

한국산 홍어의 신속하고 명확한 종판별을 위한 DNA칩 개발

김충곤 · 정다금 · 김성 · 정진욱* · 황승용* · 이윤호
한국해양연구원 · *한양대학교

서론

본 연구에서는 형태적인 구분이 어렵고 수출입 과정 및 국내 유통과정에서도 혼란이 야기되고 있는 홍어의 종판별을 보다 신속하고 명확하게 하기 위하여 oligonucleotide chip 방법을 이용하여 초기모델의 DNA chip 개발을 시도 하였다. 본 실험을 통하여 홍어의 종판별을 위한 DNA chip의 적용 결과는 우수하였다. 이번 실험에서 다수의 DNA 염기변이가 존재하는 중간 구분 뿐 만 아니라 염기변이가 많지 않아 유전자 분석으로 판단이 난해한 아 종간의 구분에서도 DNA chip의 적용이 어렵지 않다는 점을 확인하였다. 종판별을 위한 DNA chip의 적용 시 기존의 DNA 염기서열분석법 보다 시간적, 인적, 물적 자원의 효율적 운용이 가능하게 되었다.

재료 및 방법

[실험에 사용된 한국산 홍어류]

홍어(*Okamejei kenojei*) 9 개체, 참홍어(*Raja pulchra*) 4 개체, 광동홍어(*Dipturus kwangtungensis*) 4개체, 무늬홍어 (*Okamejei acutispina*) 3 개체

[방법]

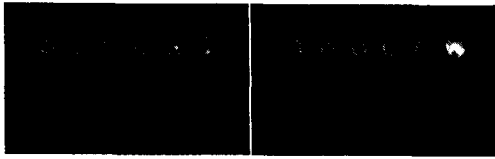
제공된 시료를 특정 유전자 서열을 증폭하여 표적 DNA를 준비한 후 chemical에 의한 denaturation 과정을 진행한 후 90ul의 GenoCheck Platinum™ hybridization solution과 희석하여 준비된 chip에 도포하여 55도의 온도에서 1시간 동안 반응 시켰다.

반응이 진행된 후 GenoCheck Platinum™ wash solution에서 5분간 세척과정을 거친 후 slide 원심분리기로 1분간 건조하여Luxscan 10K/A(Capitalbio) chip scanner로 scan하여 얻어진 형광값을 Exel(Microsoft) program으로 global normalization을 통하여 유전형을 판별하였다.

결과 및 요약

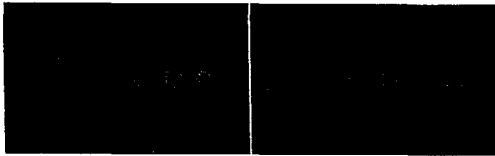
홍어류 2종의 구분을 위한 probe의 시도가 1차례 진행되었으며, 간재미를 포함한 홍어류 2종에 추가적으로 무늬홍어와 광동홍어의 종 구분도 진행되었다. 총 7개의 특이적인 probes

를 상동분석을 통하여 선택하였으며, 준비된 홍어 genomic DNA 시료를 이용하여 상동성 서열분석 결과를 토대로 선정된 종 특이 probes와 교잡 반응하여 유전형을 확인하였다.

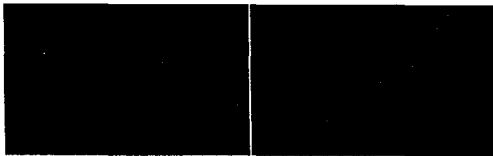


홍어(간재미)의 DNA칩

9개의 홍어 시료를 실험한 결과 시도한 3개의 probes 모두 다른 종과의 확연하게 다른 결과를 보여주었으며(2개만 표시), 그 밖에 광동홍어 시료 3개, 참홍어 시료 4개의 경우에도 모두 다른 종과의 모호성 없이 종판별이 정확하게 이루어졌다.



광동홍어의 DNA칩



참홍어의 DNA칩

본 실험을 통하여 홍어류의 종판별을 위한 DNA chip의 적용 결과는 우수하였으며, 이 방법은 현재 목적 하는 어종의 종 구분에는 매우 효과적인 방법으로 판단된다. 또한, 한 번의 실험으로 여러 종의 유전자형을 동시에 판별 할 수 있어 수출입 수산물의 유통체계를 자동화 정형화 할 수 있게 되어 수산물유통 과정에 큰 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

Vernet G, and N. Tran (2005) The DNA-Chip technology as a new molecular tool for the detection of HBV mutants. J Clin Virol. 34: 49-53.

Hebert, P.D.N., Cywinska,A., Ball,S.L., and deWaard, J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. Proc. Royal. Soc. Lond. B. 270: 313-322.