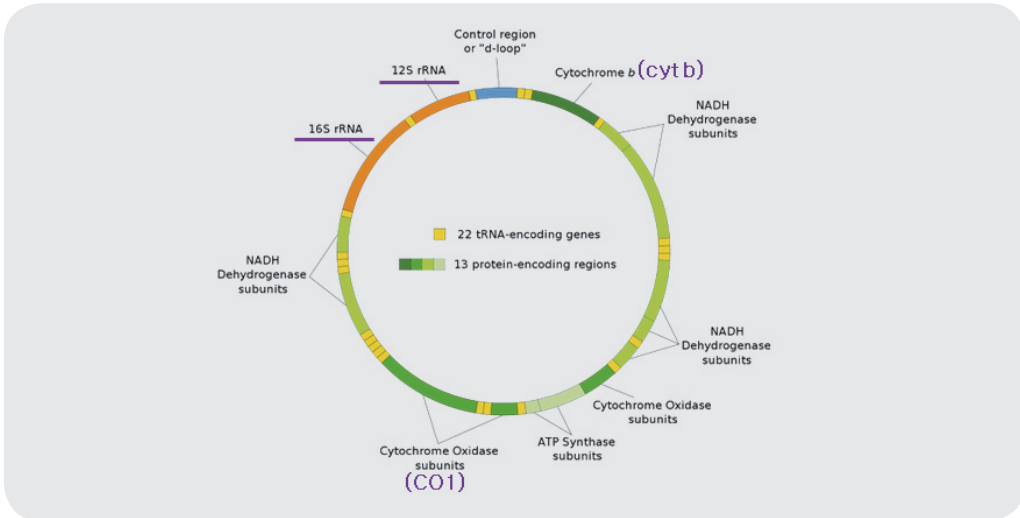


그림 175. 동물세포에 존재하는 미토콘드리아 유전자의 구조
(출처 : en.wikipedia.org)

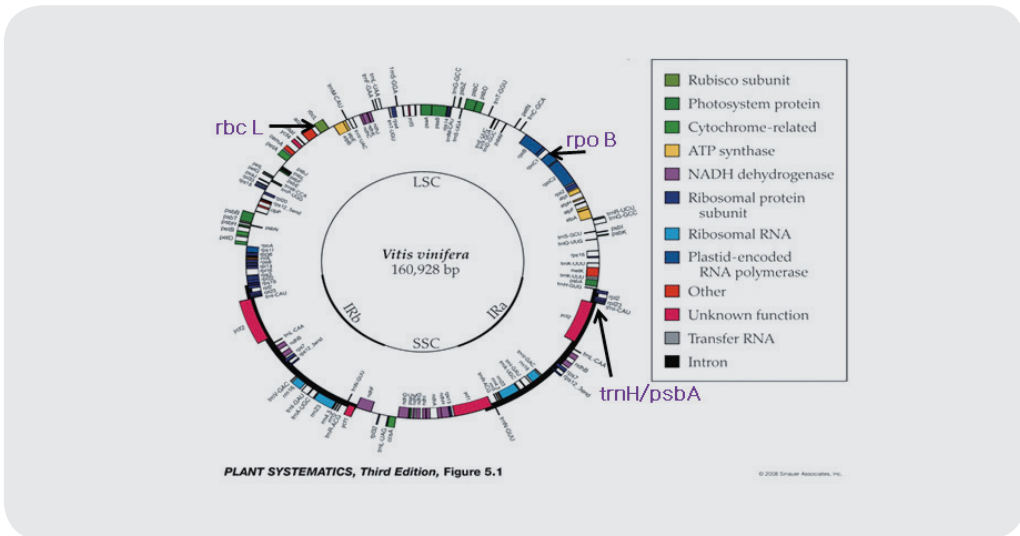


그림 176. 식물세포에 존재하는 엽록체 유전자의 구조
(출처 : Plant Systematics, 3rd Edition)

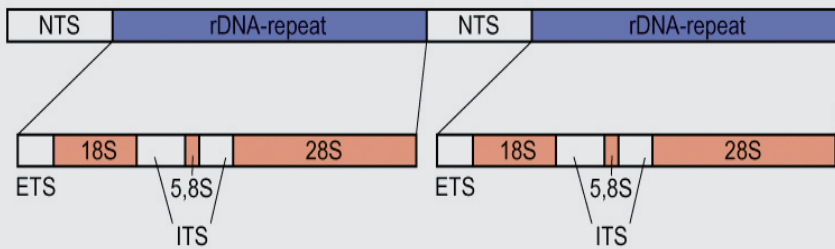


그림 177. 핵 내 존재하는 유전자의 구조
(출처 : en.wikipedia.org)

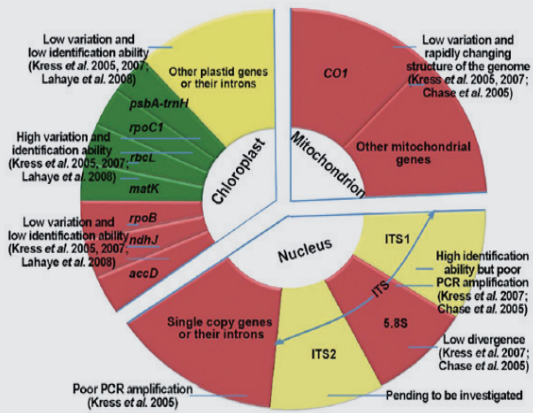


그림 178. 바코드 유전자의 종류
(Chen s. et al., Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. 2010.)

표 178. 식품 중 사용원료 진위 판별법 마련 현황('10 ~ '14년)

연도		총계 (164)	'10년 (8)	'11년 (21)	'12년 (45)	'13년 (45)	'14년 (45)	
식품 중 사용원료	조배재	추산물	26	0	10	2	8	6
		수산물	65	5	1	23	16	20
	조배식	73	3	10	20	21	19	

연도		총계	'10년	'11년	'12년	'13년	'14년
식품 중 사용원료	추산물	26	-	소, 돼지, 양, 염소, 사슴, 말, 닭, 오리, 칠면조, 타조	캥거루, 거위	평, 집비둘기, 멧비둘기, 메추리, 토끼, 참새, 여우, 제비	개, 고양이, 곰(웅담), 흑염소, 고라니, 노루
	조배재	65	대구, 청대구, 명태, 오징어, 한치	틸라피아	잉어(항어), 붕어, 미꾸라지, 미꾸리, 가물치, 꽂치, 고등어, 다금바리, 자바리, 능성어, 연어, 송어, 다랑어류, 새치류, 기름갈치꼬치, 흑갈치꼬치, 게, 새우, 전복, 백합, 소라, 주꾸미, 낙지	메기, 쏘가리, 참조기, 넙치(광어), 조피볼락(우럭), 말쥐치, 멸치, 바닷가재, 까나리, 날치, 열빙어, 청어, 홍어, 가오리, 점농어, 성게	해삼, 상어류(5종), 밍크고래, 긴부리참돌고래, 상괘이고래, 복어류(7종), 아귀류(2종), 강도다리, 도다리, 검정가지미, 먹장어, 붕장어, 뱀장어, 전어, 송어, 가송어, 긴가이석태, 영상가이석태, 동자개, 산천어
	조배식	73	녹차, 시금치, 클로렐라	쌀, 밀, 메밀, 인삼, 도라지, 더덕, 마, 마늘, 양파, 무	고구마, 타피오카, 검정콩, 땅콩, 참깨, 들깨, 올리브, 아몬드, 해바라기, 복숭아, 딸기, 앵두, 포도, 배추, 파(쪽파), 토마토, 호박, 생강, 당근, 태국참	양송이버섯, 팽이버섯, 표고버섯, 새송이버섯, 느타리버섯, 영지버섯, 고추냉이, 겨자, 알로에, 오이, 미나리, 부추, 녹두, 팥, 밤, 잣, 대추, 호두, 흰민들레, 민들레, 과라나	복분자류, 목이버섯, 송이버섯, 능이버섯 한국참(갈근), 천마, 하수오, 백수오, 이엽우피소, 아파니조메논 플로스아쿠아, 참나물, 파드득나물, 고려영경귀(곤드레), 라즈베리, 블랙라즈베리, 복분자, 블루베리, 블랙초크베리(아로니아), 아사이베리

본 지침서는 불량식품의 사용원료 진위 판별 업무수행에 도움을 드리고자 개발하였으며, 판별법 관련 내용을 인용할 때에는 반드시 식품의약품안전처 (식품의약품안전평가원)의 동의를 얻어야 합니다.

식품 중 사용원료 진위 판별 지침서

| 유전자 분석법 활용

-
- 발행일 • 2014년 12월
 - 발행인 • 왕진호
 - 편집위원장 • 서세정
 - 편집위원 • 장영미, 이진하, 최장덕, 김규현, 조천호, 이재황, 정유경, 김용상, 김미라, 이호연
 - 발행처 • 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 신중유해물질팀
363-700 충북 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187
전화 : 043-719-4453, 전송 : 043-719-4450

식품 중 사용원료 진위 판별 지침서