



등록특허 10-2099457



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년04월10일

(11) 등록번호 10-2099457

(24) 등록일자 2020년04월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12Q 1/6888 (2018.01)

(52) CPC특허분류

C12Q 1/6888 (2018.05)

C12Q 2537/143 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-0146539

(22) 출원일자 2018년11월23일

심사청구일자 2018년11월23일

(56) 선행기술조사문헌

Sperling et al, J Forensic Sci. 1994
Mar;39(2):418-427

(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 15 항

(73) 특허권자

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암
동5가)

(72) 발명자

박성환

서울특별시 서초구 신반포로 32, 81동 401호

장하리

경기도 남양주시 덕송1로 30, 1506동 606호

(74) 대리인

공병욱

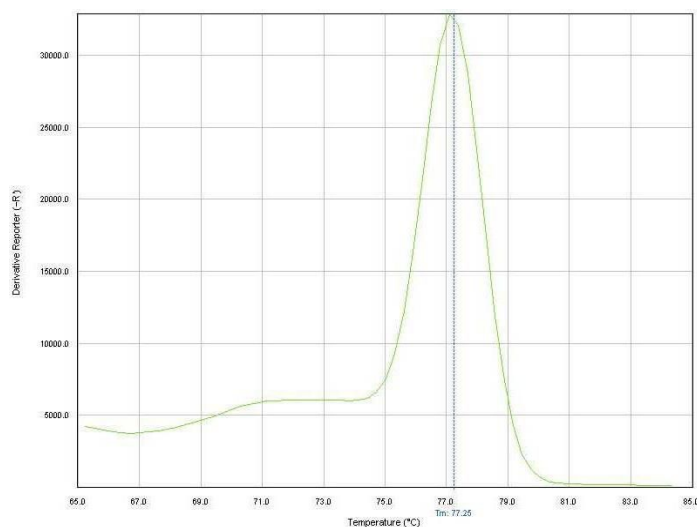
심사관 : 이재영

(54) 발명의 명칭 다중 실시간 중합효소연쇄반응 및 용해곡선분석을 이용하는 시식성 파리의 동정 방법

(57) 요약

본 발명은 시식성 파리 동정용 조성물, 이를 포함하는 시식성 파리 동정용 키트 및 이를 이용한 시식성 파리 동정 방법에 관한 것으로, 본 발명의 방법을 이용하는 경우 시식성 파리를 기존 분자유전학적 방법보다 간편하고 빠르게 동정함으로써, 사망 시간 추정 등의 용도로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도



(52) CPC특허분류

C12Q 2561/113 (2019.08)

C12Q 2600/16 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

Park et al, J Korean Med Sci. 2009
Dec;24(6):1058-1063

Jordaens et al, Int J Legal Med. 2013
Mar;127(2):491-504

KR1020180046438A

Park et al, Biomed Res Int. 2018 Feb
28;2018:2953892, pp.1-9

Sukontason et al, Parasitol Res. 2007
Oct;101(5):1407-1416

Szpila et al, Current Concepts in Forensic
Entomology pp 43-56

Jang et al, Biomed Res Int. 2019 Mar
11;2019:6762517, pp.1-11

KR1020180046438 A*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 POLICE-G-00001-03-101

부처명 경찰청

연구관리전문기관 치안과학기술연구개발산업단

연구사업명 치안과학기술연구개발사업

연구과제명 법의곤충학의 과학수사 활용을 위한 기반정보와 사후경과시간추정기법 개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2018.01.01 ~ 2018.12.31

공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 1의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 2의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제1 프라이머 세트;

서열번호 3의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 4의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제2 프라이머 세트;

서열번호 5의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 6의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제3 프라이머 세트;

서열번호 7의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 8의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제4 프라이머 세트;

서열번호 9의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 10의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제5 프라이머 세트;

서열번호 11의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 12의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제6 프라이머 세트;

서열번호 13의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제7 프라이머 세트;

서열번호 15의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 16의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제8 프라이머 세트;

서열번호 17의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 18의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제9 프라이머 세트;

서열번호 19의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 20의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제10 프라이머 세트;

서열번호 21의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 22의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제11 프라이머 세트;

서열번호 23의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 24의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제12 프라이머 세트;

서열번호 25의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 26의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제13 프라이머 세트;

서열번호 27의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 28의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제14 프라이머 세트;

서열번호 29의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 30의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제15 프라이머 세트;

서열번호 31의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 32의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제16 프라이머 세트;

서열번호 33의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 34의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제17 프라이머 세트;

서열번호 35의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 36의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제18 프라이머 세트; 및

서열번호 37의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 38의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로

이루어진 제19 프라이머 세트;를

포함하는 시식성 파리 동정용 조성물로서,

상기 시식성 파리는 털검정파리(*Aldrichina grahami*), 큰검정파리(*Calliphora lata*), 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*), 검정파리(*Calliphora vomitoria*), 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*), 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*), 푸른등금파리(*Lucilia ampullacea*), 금파리(*Lucilia caesar*), 연두금파리(*Lucilia illustris*), 구리금파리(*Lucilia sericata*), 검정금파리(*Phormia regina*), 두꼬리검정파리(*Triceratopyga calliphoroides*), 흰목덜미쉬파리(*Sarcophaga albiceps*), 붉은볼기쉬파리(*Sarcophaga crassipalpis*), 왕초쉬파리(*Sarcophaga dux*), 개울쉬파리(*Sarcophaga haemorrhoidalis*), 검정볼기쉬파리(*Sarcophaga melanura*), 떠돌이쉬파리(*Sarcophaga peregrina*) 및 굽슬털쉬파리(*Sarcophaga similis*)로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

제 1 항의 조성물을 포함하는 시식성 파리 동정용 키트.

청구항 4

제 3 항에 있어서, 상기 키트는

서열번호 9의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 10의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제5 프라이머 세트, 서열번호 17의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 18의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제9 프라이머 세트, 및 서열번호 21의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 22의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제11 프라이머 세트를 포함하는 제1 검정파리과(*Calliphoridae*) 시식성 파리 동정용 프라이머 세트;

서열번호 3의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 4의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제2 프라이머 세트, 서열번호 13의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제7 프라이머 세트, 및 서열번호 15의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 16의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제8 프라이머 세트를 포함하는 제2 검정파리과(*Calliphoridae*) 시식성 파리 동정용 프라이머 세트;

서열번호 1의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 2의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제1 프라이머 세트, 서열번호 5의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 6의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제3 프라이머 세트, 및 서열번호 7의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 8의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제4 프라이머 세트를 포함하는 제3 검정파리과(*Calliphoridae*) 시식성 파리 동정용 프라이머 세트; 및

서열번호 11의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 12의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제6 프라이머 세트, 서열번호 19의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 20의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제10 프라이머 세트, 및 서열번호 23의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 24의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제12 프라이머 세트를 포함하는 제4 검정파리과(*Calliphoridae*) 시식성 파리 동정용 프라이머 세트를 포함하는 것인, 키트.

청구항 5

제 3 항에 있어서, 상기 키트는

서열번호 33의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 34의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제17 프라이머 세트, 및 서열번호 35의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 36의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제18 프라이머 세트를 포함하는 제1 쉬파리과(*Sarcophagidae*) 시식성 파리 동정용 프라이머 세트;

서열번호 29의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 30의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로

이루어진 제15 프라이머 세트, 및 서열번호 37의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 38의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제19 프라이머 세트를 포함하는 제2 쉬파리과(*Sarcophagidae*) 시식성 파리 동정용 프라이머 세트; 및

서열번호 25의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 26의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제13 프라이머 세트, 서열번호 27의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 28의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제14 프라이머 세트, 및 서열번호 31의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 32의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제16 프라이머 세트를 포함하는 제3 쉬파리과(*Sarcophagidae*) 시식성 파리 동정용 프라이머 세트를 포함하는 것인, 키트.

청구항 6

제 4 항에 있어서, 상기 제1 검정파리과 시식성 파리는 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*), 금파리(*Lucilia caesar*), 연두금파리(*Lucilia illustris*) 및 검정금파리(*Phormia regina*)로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 키트.

청구항 7

제 4 항에 있어서, 상기 제2 검정파리과 시식성 파리는 큰검정파리(*Calliphora lata*), 푸른등금파리(*Lucilia ampullacea*) 및 금파리(*Lucilia caesar*)로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 키트.

청구항 8

제 4 항에 있어서, 상기 제3 검정파리과 시식성 파리는 털검정파리(*Aldrichina grahami*), 푸른등금파리(*Lucilia ampullacea*), 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*) 및 검정파리(*Calliphora vomitoria*)로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 키트.

청구항 9

제 4 항에 있어서, 상기 제4 검정파리과 시식성 파리는 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*), 구리금파리(*Lucilia sericata*), 두꼬리검정파리(*Triceratopyga calliphoroides*) 및 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*)로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 키트.

청구항 10

제 5 항에 있어서, 상기 제1 쉬파리과 시식성 파리는 검정불기쉬파리(*Sarcophaga melanura*) 및 떠돌이쉬파리(*Sarcophaga peregrina*)로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 키트.

청구항 11

제 5 항에 있어서, 상기 제2 쉬파리과 시식성 파리는 왕초쉬파리(*Sarcophaga dux*) 및 굽슬털쉬파리(*Sarcophaga similis*)로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 키트.

청구항 12

제 5 항에 있어서, 상기 제3 쉬파리과 시식성 파리는 흰목덜미쉬파리(*Sarcophaga albiceps*), 붉은불기쉬파리(*Sarcophaga crassipalpis*) 및 개울쉬파리(*Sarcophaga haemorrhoidalis*)로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 키트.

청구항 13

하기의 단계를 포함하는 시식성 파리 동정 방법:

제 3 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항의 키트를 이용하여 시료로부터 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction; PCR) 증폭산물을 획득하는 증폭 단계;

PCR 증폭산물을 용해시켜 용해곡선을 얻는 용해 단계; 및

용해곡선의 용해 온도를 확인하는 분석 단계.

청구항 14

제 13 항에 있어서, 상기 증폭 단계는 제 4 항 또는 제 5 항의 키트를 이용하는 것인, 방법.

청구항 15

제 13 항에 있어서, 상기 방법은 시식성 파리의 후기문(posterior spiracle) 형태에 따라 분류하는 분류 단계를 더 포함하는 것인, 방법.

청구항 16

제 13 항에 있어서, 상기 시식성 파리는 털검정파리(*Aldrichina grahami*), 큰검정파리(*Calliphora lata*), 붉은 뺨검정파리(*Calliphora vicina*), 검정파리(*Calliphora vomitoria*), 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*), 큰 검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*), 푸른등금파리(*Lucilia ampullacea*), 금파리(*Lucilia caesar*), 연두금파리(*Lucilia illustris*), 구리금파리(*Lucilia sericata*), 검정금파리(*Phormia regina*), 두꼬리검정파리(*Triceratopyga calliphoroides*), 흰목덜미쉬파리(*Sarcophaga albiceps*), 붉은볼기쉬파리(*Sarcophaga crassipalpis*), 왕초쉬파리(*Sarcophaga dux*), 개울쉬파리(*Sarcophaga haemorrhoidalis*), 검정볼기쉬파리(*Sarcophaga melanura*), 떠돌이쉬파리(*Sarcophaga peregrina*) 및 곱슬털쉬파리(*Sarcophaga similis*)로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 시식성 파리 동정용 조성물, 이를 포함하는 시식성 파리 동정용 키트 및 이를 이용한 시식성 파리 동정 방법에 관한 것으로, 구체적으로는, 중 실시간 중합효소연쇄반응 및 용해곡선분석을 이용한 시식성 파리의 동정 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 사망 시간 또는 사후 경과 시간(postmortem interval; PMI)의 추정은 시신이 발생한 사건에서 매우 중요한 일이다. 인간을 포함한 모든 동물이 사망한 후에 시작되는 부패는 장내 세균(intestinal flora)과 시식성 절지 동물의 개입으로 진행되는데, 부패의 정도에 따라 시체에 유입하는 시식성 곤충들(necrophagous insects)의 종(species)이 다르다.

[0003] 특히, 검정파리과(*Calliphoridae*), 쉬파리과(*Sarcophagidae*), 집파리과(*Muscidae*), 벼룩파리과(*Phoridae*) 및 치즈도둑파리과(*Piophilidae*)에 속하는 시식성 파리 종들(necrophagous fly species)이 사망 후 몇 분 이내에 시체를 찾아 산란한다.

[0004] 시체에 산란되어 부화하여 성장하는 파리의 유충(즉, 구더기)의 성장률(growth rate)은 온도 의존적이며 종 특이성이 있기 때문에 법의학 분야에서 시체의 사후 경과 시간을 추정할 수 있는 가장 정확한 지표로 간주된다.

[0005] 따라서 시신에서 발견된 곤충 증거를 이용하기 위해서는 종 동정이 필요한데, 시신에 산란된 유충이 그 증거물이 된다. 파리 성충의 경우 훈련된 곤충학자에 의해 형태학적 종 동정이 가능하지만, 유충은 과(family) 수준까지만 동정이 가능하기 때문에 성충까지 사육하거나 분자유전학적인 동정이 필요하다.

[0006] 이와 관련하여, 분자유전학적으로 종을 동정하는 방법에 대하여 활발한 연구 개발이 이루어지고 있다. 국내에서는 검정파리과(*Calliphoridae*) 또는 쉬파리과(*Sarcophagidae*) 내에 속하는 종의 COI(Cytochrome C Oxidase Subunit I) 유전자의 염기서열을 분석하여 종을 동정하는 방법(국내공개특허 제2011-0008779호 참조)이 공지된 바 있다. 그러나, 이러한 염기서열 분석을 이용한 동정 방법은 많은 양의 DNA가 필요하고 시간이 오래 걸리는 단점이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 국내 공개특허 제10-2011-0008779호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명자들은 소량의 DNA를 이용하여 단시간 내에 시식성 검정파리과 및 쉬파리과 파리의 종을 동정하는 방법을 개발하고자 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 시식성 파리의 특이적인 SNP(Single Nucleotide Polymorphism)를 포함하는 프라이머 세트를 이용하는 경우 시식성 파리과에 속하는 파리 종을 간편히 구별할 수 있음을 규명함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.

[0009] 따라서, 본 발명의 목적은 시식성 파리 동정용 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 시식성 파리 동정용 조성물을 포함하는 시식성 파리 동정용 키트를 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 시식성 파리 동정 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명자들은 소량의 DNA를 이용하여 단시간 내에 시식성 검정파리과 및 쉬파리과 파리의 종을 동정하는 방법을 개발하고자 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 시식성 파리의 특이적인 SNP(Single Nucleotide Polymorphism)를 포함하는 프라이머 세트를 이용하는 경우 시식성 파리과에 속하는 파리 종을 간편히 구별할 수 있음을 규명하였다.

[0013] 본 발명은 시식성 파리 동정용 조성물, 이를 포함하는 시식성 파리 동정용 키트 및 이를 이용한 시식성 파리 동정 방법에 관한 것이다.

[0014] 이하, 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.

[0016] 본 발명의 일 양태는 서열번호 1의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 2의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제1 프라이머 세트; 서열번호 3의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 4의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제2 프라이머 세트; 서열번호 5의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 6의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제3 프라이머 세트; 서열번호 7의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 8의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제4 프라이머 세트; 서열번호 9의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 10의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제5 프라이머 세트; 서열번호 11의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 12의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제6 프라이머 세트; 서열번호 13의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제7 프라이머 세트; 서열번호 15의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 16의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제8 프라이머 세트; 서열번호 17의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 18의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제9 프라이머 세트; 서열번호 19의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 20의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제10 프라이머 세트; 서열번호 21의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 22의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제11 프라이머 세트; 서열번호 23의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 24의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제12 프라이머 세트; 서열번호 25의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 26의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제13 프라이머 세트; 서열번호 27의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 28의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제14 프라이머 세트; 서열번호 29의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 30의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제15 프라이머 세트; 서열번호 31의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 32의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제16 프라이머 세트; 서열번호 33의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 34의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제17 프라이머 세트; 서열번호 35의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 36의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제18 프라이머 세트; 서열번호 37의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 38의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제19 프라이머 세트; 또는 이의 일부 또는 전부의 혼합물을 포함하는

시식성 파리 동정용 조성물에 관한 것이다.

- [0017] 본 명세서에서 "시식성 파리"는 시체에 산란되어 부화하여 성장하는 파리를 의미하고, 검정파리과(*Calliphoridae*), 쉬파리과(*Sarcophagidae*), 집파리과(*Muscidae*), 벼룩파리과(*Phoridae*) 및 치즈도둑파리과(*Piophilidae*) 등이 이에 속한다. 상기 시식성 파리는 파리의 성체 및 유충을 포함한다.
- [0018] 상기 검정파리과(*Calliphoridae*) 시식성 파리는 털검정파리(*Aldrichina grahami*), 큰검정파리(*Calliphora lata*), 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*), 검정파리(*Calliphora vomitoria*), 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*), 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*), 푸른등금파리(*Lucilia ampullacea*), 금파리(*Lucilia caesar*), 연두금파리(*Lucilia illustris*), 구리금파리(*Lucilia sericata*), 검정금파리(*Phormia regina*) 또는 두꼬리검정파리(*Triceratopyga calliphoroides*)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0019] 상기 쉬파리과(*Sarcophagidae*) 시식성 파리는 흰목덜미쉬파리(*Sarcophaga albiceps*), 붉은볼기쉬파리(*Sarcophaga crassipalpis*), 왕초쉬파리(*Sarcophaga dux*), 개울쉬파리(*Sarcophaga haemorrhoidalis*), 검정볼기쉬파리(*Sarcophaga melanura*), 떠돌이쉬파리(*Sarcophaga peregrina*) 또는 곱슬털쉬파리(*Sarcophaga similis*)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0020] 상기 시식성 파리는 국내에서 발견되는 시식성 파리뿐만 아니라 전 세계에서 발견되는 시식성 파리를 모두 포함할 수 있다.
- [0021] 구체적으로는, 미국의 경우 상기 시식성 파리는 검정금파리, 검정뺨금파리, 구리금파리, 검정파리 또는 붉은뺨검정파리일 수 있고(Insects and associated arthropods analyzed during medicolegal death investigations in Harris County, Texas, USA: January 2013–April 2016, PLOS ONE, 2017.06.12.), 유럽의 경우 상기 시식성 파리는 붉은뺨검정파리, 검정파리, 금파리, 연두금파리, 구리금파리 또는 검정금파리일 수 있으며(Forensic Entomology Investigations From Doctor Marcel Leclercq(1924–2008): A Review of Cases From 1969 to 2005, JOURNAL OF MEDICAL ENTOMOLOGY, Vol.50, No.5, 2013.09.), 동남아시아(태국 및 말레이시아 등)의 경우 상기 시식성 파리는 검정뺨금파리 또는 큰검정뺨금파리일 수 있으나(Review of forensically important entomological specimens collected from human cadavers in Malaysia (2005–2010), Journal of Forensic and Legal Medicine 20, 480–482, 2013.04.19.; Forensic entomology cases in Thailand: a review of cases from 2000 to 2006, Parasitol Res, 101:1417–1423, 2007.07.24.), 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0022] 본 발명에서 용어 "프라이머"는 짧은 자유 3' 말단 수산화기(free 3' hydroxyl group)를 가지는 핵산 서열로 식물체 핵산의 상보적인 주형(template)과 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고, 주형 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능을 하는 짧은 핵산 서열을 의미한다.
- [0024] 본 발명의 다른 일 양태는 서열번호 1의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 2의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제1 프라이머 세트; 서열번호 3의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 4의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제2 프라이머 세트; 서열번호 5의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 6의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제3 프라이머 세트; 서열번호 7의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 8의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제4 프라이머 세트; 서열번호 9의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 10의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제5 프라이머 세트; 서열번호 11의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 12의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제6 프라이머 세트; 서열번호 13의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제7 프라이머 세트; 서열번호 15의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 16의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제8 프라이머 세트; 서열번호 17의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 18의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제9 프라이머 세트; 서열번호 19의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 20의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제10 프라이머 세트; 서열번호 21의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 22의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제11 프라이머 세트; 서열번호 23의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 24의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제12 프라이머 세트; 서열번호 25의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 26의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제13 프라이머 세트; 서열번호 27의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 28의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제14 프라이머 세트; 서열번호 29의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 30의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제15 프라이머 세트; 서열번호 31의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호

호 32의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제16 프라이머 세트; 서열번호 33의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 34의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제17 프라이머 세트; 서열번호 35의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 36의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제18 프라이머 세트; 서열번호 37의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 38의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제19 프라이머 세트; 또는 이의 일부 또는 전부의 혼합물을 포함하는 시식성 파리 동정용 조성물을 포함하는 시식성 파리 동정용 키트에 관한 것이다.

- [0025] 상기 키트는 시료로부터 시식성 파리를 동정하는데 사용될 수 있다.
- [0026] 상기 키트는 상기 제1 프라이머 세트, 제2 프라이머 세트, 제3 프라이머 세트, 제4 프라이머 세트, 제5 프라이머 세트, 제6 프라이머 세트, 제7 프라이머 세트, 제8 프라이머 세트, 제9 프라이머 세트, 제10 프라이머 세트, 제11 프라이머 세트, 제12 프라이머 세트, 제13 프라이머 세트, 제14 프라이머 세트, 제15 프라이머 세트, 제16 프라이머 세트, 제17 프라이머 세트, 제18 프라이머 세트 및/또는 제19 프라이머 세트뿐만 아니라 분석방법에 적합한 한 종류 또는 그 이상의 다른 구성 성분 조성물, 용액 또는 장치가 포함될 수 있다.
- [0027] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 키트는 제5 프라이머 세트, 제9 프라이머 세트 및 제11 프라이머 세트를 포함하는 제1 검정파리와 시식성 파리 동정용 프라이머 세트일 수 있다.
- [0028] 상기 제1 검정파리와 시식성 파리 동정용 프라이머 세트는 검정뽕금파리, 금파리, 연두금파리 및 검정금파리 중에 특이적이며, 실시간 중합효소연쇄반응 및 용해곡선 분석 시 상기 중 외의 다른 시식성 파리 종과 상기 종을 구별할 수 있도록 설계되었다.
- [0029] 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 키트는 제2 프라이머 세트, 제7 프라이머 세트 및 제8 프라이머 세트를 포함하는 제2 검정파리와 시식성 파리 동정용 프라이머 세트일 수 있다.
- [0030] 상기 제2 검정파리와 시식성 파리 동정용 프라이머 세트는 큰검정파리, 푸른등금파리 및 금파리 중에 특이적이며, 실시간 중합효소연쇄반응 및 용해곡선 분석 시 상기 중 외의 다른 시식성 파리 종과 상기 종을 구별할 수 있도록 설계되었다.
- [0031] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기 키트는 제1 프라이머 세트, 제3 프라이머 세트 및 제4 프라이머 세트를 포함하는 제3 검정파리와 시식성 파리 동정용 프라이머 세트일 수 있다.
- [0032] 상기 제3 검정파리와 시식성 파리 동정용 프라이머 세트는 털검정파리, 푸른등금파리, 붉은뽕검정파리 및 검정파리 중에 특이적이며, 실시간 중합효소연쇄반응 및 용해곡선 분석 시 상기 중 외의 다른 시식성 파리 종과 상기 종을 구별할 수 있도록 설계되었다.
- [0033] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기 키트는 제6 프라이머 세트, 제10 프라이머 세트 및 제12 프라이머 세트를 포함하는 제4 검정파리와 시식성 파리 동정용 프라이머 세트일 수 있다.
- [0034] 상기 제4 검정파리와 시식성 파리 동정용 프라이머 세트는 큰검정뽕금파리, 구리금파리, 두꼬리검정파리 및 붉은뽕검정파리 중에 특이적이며, 실시간 중합효소연쇄반응 및 용해곡선 분석 시 상기 중 외의 다른 시식성 파리 종과 상기 종을 구별할 수 있도록 설계되었다.
- [0035] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기 키트는 제17 프라이머 세트 및 제18 프라이머 세트를 포함하는 제1 쉬파리와 시식성 파리 동정용 프라이머 세트일 수 있다.
- [0036] 상기 제1 쉬파리와 시식성 파리 동정용 프라이머 세트는 검정불기쉬파리 및 떠돌이쉬파리 중에 특이적이며, 실시간 중합효소연쇄반응 및 용해곡선 분석 시 상기 중 외의 다른 시식성 파리 종과 상기 종을 구별할 수 있도록 설계되었다.
- [0037] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기 키트는 제15 프라이머 세트 및 제19 프라이머 세트를 포함하는 제2 쉬파리와 시식성 파리 동정용 프라이머 세트일 수 있다.
- [0038] 상기 제2 쉬파리와 시식성 파리 동정용 프라이머 세트는 왕초쉬파리 및 곱슬털쉬파리 중에 특이적이며, 실시간 중합효소연쇄반응 및 용해곡선 분석 시 상기 중 외의 다른 시식성 파리 종과 상기 종을 구별할 수 있도록 설계되었다.
- [0039] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기 키트는 제13 프라이머 세트, 제14 프라이머 세트 및 제16 프라이머 세트를 포함하는 제3 쉬파리와 시식성 파리 동정용 프라이머 세트일 수 있다.

- [0040] 상기 제3 쉬파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트는 흰목덜미쉬파리, 붉은불기쉬파리 및 개울쉬파리 중에 특이적이며, 실시간 중합효소연쇄반응 및 용해곡선 분석 시 상기 중 외의 다른 시식성 파리 종과 구별할 수 있도록 설계되었다.
- [0041] 상기 키트는 시식성 파리 종을 신뢰성 있게 구별할 수 있도록, 특정 종에 특이적인 유전자를 타겟으로 하면서도 용해온도 차이가 크도록 설계된 프라이머를 포함할 수 있다. 상기 프라이머 세트는 실시간 증폭산물의 염기서열, 크기 및 GC 비율에 따라 특징적인 용해곡선을 보이므로 이를 고려하여 설계되었다.
- [0042] 상기 키트는 PCR 분석을 수행하기 위해 필요한 필수 요소를 포함하는 키트일 수 있고, 상기 각각의 프라이머 세트 외에도 테스트 튜브 또는 다른 적절한 컨테이너, 반응 완충액(pH 및 마그네슘 농도는 다양), 데옥시뉴클레오타이드(dNTPs), Taq-폴리머라아제와 같은 효소, DNase, RNase 억제제, DEPC-수(DEPCwater) 및 멸균수 등을 포함할 수 있다.
- [0043] 상기 키트가 PCR 분석에 사용되는 경우, 별도로 cDNA를 수득할 필요 없이 시료로부터 바로 PCR 증폭산물을 수득하여 아가로오스 겔 전기영동(agarose gel electrophoresis) 등의 방법으로 분리할 수 있다.
- [0044] 특히 2 개 이상의 프라이머 세트를 포함하는 키트의 경우, 각각의 프라이머 세트의 사용이 별도로 수행될 수도 있고, 다수의 프라이머 세트를 하나의 반응에 혼합 사용하여 수행될 수도 있다.
- [0045] 상기 키트는 특정한 형태로 한정되는 것은 아니며, 다양한 형태로 구현될 수 있다. 예를 들어, 상기 키트는 용기(예컨대, 일회용 PCR 튜브 등)에 담겨 있는 동결 건조된(lyophilized) 프라이머 세트를 포함할 수 있다. 2 개 이상의 프라이머 세트를 포함하는 경우 다수의 프라이머 세트가 혼합되어 튜브에 담겨 있을 수도 있고, 각각의 프라이머 세트가 개별적으로 각각의 튜브에 담겨 있을 수도 있다.
- [0046] 즉, 2 개의 프라이머 세트를 포함하는 동정용 키트의 경우 예를 들어, 제1 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트 및 제2 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트가 개별적으로 동결 건조 분말 형태로 담겨 있는 일회용 튜브 2개가 키트에 포함될 수 있고, 제1 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트 및 제2 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트가 동결 건조 분말 형태로 혼합되어 담겨 있는 일회용 튜브 1개가 키트에 포함될 수도 있다.
- [0047] 상기 시료는 파리의 성충 또는 유충이 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0049] 본 발명의 또 다른 일 양태는 하기의 단계를 포함하는 시식성 파리 동정 방법에 관한 것이다.
- [0050] 서열번호 1의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 2의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제1 프라이머 세트; 서열번호 3의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 4의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제2 프라이머 세트; 서열번호 5의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 6의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제3 프라이머 세트; 서열번호 7의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 8의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제4 프라이머 세트; 서열번호 9의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 10의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제5 프라이머 세트; 서열번호 11의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 12의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제6 프라이머 세트; 서열번호 13의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제7 프라이머 세트; 서열번호 15의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 16의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제8 프라이머 세트; 서열번호 17의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 18의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제9 프라이머 세트; 서열번호 19의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 20의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제10 프라이머 세트; 서열번호 21의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 22의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제11 프라이머 세트; 서열번호 23의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 24의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제12 프라이머 세트; 서열번호 25의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 26의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제13 프라이머 세트; 서열번호 27의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 28의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제14 프라이머 세트; 서열번호 29의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 30의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제15 프라이머 세트; 서열번호 31의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 32의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제16 프라이머 세트; 서열번호 33의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 34의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제17 프라이머 세트; 서열번호 35의 염

기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 36의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제18 프라이머 세트; 서열번호 37의 염기서열로 이루어진 정방향 프라이머 및 서열번호 38의 염기서열로 이루어진 역방향 프라이머로 이루어진 제19 프라이머 세트; 또는 이의 일부 또는 전부의 혼합물을 포함하는 시식성 파리 동정용 조성물을 포함하는 시식성 파리 동정용 키트를 이용하여 시료로부터 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction; PCR) 증폭산물을 수득하는 증폭 단계;

- [0051] PCR 증폭산물을 용해시켜 용해곡선을 얻는 용해 단계; 및
- [0052] 용해곡선의 용해 온도를 확인하는 분석 단계.
- [0053] 상기 시식성 파리 동정용 조성물 및 이를 포함하는 시식성 파리 동정용 키트의 중복되는 내용은 본 명세서의 복잡성을 고려하여 생략한다.
- [0054] 상기 시료는 파리의 성충 또는 유충이 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0055] 상기 제1 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에서 증폭산물이 수득된 경우, 분석 단계에서 온도가 73.0 내지 80.0 °C 면 시식성 파리가 검정뺨금파리, 금파리, 연두금파리 및 검정금파리 중 어느 하나인 것으로 판정할 수 있다.
- [0056] 구체적으로는, 상기 온도가 73.0-75.0 °C 면 시식성 파리가 검정금파리, 상기 온도가 76.0-78.0 °C 면 시식성 파리가 금파리 또는 연두금파리, 상기 온도가 78.0-80.0 °C 면 검정뺨금파리로 판정할 수 있다.
- [0057] 추가적으로, 상기 온도가 76.0-78.0 °C 인 경우 제2 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에서 증폭산물이 수득되면 금파리로, 그렇지 않으면 연두금파리로 판정할 수 있다.
- [0058] 상기 방법에서 제2 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에서 증폭산물이 수득된 경우, 분석 단계에서 온도가 72.0 내지 79.0 °C 면 시식성 파리가 큰검정파리, 푸른등금파리 및 금파리 중 어느 하나인 것으로 판정할 수 있다.
- [0059] 구체적으로는, 상기 온도가 72.0-74.0 °C 면 시식성 파리가 푸른등금파리, 상기 온도가 74.0-76.0 °C 면 시식성 파리가 큰검정금파리, 상기 온도가 77.0-79.0 °C 면 금파리로 판정할 수 있다.
- [0060] 상기 방법에서 제3 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에서 증폭산물이 수득된 경우, 분석 단계에서 온도가 71.0 내지 78.0 °C 면 시식성 파리가 털검정파리, 푸른등금파리, 붉은뺨검정파리 및 검정파리 중 어느 하나인 것으로 판정할 수 있다.
- [0061] 구체적으로는, 상기 온도가 71.0-73.0 °C 면 시식성 파리가 붉은뺨검정파리, 상기 온도가 74.0-75.9 °C 면 시식성 파리가 털검정파리 또는 푸른등금파리, 상기 온도가 76.1-78.0 °C 면 검정파리로 판정할 수 있다.
- [0062] 추가적으로, 상기 온도가 74.0-75.9 °C 인 경우 제2 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에서 증폭산물이 수득되면 푸른등금파리로, 그렇지 않으면 털검정파리로 판정할 수 있다.
- [0063] 상기 방법에 의해 판정된 푸른등금파리는 COI(Cytochrome C Oxidase Subunit I) 유전자의 312번째 염기가 C(Cytosine)이며, 이는 상기 312번째 염기가 T(Thymine)인 푸른등금파리는 상기 제3 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에 증폭되지 않기 때문이다.
- [0064] 상기 방법에서 제4 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에서 증폭산물이 수득된 경우, 분석 단계에서 온도가 73.0 내지 80.0 °C 면 시식성 파리가 큰검정뺨금파리, 구리금파리, 두꼬리검정파리 및 붉은뺨검정파리 중 어느 하나인 것으로 판정할 수 있다.
- [0065] 구체적으로는, 상기 온도가 73.0-75.0 °C 면 시식성 파리가 큰검정뺨금파리, 상기 온도가 75.0-77.0 °C 면 시식성 파리가 구리금파리, 상기 온도가 78.0-80.0 °C 면 두꼬리검정파리 또는 붉은뺨검정파리로 판정할 수 있다.
- [0066] 추가적으로, 상기 온도가 78.0-80.0 °C 인 경우 제3 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에서 증폭산물이 수득되면 붉은뺨검정파리로, 그렇지 않으면 두꼬리검정파리로 판정할 수 있다.
- [0067] 상기 방법에 의해 판정된 붉은뺨검정파리는 COI(Cytochrome C Oxidase Subunit I) 유전자의 402번째 염기가 C(Cytosine)이며, 이는 상기 402번째 염기가 T(Thymine)인 붉은뺨검정파리는 상기 제4 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에 증폭되지 않기 때문이다.
- [0068] 상기 방법에서 제1 쉬파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트를 이용한 경우, 분석 단계에서 온도가 74.0 내

지 80.0 ℃ 면 시식성 파리가 검정볼기쉬파리 및 떠돌이쉬파리 중 어느 하나인 것으로 판정할 수 있다.

- [0069] 구체적으로는, 상기 온도가 73.0-75.0 ℃ 면 시식성 파리가 떠돌이쉬파리, 상기 온도가 78.0-80.0 ℃ 면 검정볼기쉬파리로 판정할 수 있다.
- [0070] 상기 방법에서 제2 쉬파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트를 이용한 경우, 분석 단계에서 온도가 73.0 내지 78.0 ℃ 면 시식성 파리가 왕초쉬파리 및 곱슬털쉬파리 중 어느 하나인 것으로 판정할 수 있다.
- [0071] 구체적으로는, 상기 온도가 72.0-74.0 ℃ 면 시식성 파리가 왕초쉬파리, 상기 온도가 76.0-88.0 ℃ 면 곱슬털쉬파리로 판정할 수 있다.
- [0072] 상기 방법에서 제3 쉬파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트를 이용한 경우, 분석 단계에서 온도가 73.0 내지 80.0 ℃ 면 시식성 파리가 흰목덜미쉬파리, 붉은볼기쉬파리 및 개울쉬파리 중 어느 하나인 것으로 판정할 수 있다.
- [0073] 구체적으로는, 상기 온도가 73.0-75.0 ℃ 면 시식성 파리가 개울쉬파리, 상기 온도가 74.0-76.0 ℃ 면 붉은볼기쉬파리, 상기 온도가 78.0-80.0 ℃ 면 흰목덜미쉬파리로 판정할 수 있다.
- [0074] 상기 방법은 시식성 파리의 후기문(posterior spiracle) 형태에 따라 분류하는 분류 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0075] 상기 시식성 파리는 시식성 파리의 유충일 수 있다.
- [0076] 상기 분류 단계는 증폭 단계 전에 수행될 수 있으며, 상기 후기문 형태가 검정파리과에 해당하면 상기 제1 내지 제4 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트 중 하나를 선택하여 증폭 단계를 수행할 수 있고, 쉬파리과에 해당하면 상기 제1 내지 제3 쉬파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트 중 하나를 선택하여 증폭 단계를 수행할 수 있다.
- [0077] 상기 분류 단계는 후기문 형태 분석 시스템에 의해 수행될 수 있다.
- [0078] 상기 후기문 형태 분석 시스템은 시식성 파리 유충의 후기문 이미지를 제공하는 후기문 이미지 입력부; 상기 후기문 이미지로부터 형태학적 특징을 추출하는 특징 추출부; 및 상기 추출된 형태학적 특징과 분류기를 이용하여 시식성 파리를 과(Family)에 따라 검정파리과 또는 쉬파리과로 분류하는 진단부를 포함하는 것일 수 있다.
- [0079] 상기 분류 단계를 통하여 증폭 단계 전에 먼저 검정파리과 또는 쉬파리과로 분류함으로써, 시식성 파리 동정에 필요한 시간을 보다 단축할 수 있다.

발명의 효과

- [0080] 본 발명은 시식성 파리 동정용 조성물, 이를 포함하는 시식성 파리 동정용 키트 및 이를 이용한 시식성 파리 동정 방법에 관한 것으로, 본 발명의 방법을 이용하는 경우 시식성 파리를 기존 분자유전학적 방법보다 간편하고 빠르게 동정함으로써, 사망 시간 추정 등의 용도로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0081] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물(amplicon)의 융해곡선분석 결과이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 금파리(*Lucilia caesar*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 연두금파리(*Lucilia illustris*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.
- 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 검정금파리(*Phormia regina*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.
- 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 큰검정파리(*Calliphora lata*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.
- 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 푸른등금파리(*Lucilia ampullacea*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 금파리(*Lucilia caesar*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 털검정파리(*Aldrichina grahami*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 푸른등금파리(*Lucilia ampullacea*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 10a는 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 푸른등금파리(*Lucilia ampullacea*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 10b는 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 푸른등금파리(*Lucilia ampullacea*)의 상이한 2 개체(빨간색 선: COI 유전자의 312번째 염기가 시토신인 경우, 보라색 선: COI 유전자의 312번째 염기가 시토신인 경우)에 대한 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 11은 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 12는 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 검정파리(*Calliphora vomitoria*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 13은 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 14는 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 구리금파리(*Lucilia sericata*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 15는 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 두꼬리검정파리(*Triceratopyga calliphoroides*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 16은 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 17a는 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 17b는 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*)의 상이한 2 개체(연두색 선: COI 유전자의 402번째 염기가 시토신인 경우, 노란색 선: COI 유전자의 402번째 염기가 티민인 경우)에 대한 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 18은 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 검정불기쉬파리(*Sarcophaga melanura*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 19는 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 떠돌이쉬파리(*Sarcophaga peregrina*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 20은 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 왕초쉬파리(*Sarcophaga dux*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 21은 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 굵슬털쉬파리(*Sarcophaga similis*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 22는 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 흰목덜미쉬파리(*Sarcophaga albiceps*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 23은 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 붉은불기쉬파리(*Sarcophaga crassipalpis*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 24는 본 발명의 일 실시예에 따른 시식성 파리 동정용 키트를 이용한 개울쉬파리(*Sarcophaga haemorrhoidalis*)의 다중 실시간 중합효소연쇄반응 증폭산물의 융해곡선분석 결과이다.

도 25는 본 발명의 동정 대상인 검정파리과(*Calliphoridae*, A 및 C 해당) 또는 쉬파리과(*Sarcophagidae*, B 및 D 해당) 시식성 파리의 후기문(posterior spiracle) 형태이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

실시예 1. 프라이머 제작

시식성 파리의 COI(Cytochrome C Oxidase Subunit I) 유전자 및 tRNA-Leucine 유전자의 염기서열을 MEGA 7.0.25로 분석하고, primer 3 Web 0.4.0 프로그램을 사용하여 프라이머를 설계하였다. 각 시식성 파리 종의 염기서열은 National Center for Biotechnology Information(NCBI) GenBank에서 얻었으며, 제작한 프라이머는 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

서열번호	염기서열(5'-3')		시식성 파리
1	정방향	TGACTTCTACCCCTGCAC	털검정파리, 푸른등금파리
2	역방향	CAGTTCATCCTGTTCAGCTC	
3	정방향	GTAGTTGCTCATTTCATTATGTGC	큰검정파리
4	역방향	GGGTATCAGTGACAAATCCTGCT	
5	정방향	CTGTCCCAACAGGAATTAAGATTTT	붉은뺨검정파리
6	역방향	TTGGGTACCATAAAGAGTTGCT	
7	정방향	ATACGATCAACAGGTATTACCTTC	검정파리
8	역방향	CTCCTGCTGGGTCAAAGAAT	
9	정방향	CTTGATCCAGCAGGAGGAG	검정뺨금파리
10	역방향	TGAAGTGAATAAGCTCGTGTGTCT	
11	정방향	CGTAGATACTCGAGCTTATTCACC	큰검정뺨금파리
12	역방향	TCTTAATTCAGTTGGTACAGCA	
13	정방향	TTCTACAATTGGATCAACAATTCTC	푸른등금파리
14	역방향	AACAAGACTTTCTCACACAATAAGAA	
15	정방향	GGAAAGAAGGAAACATTGGG	금파리
16	역방향	TTGAGTTCCGTAAAGAGTTGCT	
17	정방향	GGATTCTGTTTCATTGATATCCTC	금파리, 연두금파리
18	역방향	ATCGTCGTGGTATTCTGCT	
19	정방향	GAAACATTCGGTTTCATTAGGGATG	구리금파리
20	역방향	GCTCGTGTATCAACGTCTATTCC	
21	정방향	TTGGAGGATTGGAAATTGA	검정금파리
22	역방향	GGGAAAGCTATATCAGGTGCC	
23	정방향	ATATGGCTTTCCCTCGGATAAAC	두꼬리검정파리, 붉은뺨검정파리
24	역방향	GCTCCTCCATGTGCGATATT	
25	정방향	TTTTTGGAGCTTGAGCAGGT	흰목덜미쉬파리
26	역방향	TTATTCGAGGGAATGCCATG	
27	정방향	ACCGGTACTTGCAGGAGCTA	붉은볼기쉬파리
28	역방향	CTGCTGGGTGCAAAAAAGAG	
29	정방향	CTTTTACCACCAGCATTAAACATTATTA	왕초쉬파리
30	역방향	CATCCTGTTCCAGCTCCATT	
31	정방향	CAAAATACACCACCAGCTGAA	개울쉬파리
32	역방향	TTAGATTAGAAGTTAGTTAGTAGCGGT	
33	정방향	GAGCCCCAGATATAGCTTTCC	검정볼기쉬파리
34	역방향	GAAGAGATTCCAGCTAGATGAAG	
35	정방향	TATGGCCGATTGTTCATT	떠돌이쉬파리
36	역방향	GCTAAACCTAAGAAGTTTGGGGA	
37	정방향	TACTTCATTCTTTGATCCTGCT	굽슬털쉬파리
38	역방향	CCAAATGTTTCTTTTACCTGA	

[0088] 실험예 1. DNA의 분리

[0089] 사체에서 발견된 하기 19 종의 파리 성충 또는 구더기를 이용하였다: 털검정파리(*Aldrichina grahami*), 큰검정파리(*Calliphora lata*), 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*), 검정파리(*Calliphora vomitoria*), 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*), 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*), 푸른등금파리(*Lucilia ampullacea*), 금파리(*Lucilia caesar*), 연두금파리(*Lucilia illustris*), 구리금파리(*Lucilia sericata*), 검정금파리(*Phormia regina*), 두꼬리검정파리(*Triceratopyga calliphoroides*), 흰목덜미쉬파리(*Sarcophaga albiceps*), 붉은볼기쉬파리(*Sarcophaga crassipalpis*), 왕초쉬파리(*Sarcophaga dux*), 개울쉬파리(*Sarcophaga haemorrhoidalis*), 검정볼기쉬파리(*Sarcophaga melanura*), 떠돌이쉬파리(*Sarcophaga peregrina*) 및 굽슬털쉬파리(*Sarcophaga similis*).

[0090] Geneall Tissue SV Mini Kit(Geneall, Seoul, Korea)에서 제공하는 근접한 샘플 유형의 방법에 따라 상기 19 종의 파리로부터 DNA를 분리하였으며, NanoDrop 2000c Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, Delaware, USA)를 이용하여 DNA 농도를 측정하였다. 3차 증류수를 이용하여 DNA 용액을 실험 농도(1 ng/uL)까지 희석하고 사용 시까지 -20 °C에서 보관하였다.

[0092] 실험예 2. 다중 실시간 중합효소연쇄반응 및 용해곡선분석

[0093] 상기 실험예 1의 19 종의 DNA에 대하여, SYBR Green 형광 색소가 들어있는 TOPreal™ qPCR 2X PreMIX(SYBR Green with high ROX)(Enzynomics, Daejeon, Korea)로 StepOnePlus™ Real-Time System instrument(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 이용하여 실시간 중합효소연쇄반응(PCR)을 수행하였다. 구체적으로, 95 °C에서 10 분간 초기 변성 공정 1 사이클(cycle) 후, 95 °C에서 10 초 변성; 62 °C에서 15 초 어닐링; 및 72 °C에서 20 초 연장 공정을 40 사이클 수행하였다. 이때, PCR의 반응물은 총 20 uL로 TOPreal™ qPCR 2X PreMIX(10 uL), DNA(1 uL), 프라이머(2.4 uL) 및 3차 증류수(6.6 uL)로 조성되었다.

[0094] 마지막 중합연쇄반응이 끝난 후, 65 °C에서 85 °C까지 초당 0.3 °C 속도로 온도를 증가시키면서 용해곡선분석을 수행하였으며, 각 반응 및 분석의 결과는 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

[0095]

시식성 파리	프라이머	증폭산물 크기(bp)	증폭산물 용해온도(Tm, °C)
털검정파리	1 세트	76	75.92±0.29
큰검정파리	2 세트	77	75.84±0.52
붉은뺨검정파리	3 세트	56	72.85±0.79
	12 세트	151	79.84±0.53
검정파리	4 세트	163	77.69±0.30
검정뺨금파리	5 세트	265	79.40±0.38
큰검정뺨금파리	6 세트	65	74.86±0.42
푸른등금파리	7 세트	76	73.74±0.80
	1 세트	76	75.92±0.29
금파리	8 세트	207	78.58±0.30
	9 세트	145	76.95±0.37
연두금파리	9 세트	145	76.95±0.37
구리금파리	10 세트	113	76.63±0.45
검정금파리	11 세트	61	74.43±0.045
두꼬리검정파리	12 세트	151	79.84±0.53
흰목덜미쉬파리	13 세트	231	79.19±0.59
붉은볼기쉬파리	14 세트	74	75.75±0.31
왕초쉬파리	15 세트	68	74.20±0.95
개울쉬파리	16 세트	65	74.05±0.21
검정볼기쉬파리	17 세트	208	79.99±0.22
떠돌이쉬파리	18 세트	135	75.15±0.46
굽슬털쉬파리	19 세트	159	77.77±0.52

[0097] 실시예 2. 프라이머 세트 제작

[0098] 상기 실험예 2의 결과를 참고하여, 검정파리과 파리를 동정하기 위한 4 종의 프라이머 세트와 쉬파리과 파리를 동정하기 위한 3 종의 프라이머 세트를 제작하였다. 각각의 프라이머 세트는 정방향 프라이머와 역방향 프라이머의 동일한 양을 사용하였으며, 제작한 프라이머 세트는 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

프라이머 세트	구성(프라이머 염기서열)	pmol/ul	시식성 파리
제1 검정파리과	5 세트(서열번호 9/서열번호 10)	0.25	검정뺨금파리, 금파리, 연두금파리, 검정금파리
	9 세트(서열번호 17/서열번호 18)	0.30	
	11 세트(서열번호 21/서열번호 22)	1.70	
제2 검정파리과	2 세트(서열번호 3/서열번호 4)	0.20	큰검정파리, 푸른등금파리, 금파리
	7 세트(서열번호 13/서열번호 14)	0.20	
	8 세트(서열번호 15/서열번호 16)	0.15	
제3 검정파리과	1 세트(서열번호 1/서열번호 2)	0.15	털검정파리, 푸른등금파리, 붉은뺨검정파리, 검정파리
	3 세트(서열번호 5/서열번호 6)	0.30	
	4 세트(서열번호 7/서열번호 8)	1.50	
제4 검정파리과	6 세트(서열번호 11/서열번호 12)	0.10	큰검정뺨금파리, 구리금파리, 두꼬리검정파리, 붉은뺨검정파리
	10 세트(서열번호 19/서열번호 20)	1.50	
	12 세트(서열번호 23/서열번호 24)	0.10	
제1 쉬파리과	17 세트(서열번호 33/서열번호 34)	0.10	검정불기쉬파리, 떠돌이쉬파리
	18 세트(서열번호 35/서열번호 36)	0.10	
제2 쉬파리과	15 세트(서열번호 29/서열번호 30)	0.15	왕초쉬파리, 곱슬털쉬파리
	19 세트(서열번호 37/서열번호 38)	0.10	
제3 쉬파리과	13 세트(서열번호 25/서열번호 26)	1.20	흰목덜미쉬파리, 붉은불기쉬파리, 개울쉬파리
	14 세트(서열번호 27/서열번호 28)	0.15	
	16 세트(서열번호 31/서열번호 32)	0.10	

[0101] 실험예 3. 검정파리과 프라이머 세트의 유효성 확인

[0102] 상기 실험예 1의 12 종의 검정파리과 시식성 파리(단, 푸른등금파리 및 붉은뺨검정파리의 경우 각각 상이한 SNP를 포함하는 2 개체를 이용하였음)에 대하여, 상기 실시예 2의 제1 내지 제4 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트를 이용하여 상기 실험예 2와 동일한 방법으로 다중 실시간 중합효소연쇄반응 및 용해곡선분석을 수행하였다.

[0104] 제1 검정파리과 프라이머 세트

[0105] 도 1 내지 4에서 확인할 수 있듯이, 제1 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에서는 검정뺨금파리(도 1), 금파리(도 2), 연두금파리(도 3) 및 검정금파리(도 4)의 PCR 증폭산물이 각 용해온도에 해당하는 피크를 나타내었다.

[0107] 제2 검정파리과 프라이머 세트

[0108] 도 5 내지 7에서 확인할 수 있듯이, 제2 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에서는 큰검정파리(도 5), 푸른등금파리(도 6) 및 금파리(도 7)의 PCR 증폭산물이 각 용해온도에 해당하는 피크를 나타내었다.

[0110] 제3 검정파리과 프라이머 세트

[0111] 도 8 내지 12에서 확인할 수 있듯이, 제3 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에서는 털검정파리(도 8), 일부(COI 유전자의 312번째 염기가 시토신) 푸른등금파리(도 9), 붉은뺨검정파리(도 11) 및 검정파리(도 12)의 PCR 증폭산물이 각 용해온도에 해당하는 피크를 나타내었다.

[0112] 일부(COI 유전자의 312번째 염기가 티민) 푸른등금파리의 경우는 증폭되지 않았으나(도 10a 참조), 해당 개체의 경우 제2 검정파리과 프라이머 세트에서 푸른등금파리의 용해온도(T_m : 75.75)에 해당하는 피크를 나타내었다(도 10b 참조).

[0114] 제4 검정파리과 프라이머 세트

[0115] 도 13 내지 15에서 확인할 수 있듯이, 제4 검정파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에서는 큰검정뺨금파리

(도 13), 구리금파리(도 14), 두꼬리검정파리(도 15) 및 일부(COI 유전자의 402번째 염기가 시토신) 붉은뺨검정파리(도 16)의 PCR 증폭산물이 각 용해온도에 해당하는 피크를 나타내었다.

[0116] 일부(COI 유전자의 402번째 염기가 티민) 붉은뺨검정파리의 경우는 증폭되지 않았으나(도 17a 참조), 해당 개체의 경우 제3 검정파리과 프라이머 세트에서 붉은뺨검정파리의 용해온도(T_m : 79.18)에 해당하는 피크를 나타내었다(도 17b 참조).

[0118] 실험예 4. 쉬파리과 프라이머 세트의 유효성 확인

[0119] 상기 실험예 1의 7 종의 쉬파리과 시식성 파리에 대하여, 상기 실시예 2의 제1 내지 제3 쉬파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트를 이용하여 상기 실험예 2와 동일한 방법으로 다중 실시간 중합효소연쇄반응 및 용해곡선 분석을 수행하였다.

[0121] 제1 쉬파리과 프라이머 세트

[0122] 도 18 및 19에서 확인할 수 있듯이, 제1 쉬파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에서는 검정볼기쉬파리(도 18) 및 떠돌이쉬파리(도 19)의 PCR 증폭산물이 각 용해온도에 해당하는 피크를 나타내었다.

[0124] 제2 쉬파리과 프라이머 세트

[0125] 도 20 및 21에서 확인할 수 있듯이, 제2 쉬파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에서는 왕초쉬파리(도 20) 및 곱슬털쉬파리(도 21)의 PCR 증폭산물이 각 용해온도에 해당하는 피크를 나타내었다.

[0127] 제3 쉬파리과 프라이머 세트

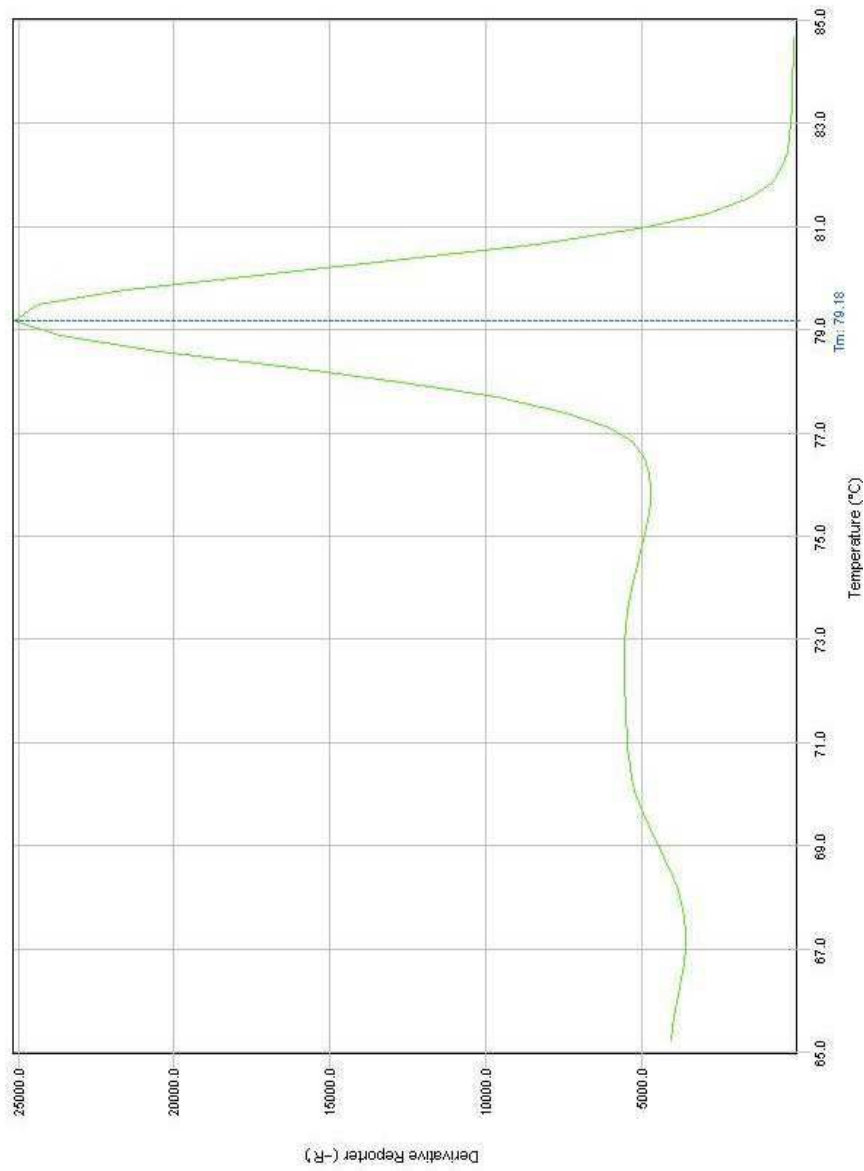
[0128] 도 22 내지 24에서 확인할 수 있듯이, 제3 쉬파리과 시식성 파리 동정용 프라이머 세트에서는 흰목털미쉬파리(도 22), 붉은볼기쉬파리(도 23) 및 개울쉬파리(도 24)의 PCR 증폭산물이 각 용해온도에 해당하는 피크를 나타내었다.

[0130] 소결

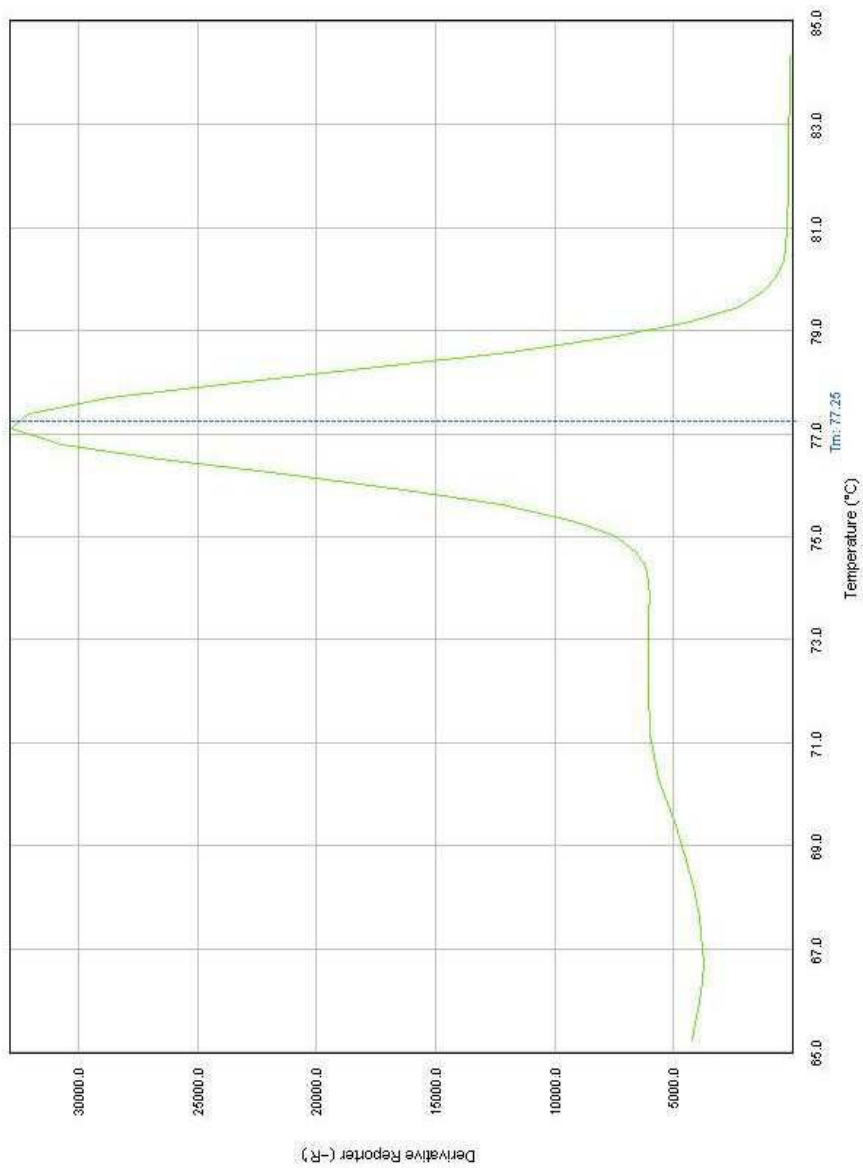
[0131] 상기 실시예들에 따라 실시간 중합효소연쇄반응 및 용해곡선분석을 수행할 경우, 간편하고 정확하면서도 효율적으로 시식성 파리의 특정 종을 동정할 수 있음을 확인하였다.

도면

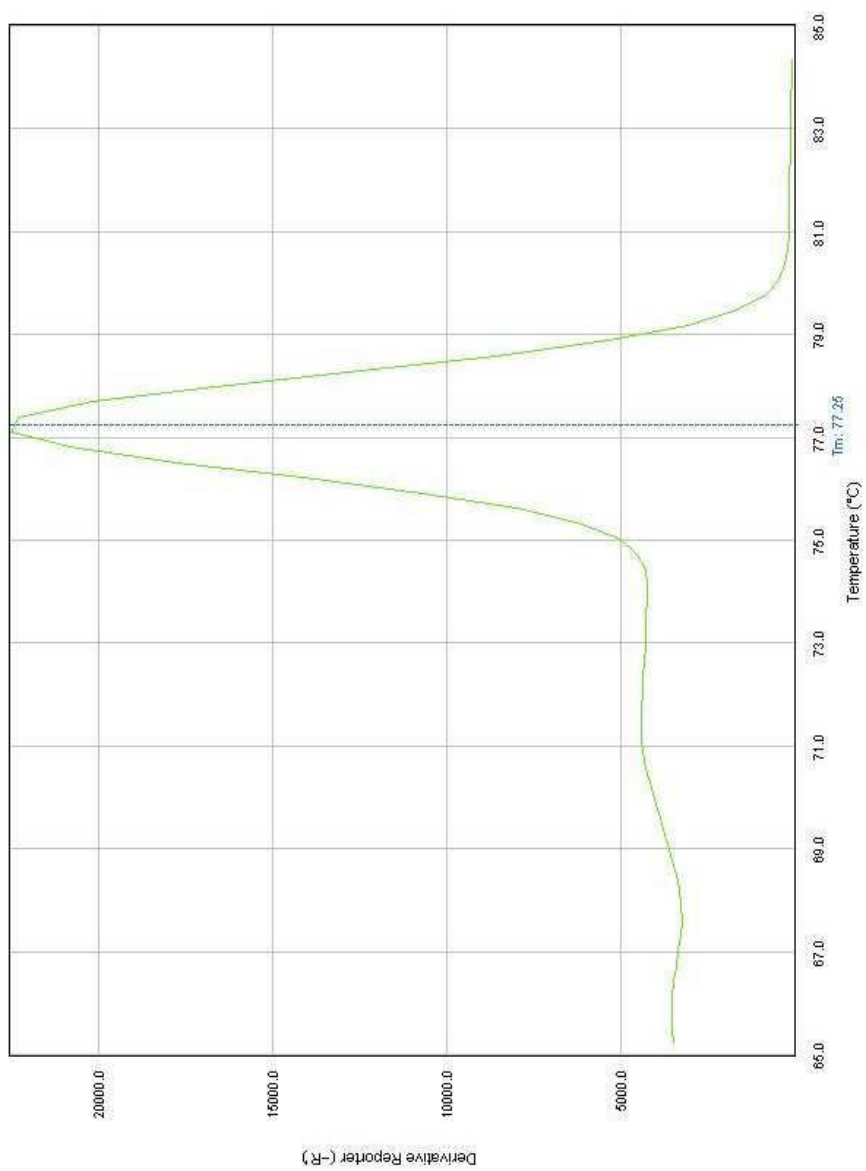
도면1



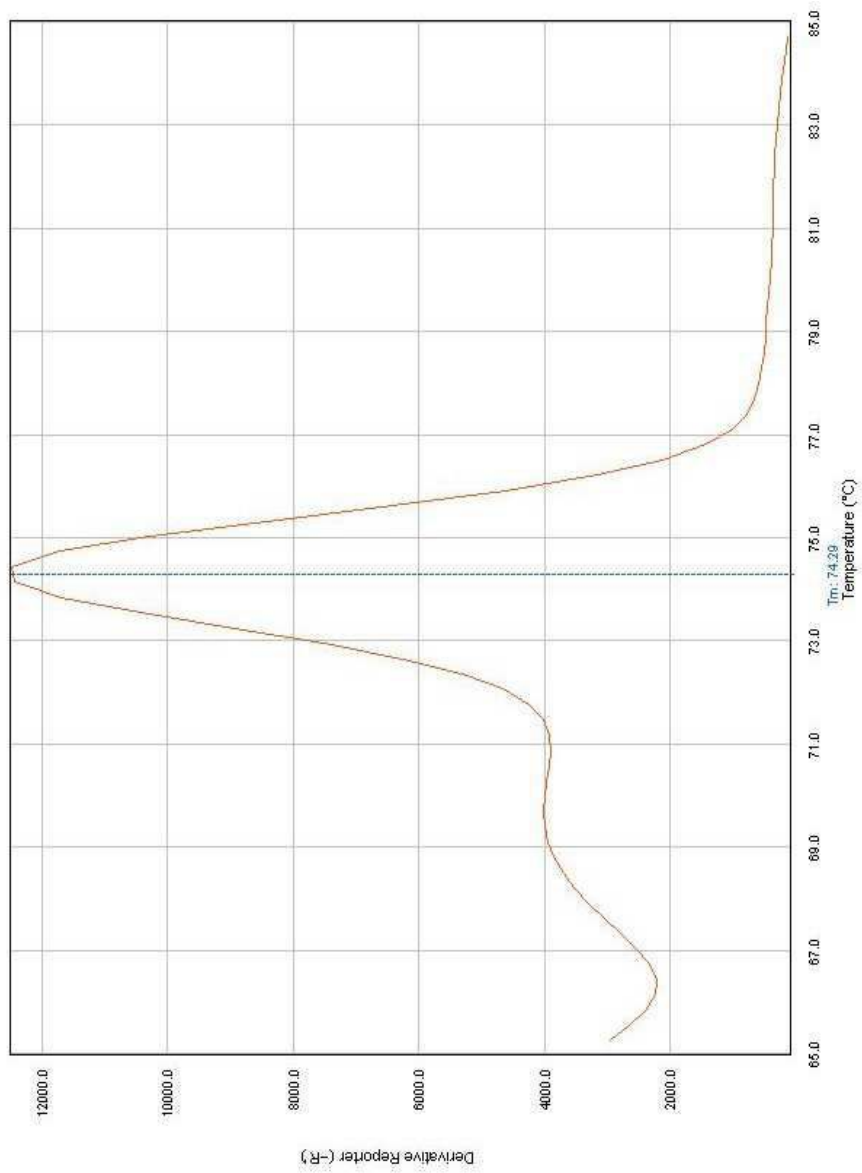
도면2



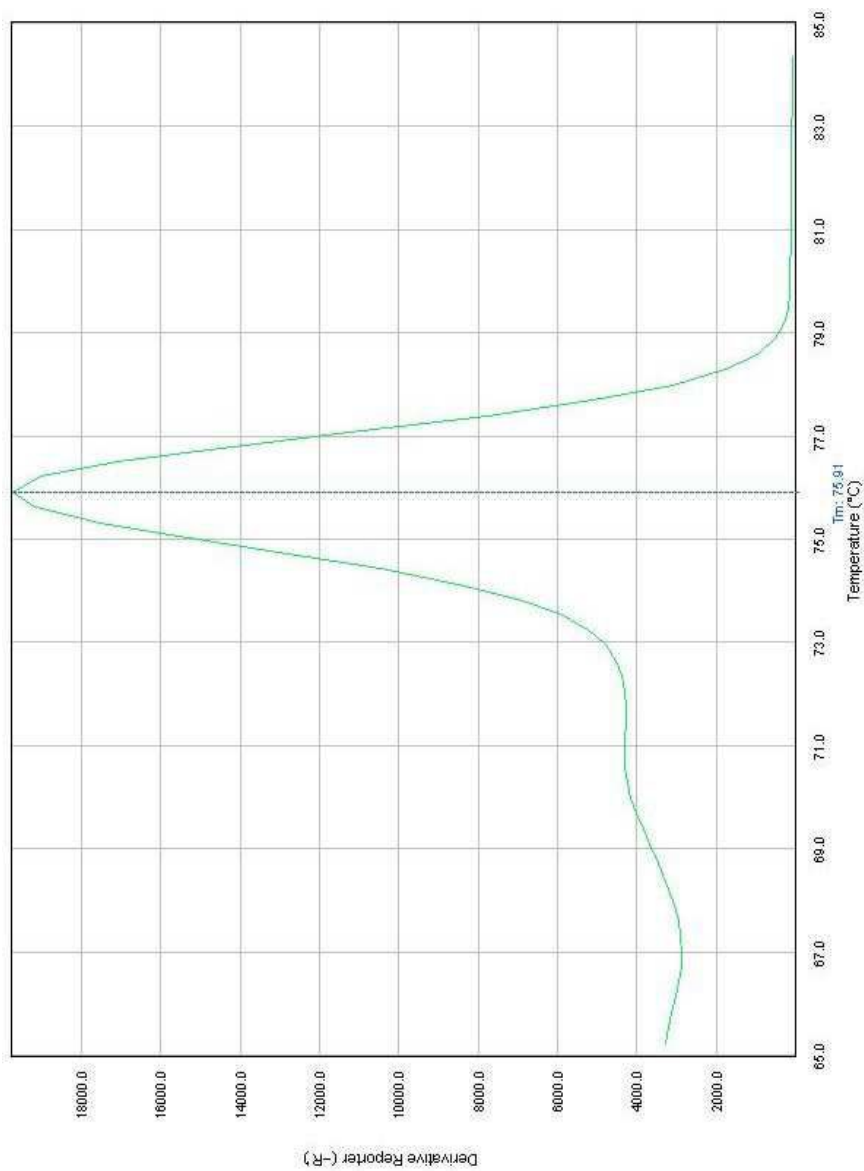
도면3



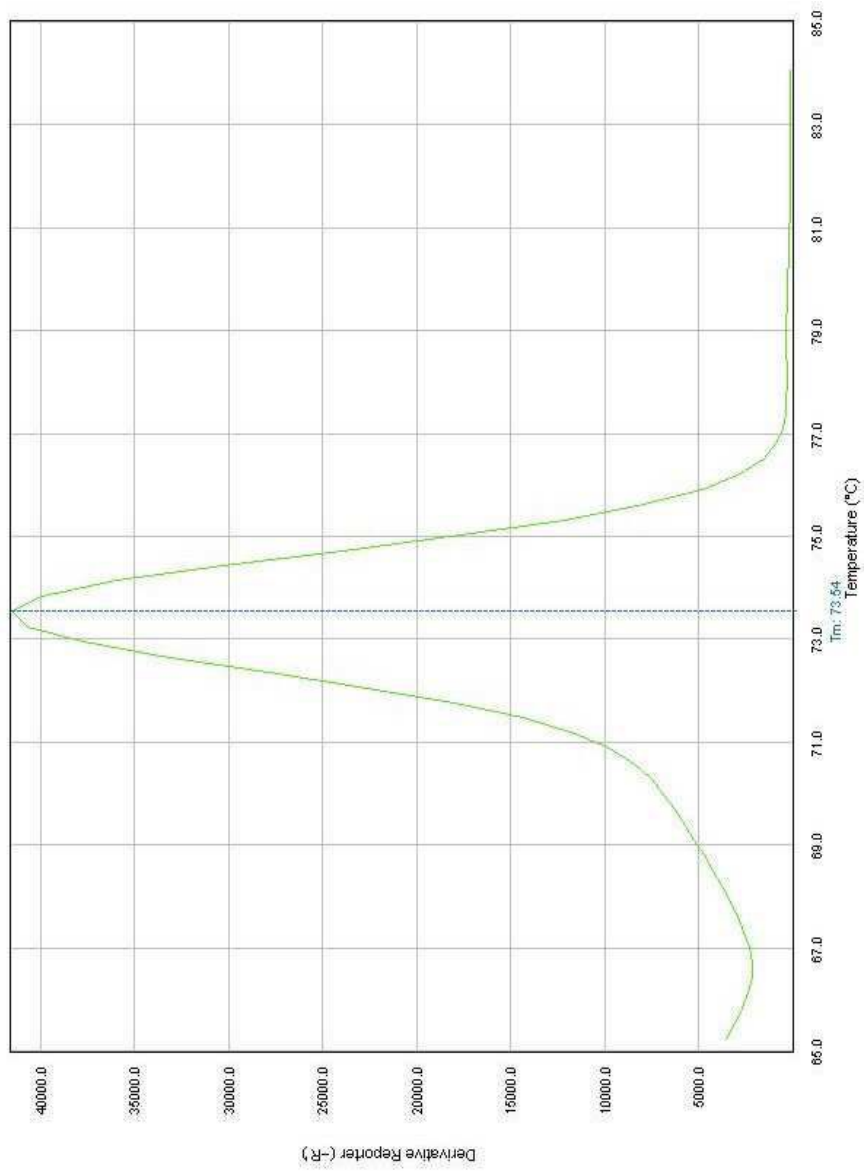
도면4



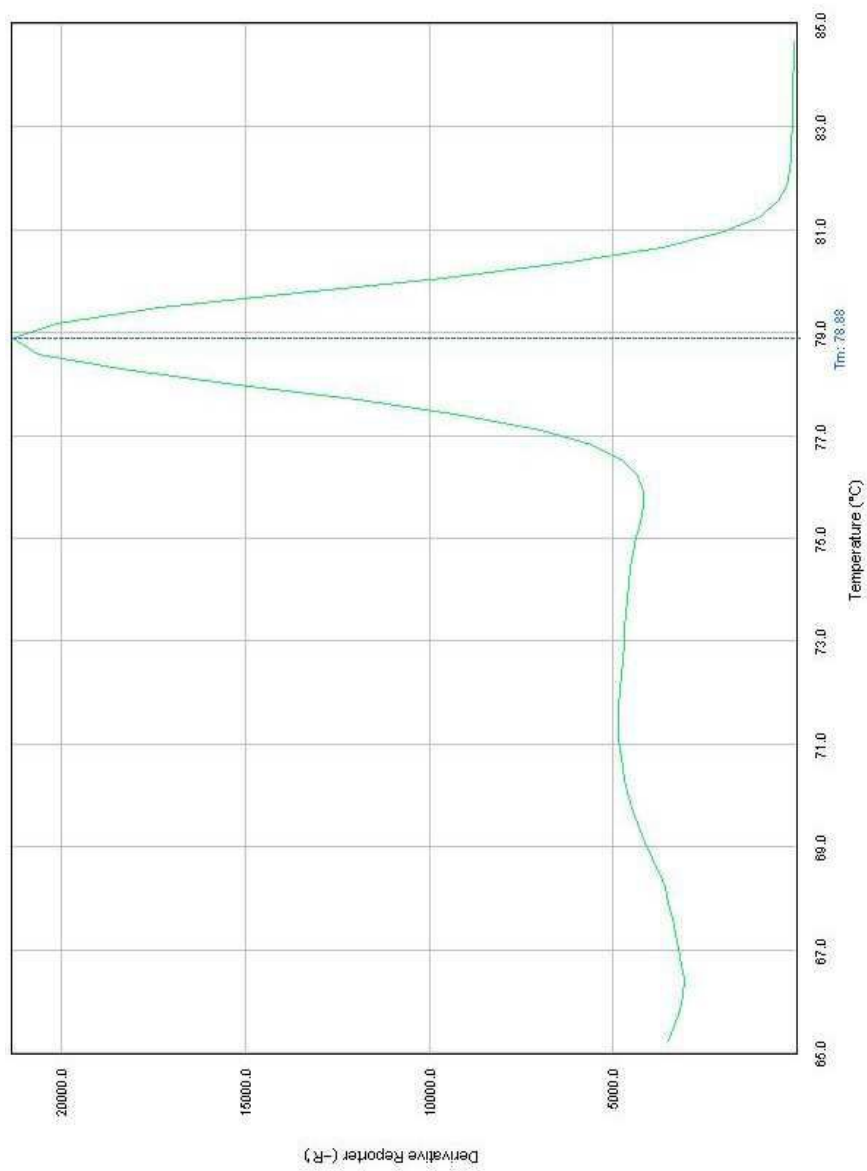
도면5



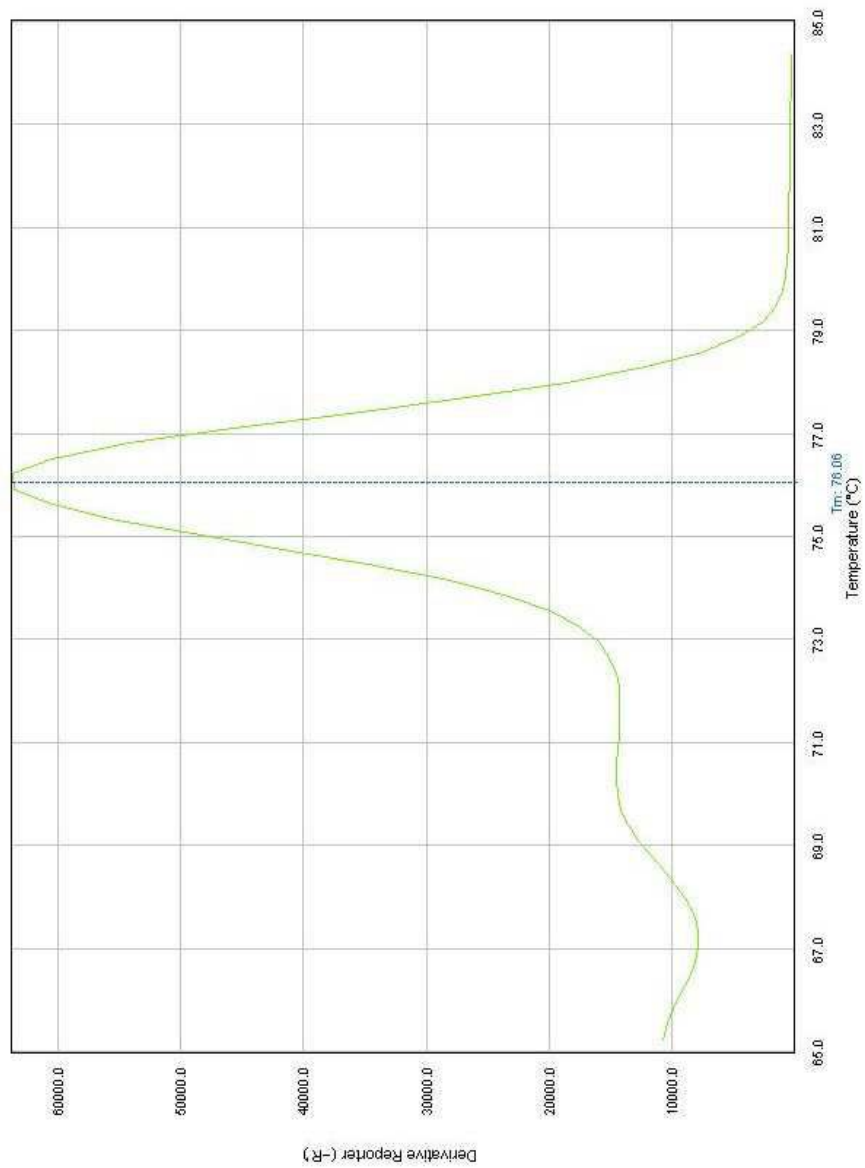
도면6



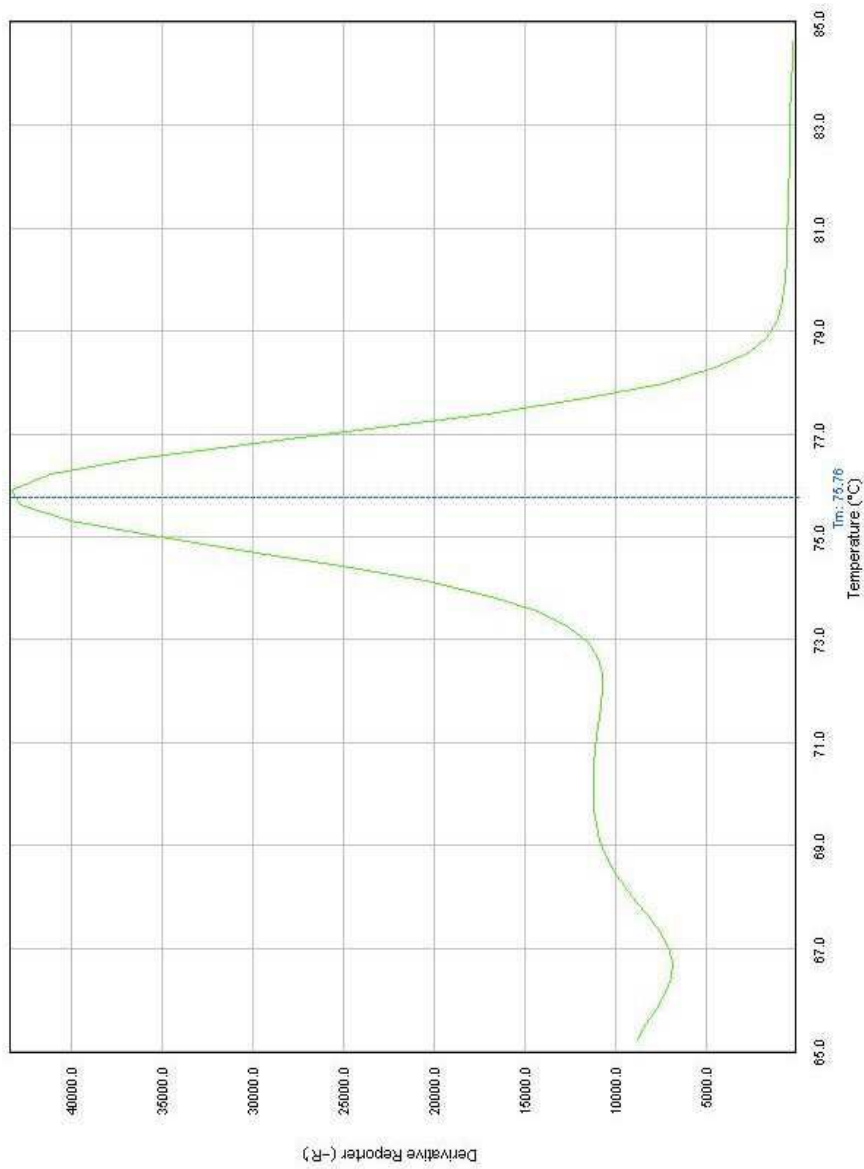
도면7



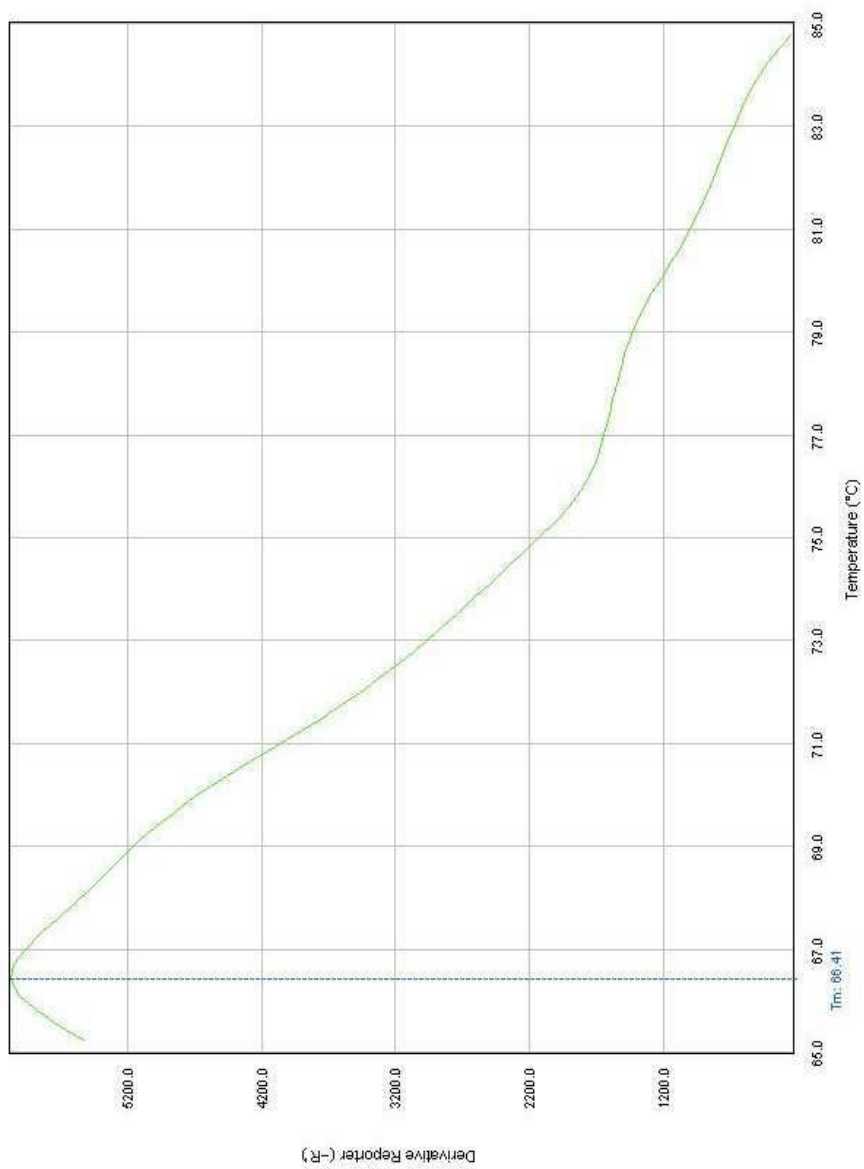
도면8



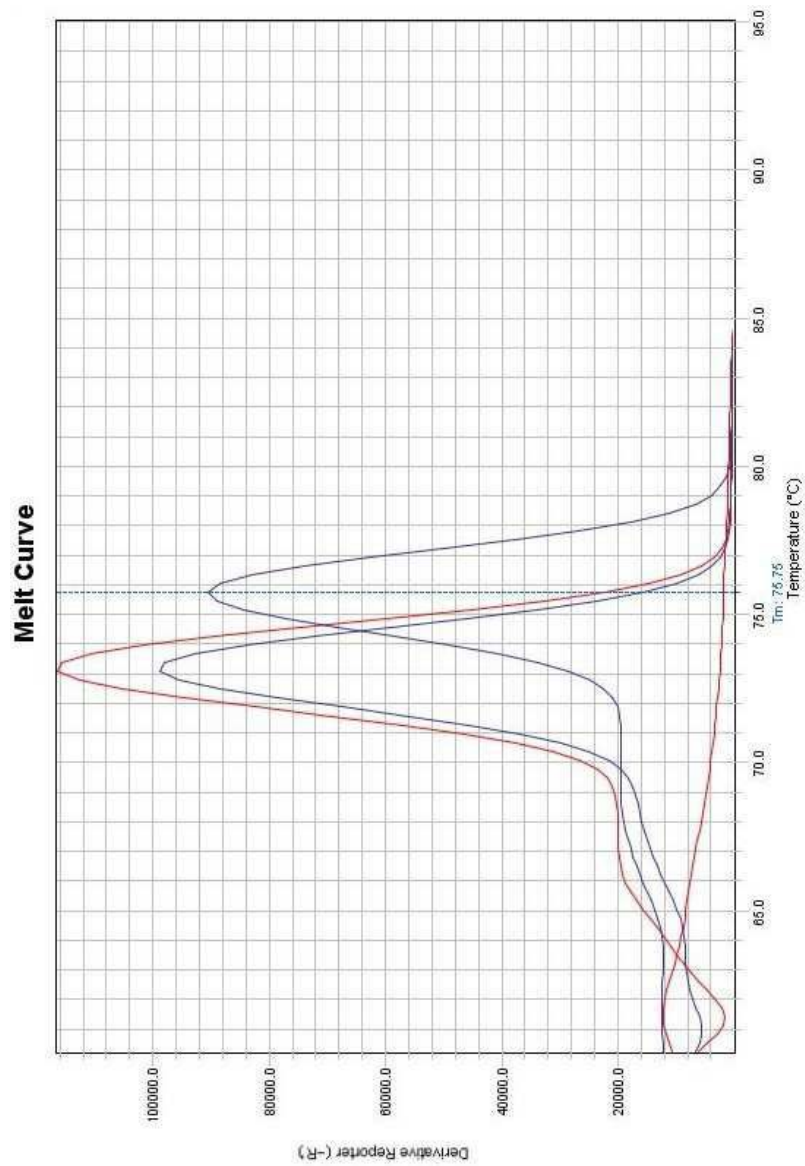
도면9



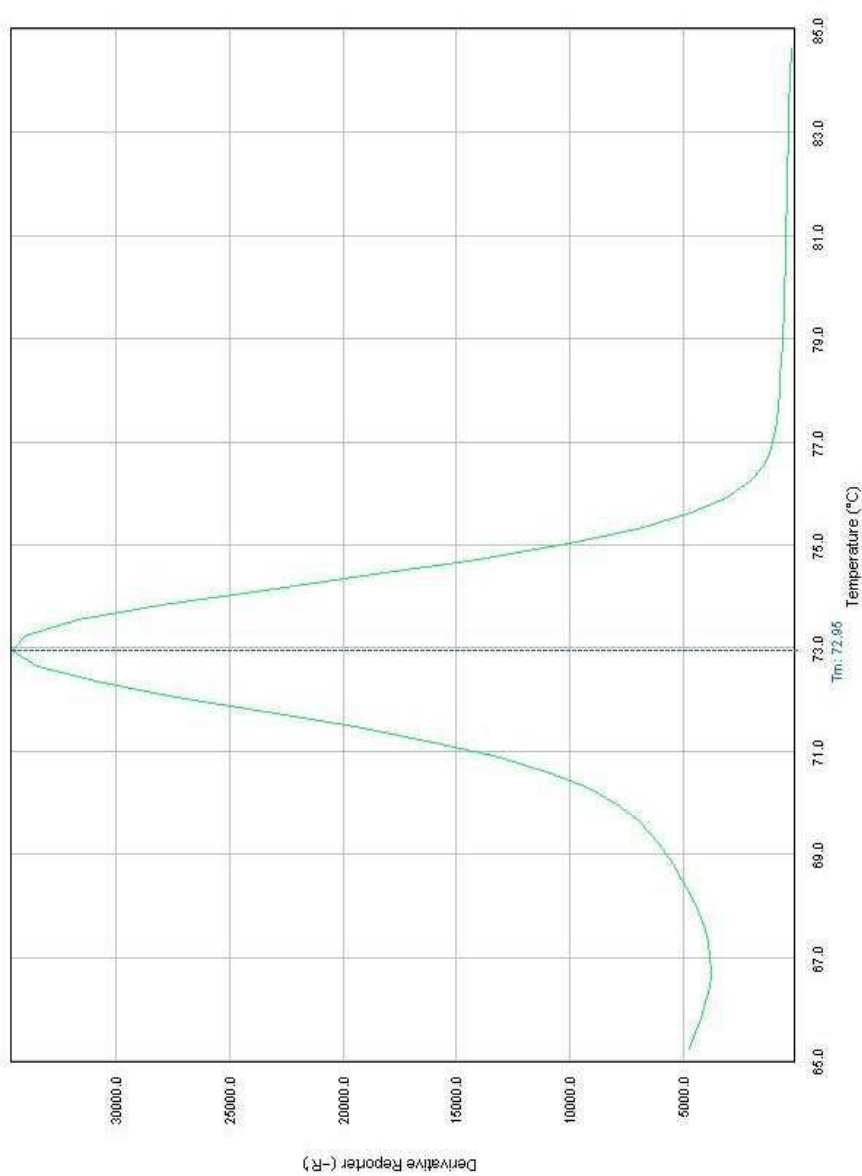
도면10a



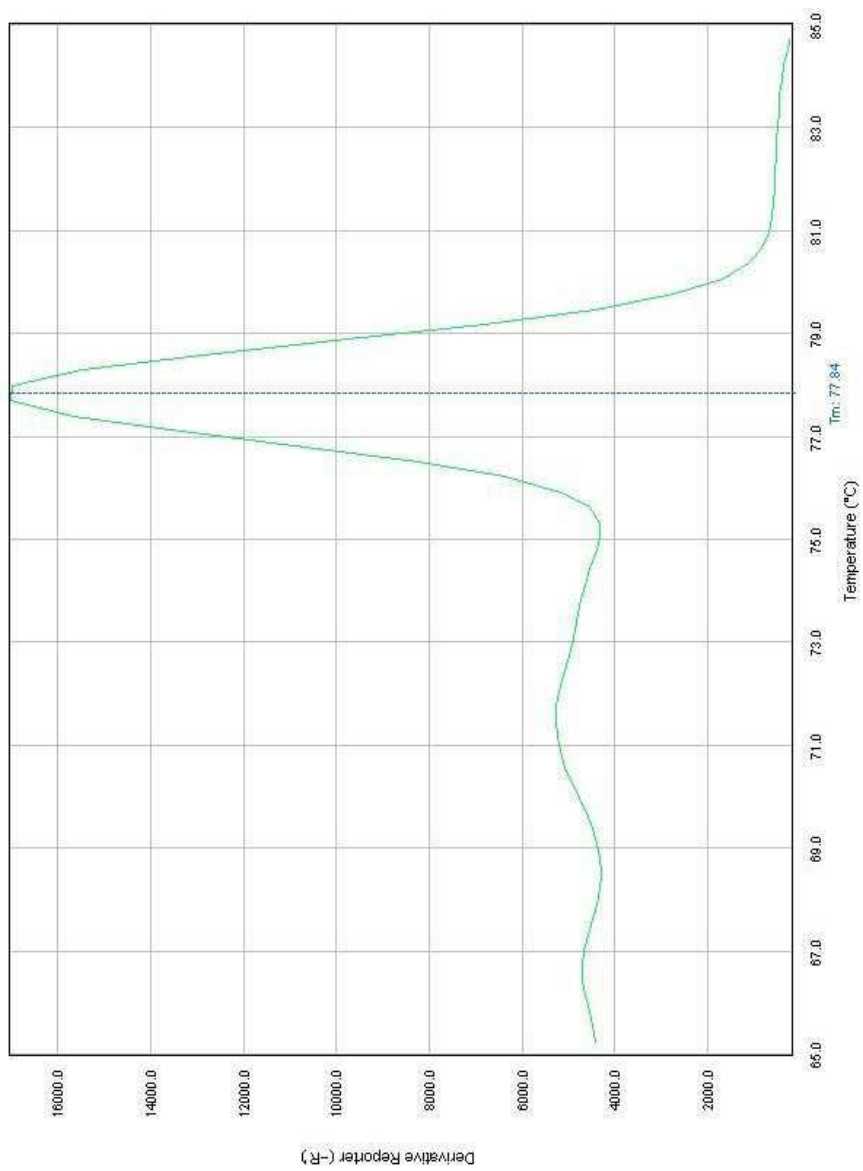
도면10b



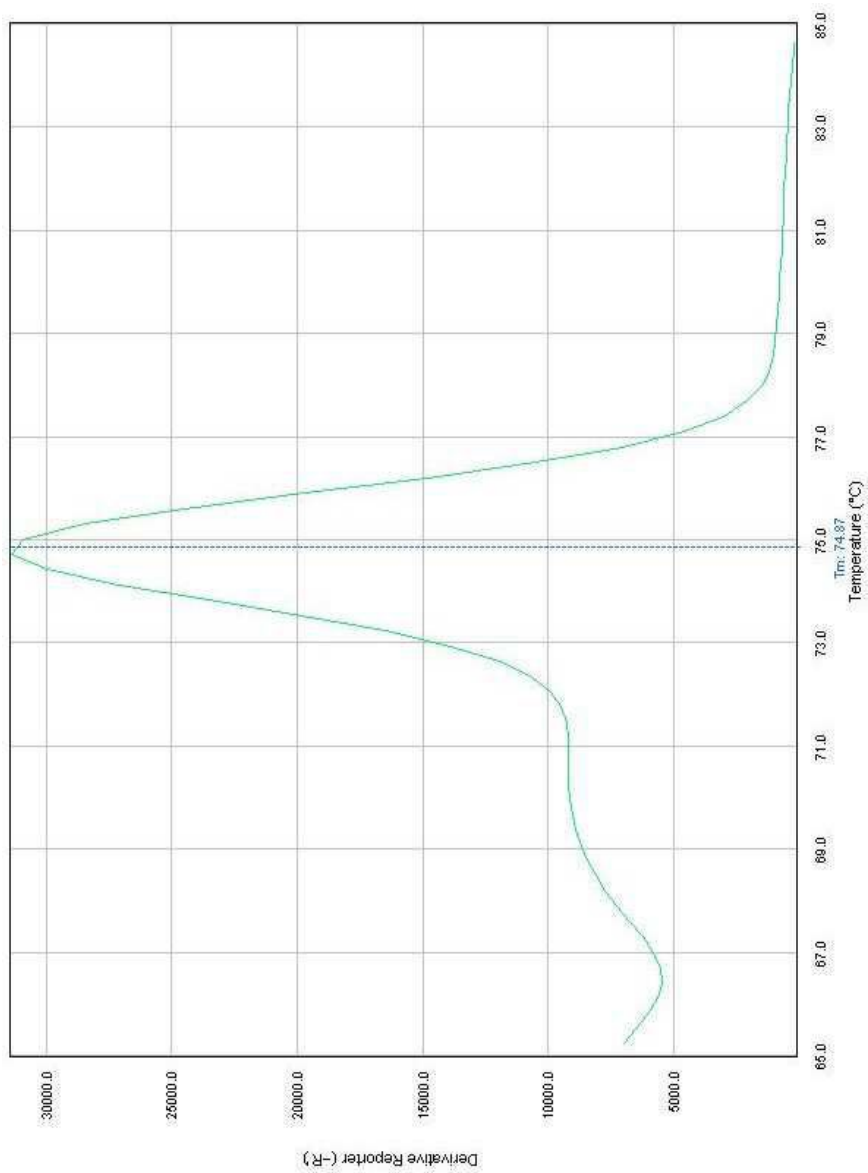
도면11



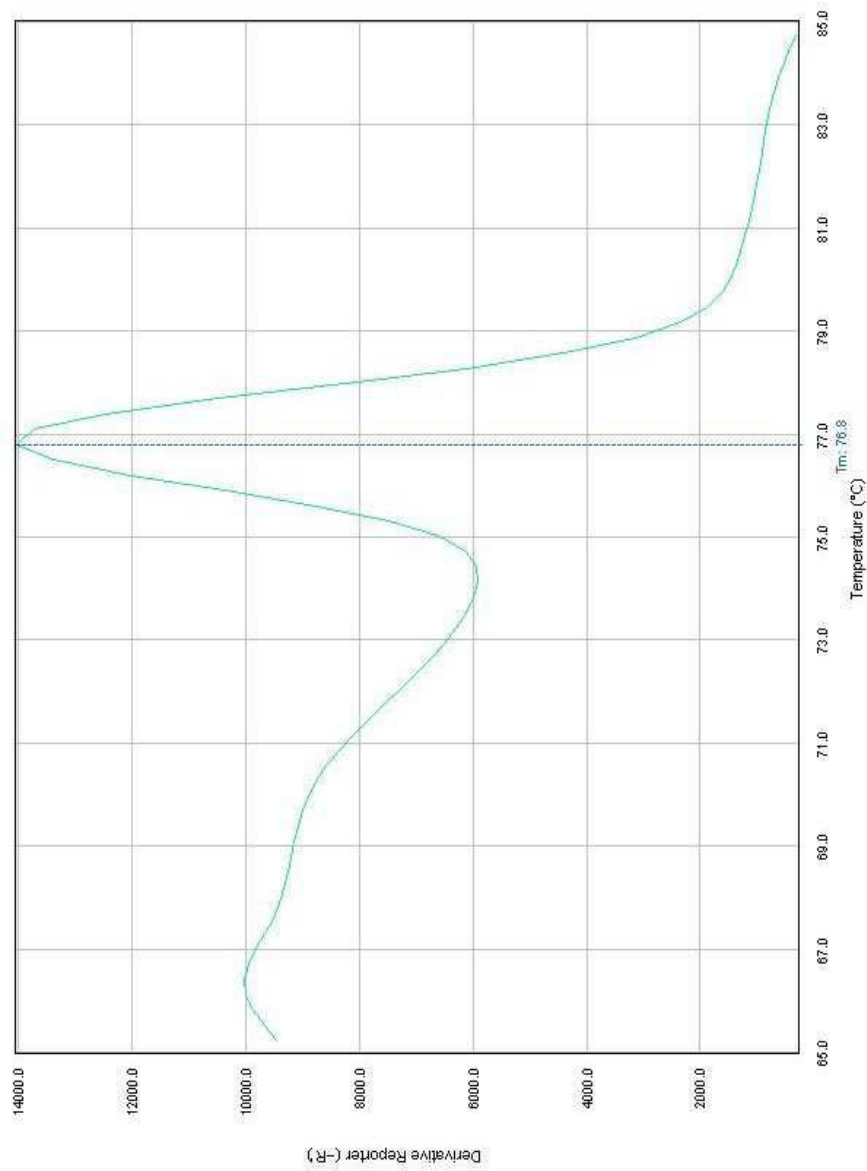
도면12



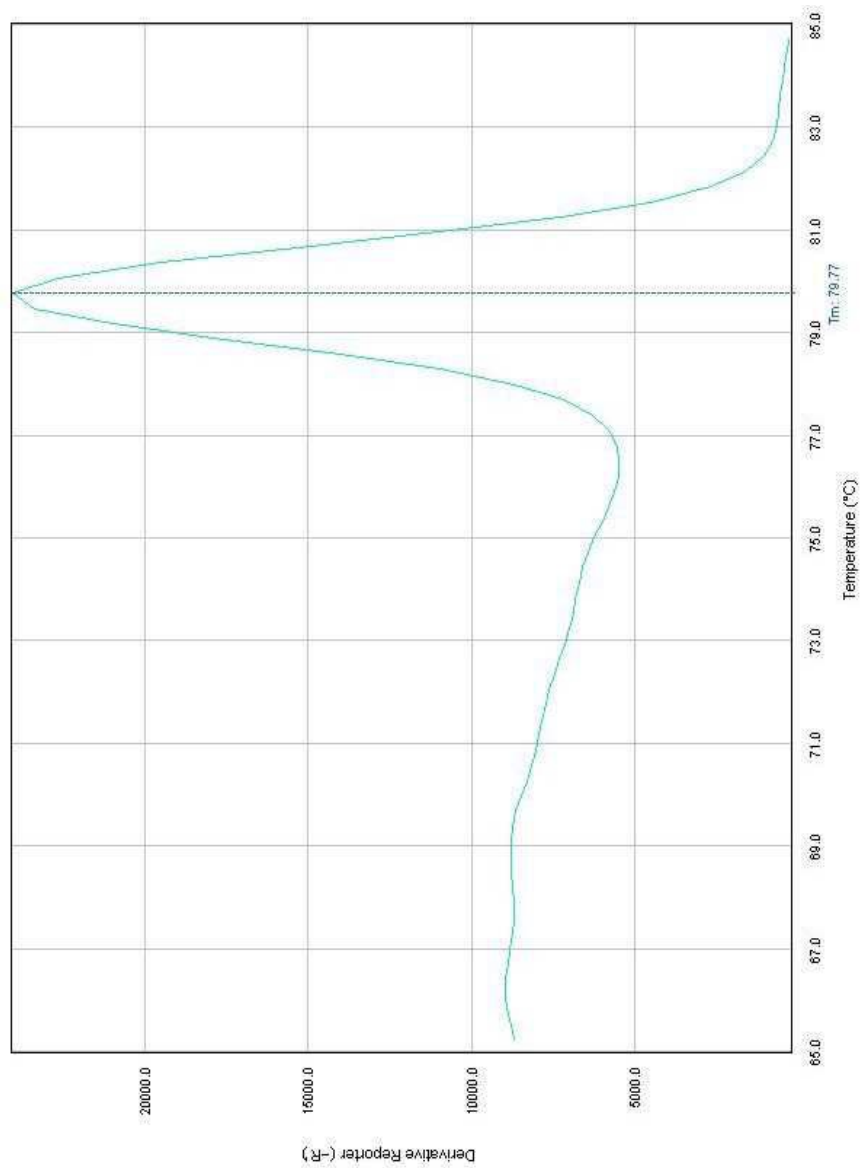
도면13



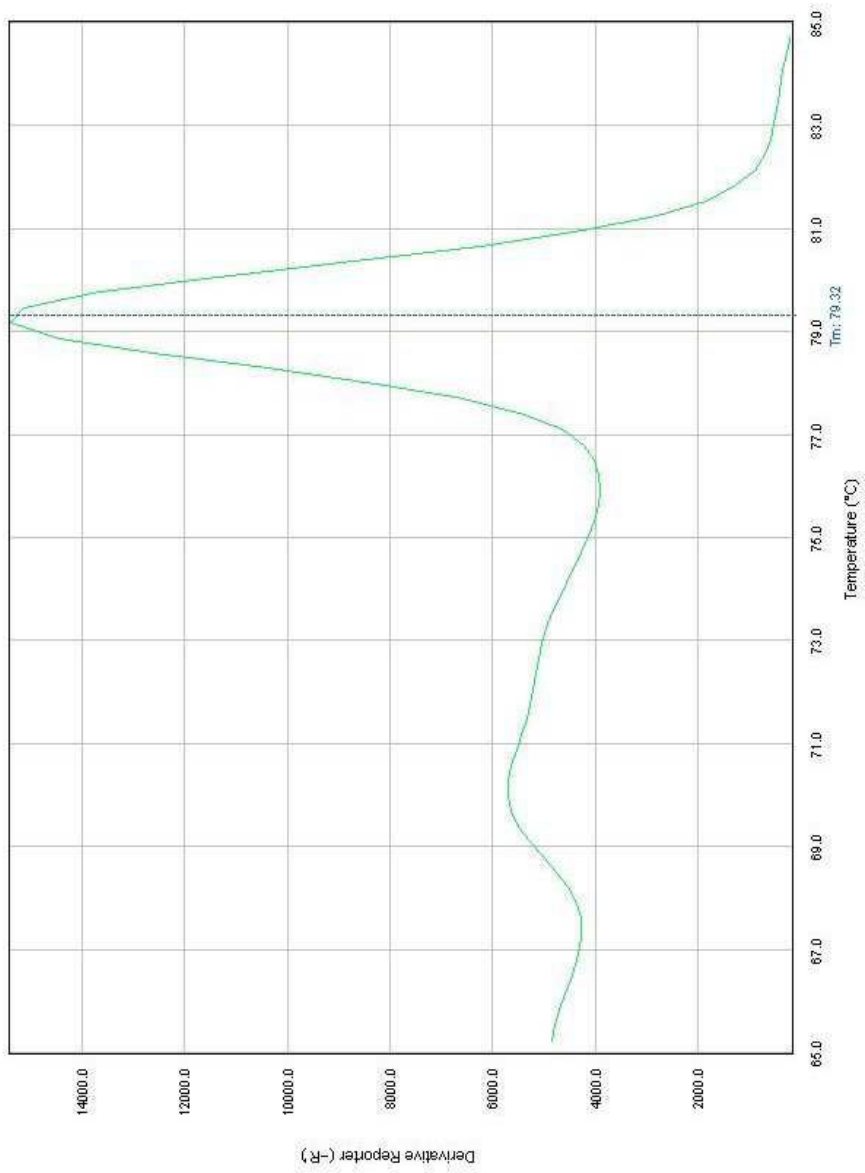
도면14



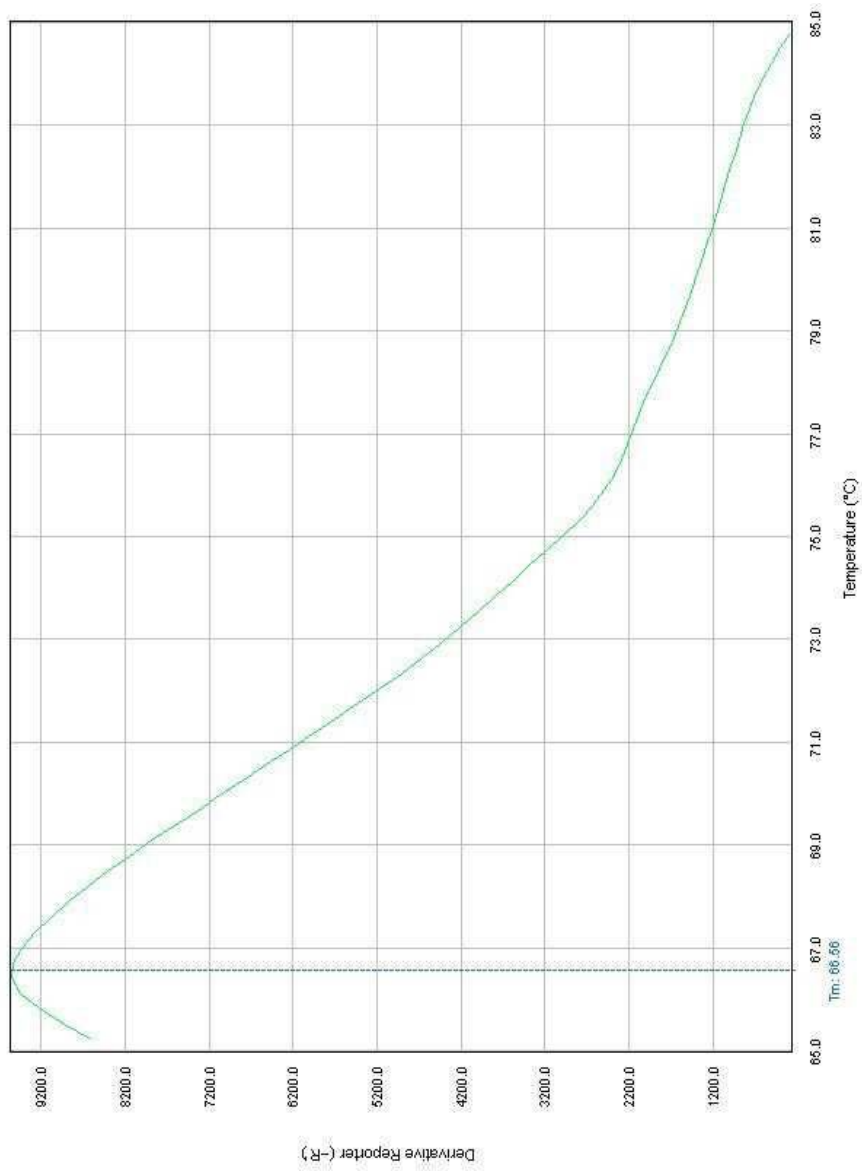
도면15



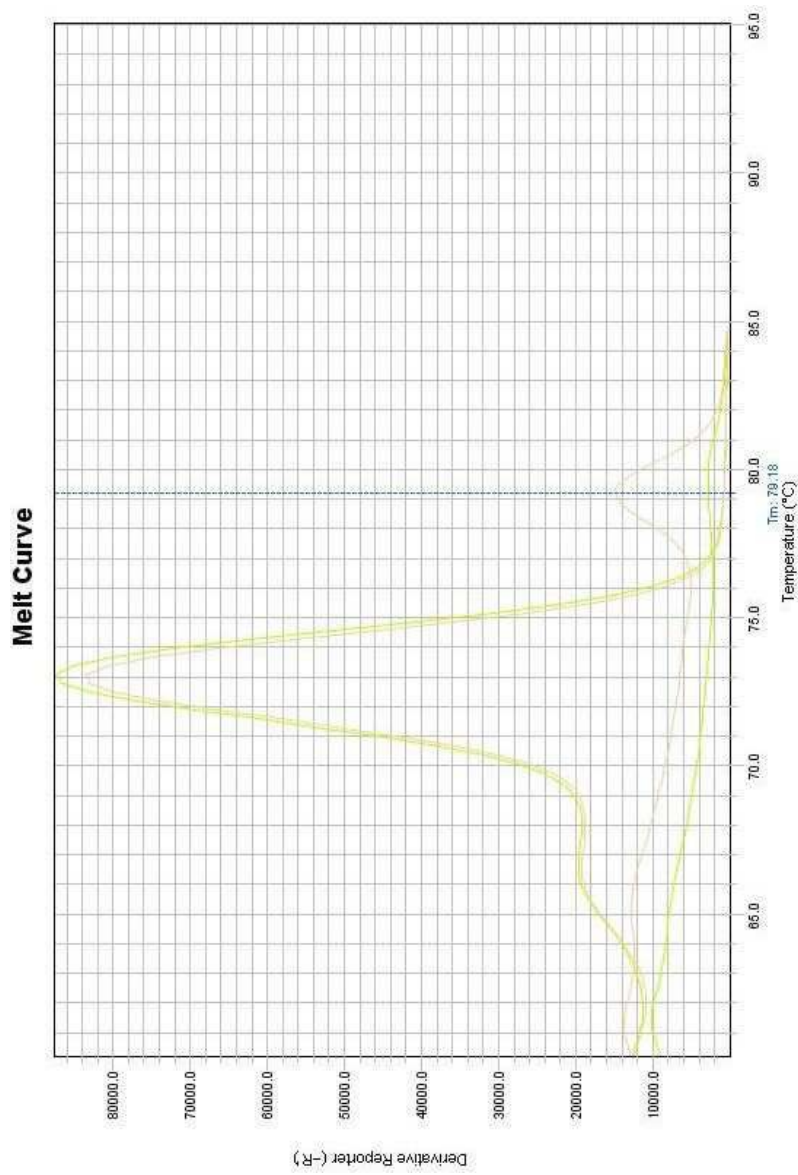
도면16



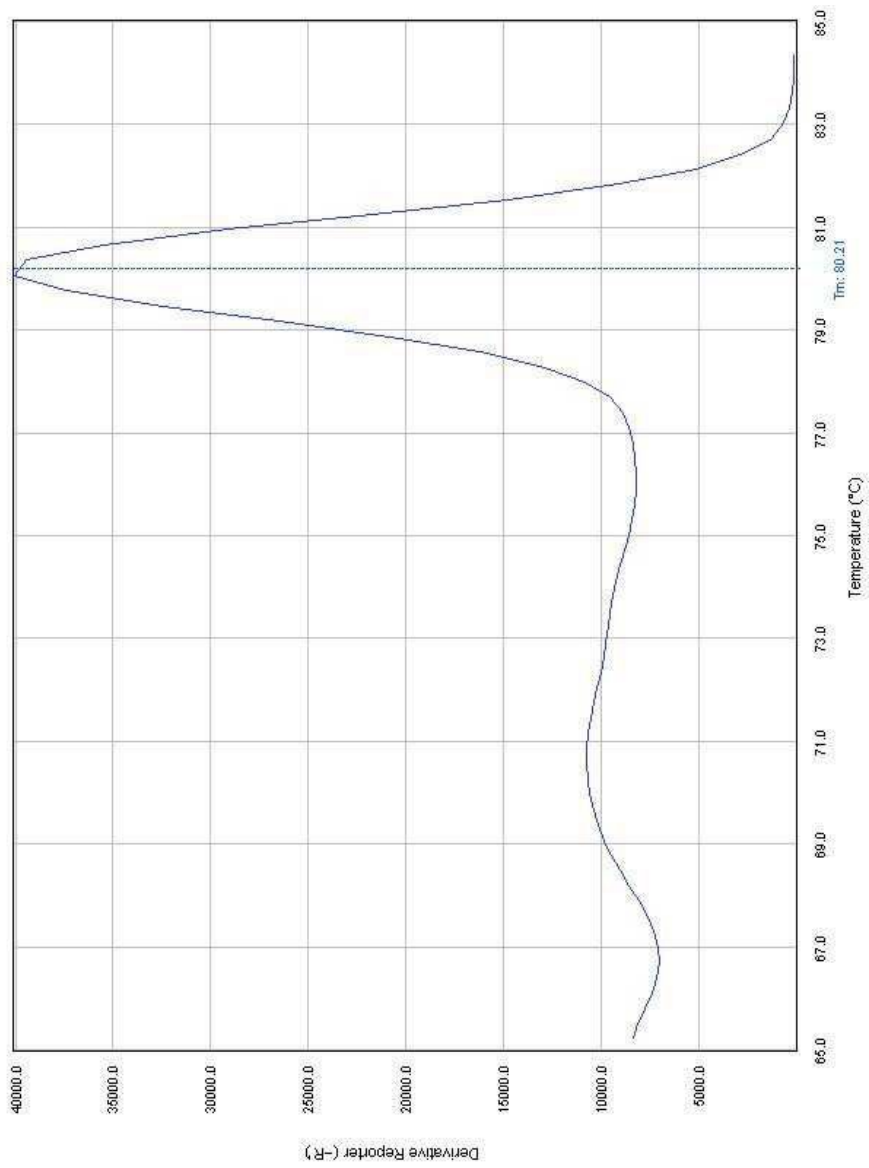
도면17a



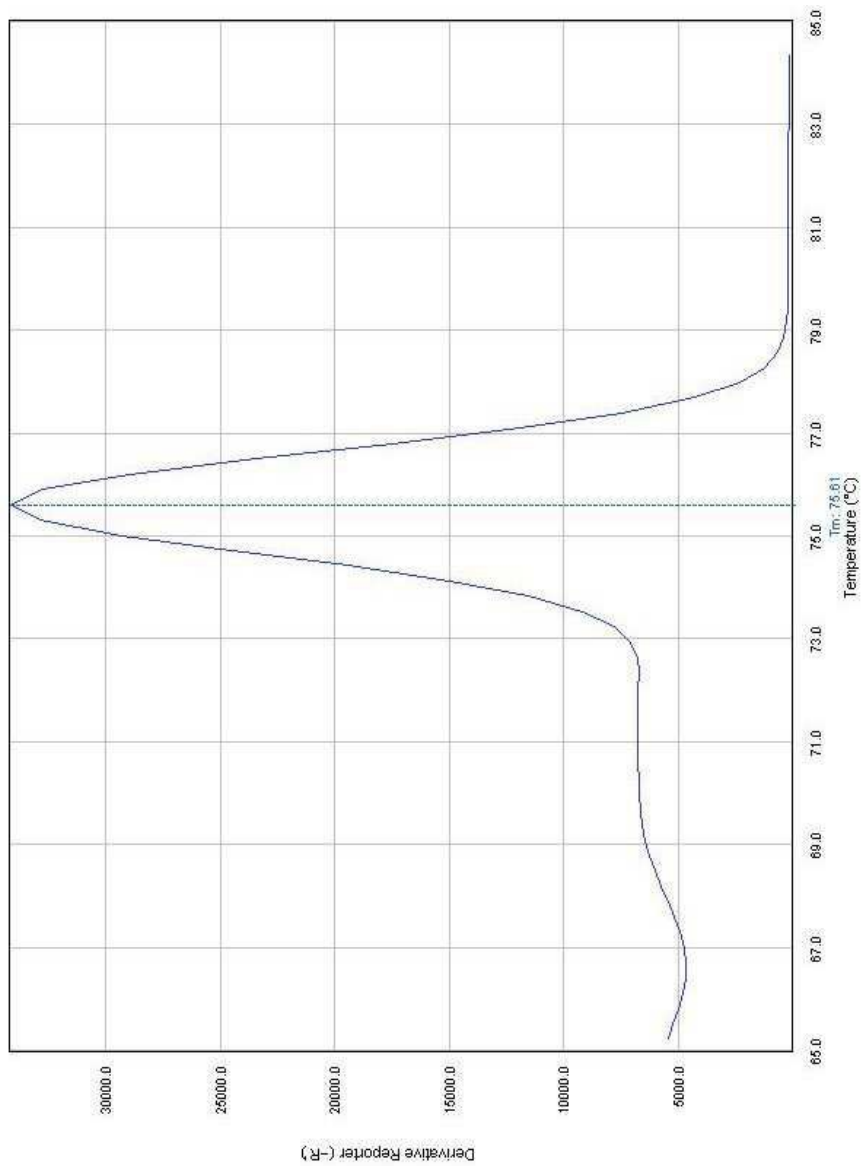
도면17b



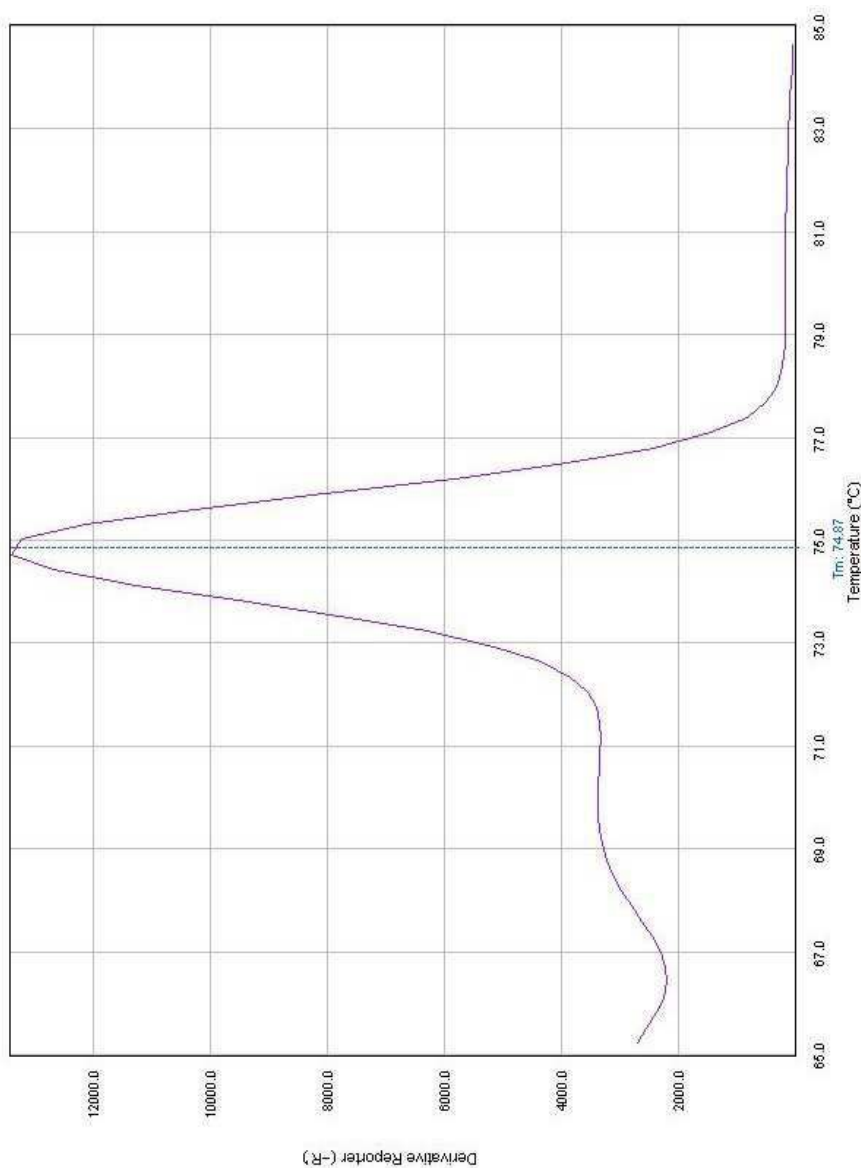
도면18



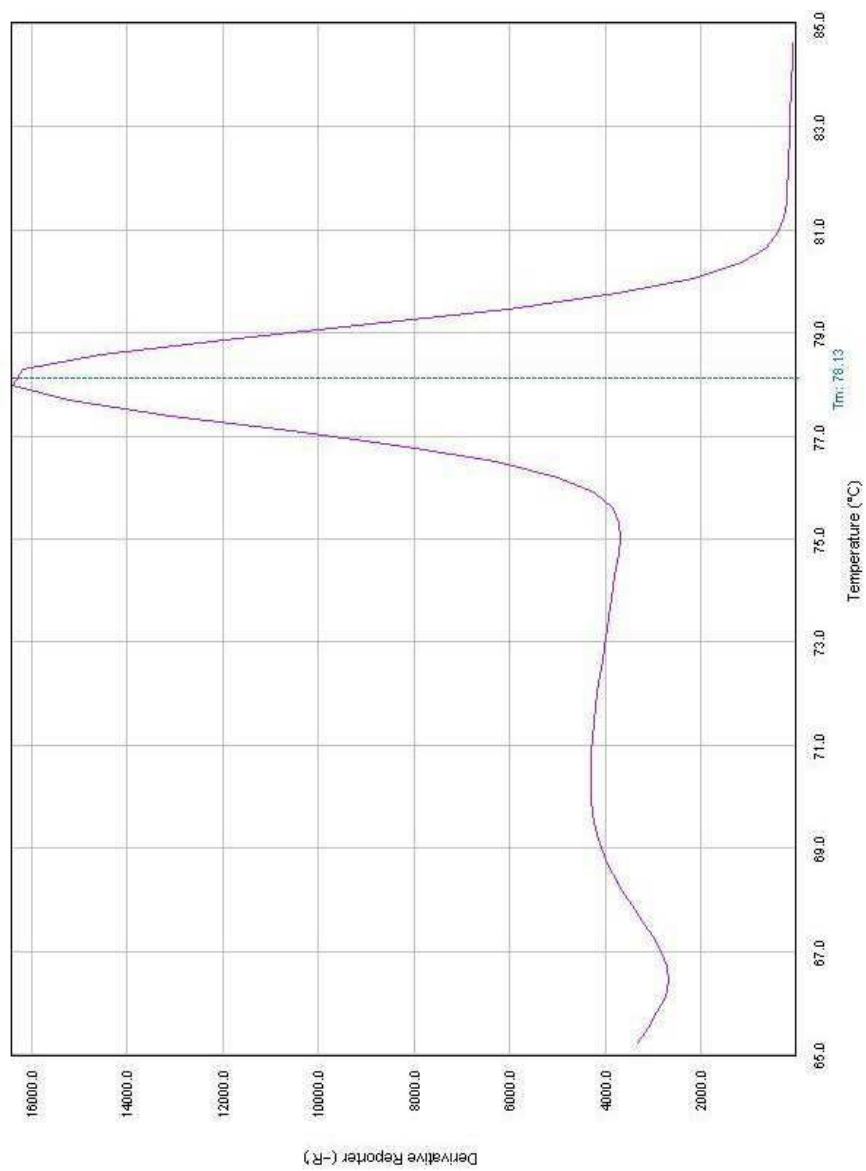
도면19



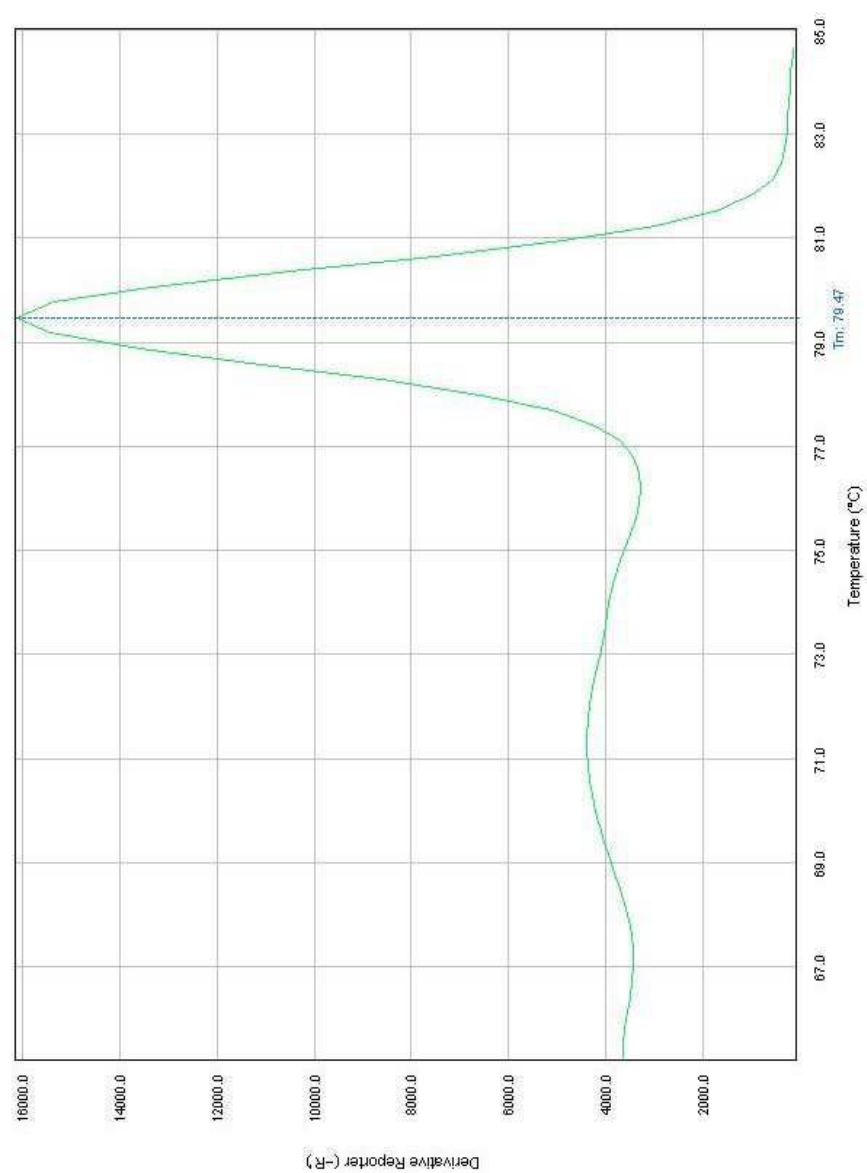
도면20



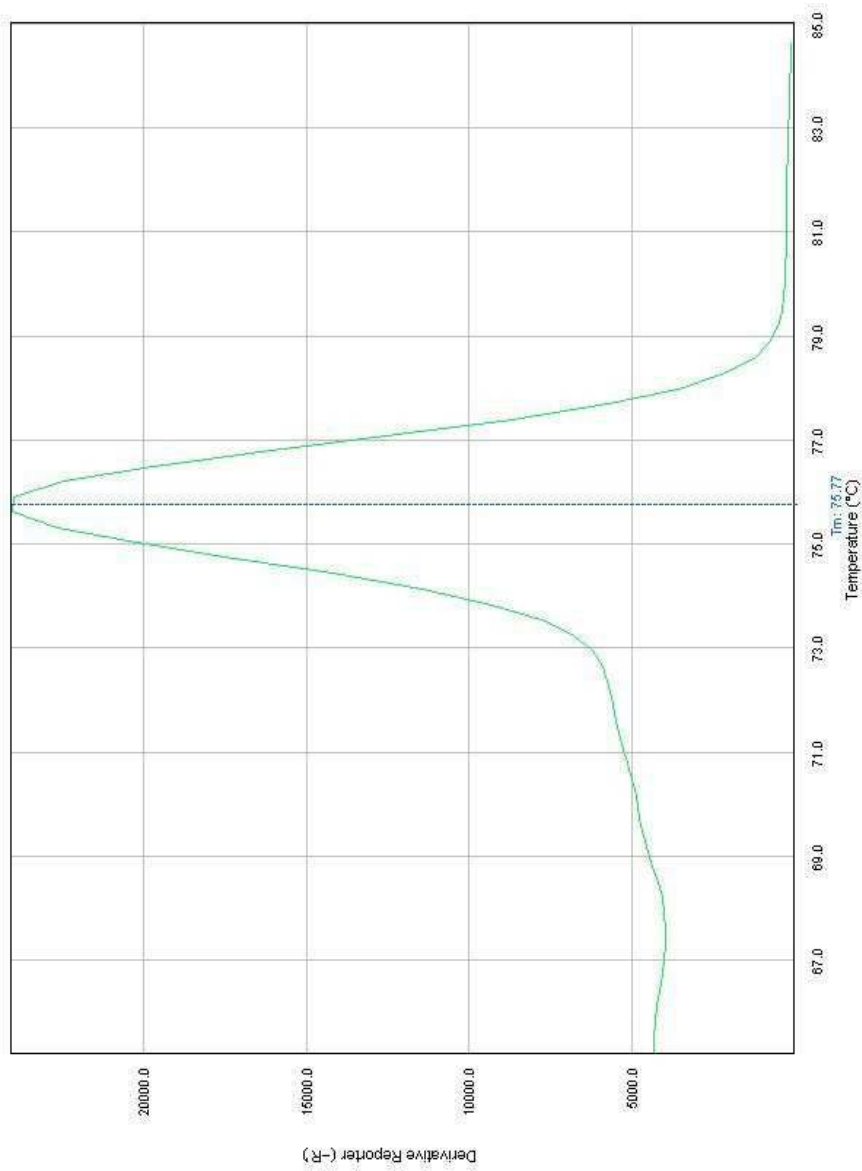
도면21



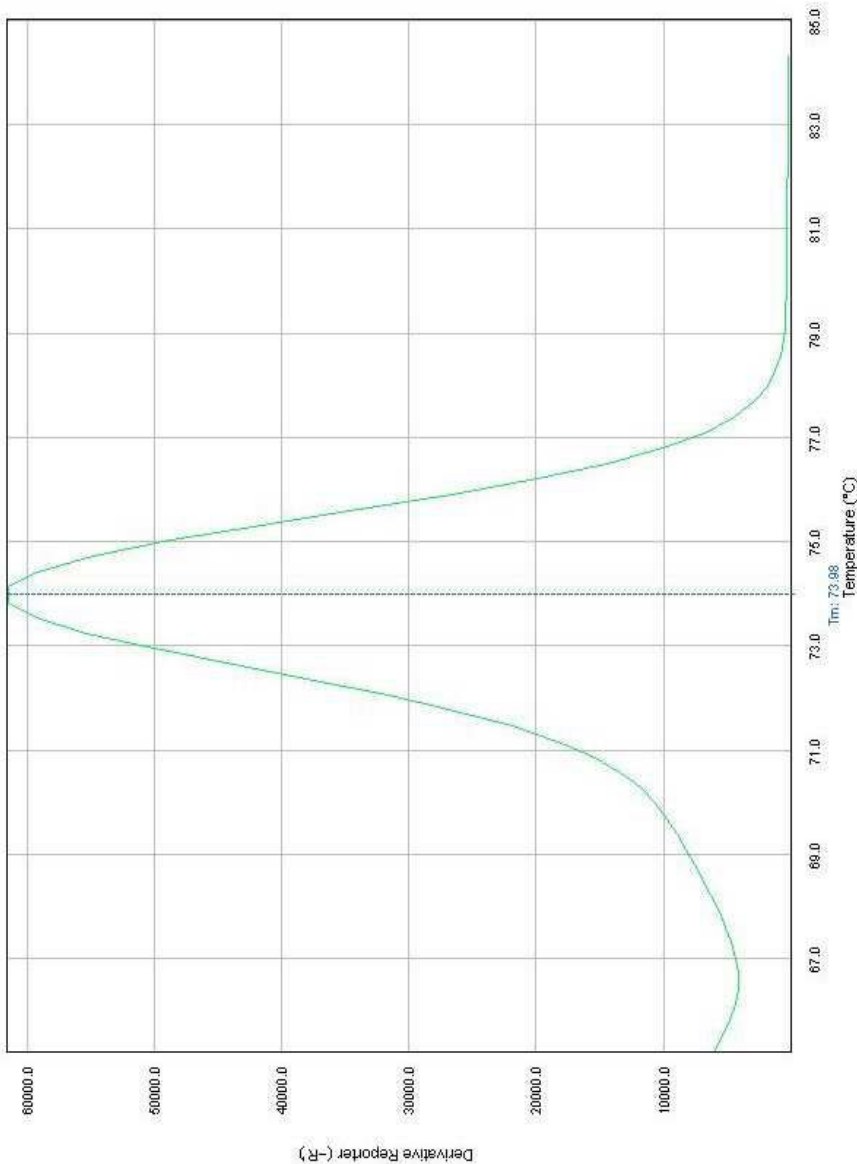
도면22



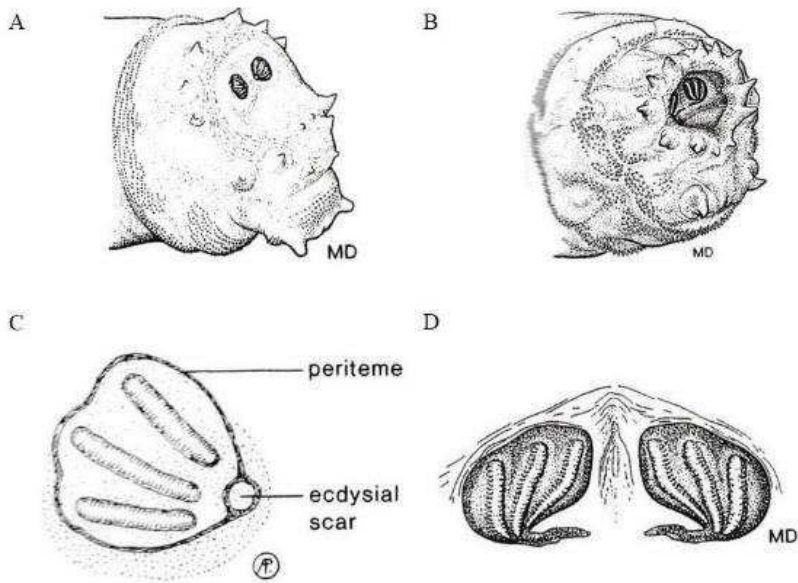
도면23



도면24



도면25



서열 목록

- <110> Korea University Research and Business Foundation
- <120> Methods for identifying species of necrophagous fly using
- <130> PN180307
- <160> 38
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 19
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> primer 1F
- <400> 1

tgacttctac ccctgcac 19

- <210> 2
- <211> 21
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> primer 1R

<400> 2
cagttcatcc tgttcagct c 21

- <210> 3

<211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 2F
 <400> 3
 gtagttgctc attttcatta tgtgc 25
 <210> 4
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 2R
 <400> 4
 ggggtatcagt gtacaaatcc tgct 24
 <210> 5
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 3F
 <400> 5
 ctgtcccaac aggaattaag attttt 26
 <210> 6
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 3R
 <400> 6
 ttgggtacca taaagagttg ct 22
 <210> 7
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 4F
 <400> 7
 atacgatcaa caggtattac cttc 24

<210> 8
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 4R
 <400> 8
 ctctgctgg gtcaaagaat 20

<210> 9
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 5F
 <400> 9
 ctttgatcca gcaggaggag 20

<210> 10
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 5R
 <400> 10
 tgaagtgaaa taagctcgtg tgtct 25

<210> 11
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 6F
 <400> 11
 cgtagatact cgagcttatt tcacc 25

<210> 12
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 6R

<400>	12	
tcttaattcc agttggtaca gca		23
<210>	13	
<211>	26	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer 7F	
<400>	13	
ttctacaatt ggatcaacaa tttctc		26
<210>	14	
<211>	27	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer 7R	
<400>	14	
aacaagactt tctcacacaa taaagaa		27
<210>	15	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer 8F	
<400>	15	
ggaaagaagg aaacatttgg g		21
<210>	16	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer 8R	
<400>	16	
ttgagttccg taaagagttg ct		22
<210>	17	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	

<220><223> primer 9F
 <400> 17
 ggattcgttc attgatatcc tc 22

<210> 18
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 9R
 <400> 18
 atcgtcgtgg tattcctgct 20

<210> 19
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 10F
 <400> 19
 gaaacattcg gttcattagg gatg 24

<210> 20
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 10R
 <400> 20
 gctcgtgtat caacgtctat tcc 23

<210> 21
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 11F
 <400> 21
 ttggaggatt tggaaattga 20

<210> 22
 <211> 21

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 11R
 <400> 22
 gggaaagcta tatcaggtgc c 21
 <210> 23
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 12F
 <400> 23
 atatggcttt ccctcggata aac 23

 <210> 24
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 12R
 <400> 24
 gctcctccat gtgcgatatt 20
 <210> 25
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 13F
 <400> 25
 tttttggagc ttgagcaggt 20
 <210> 26
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 13R
 <400> 26
 ttattcgagg gaatgccatg 20

<210>	27	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer 14F	
<400>	27	
	accggtactt gcaggagcta	20
<210>	28	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer 14R	
<400>	28	
	ctgctgggtc gaaaaaagag	20
<210>	29	
<211>	27	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer 15F	
<400>	29	
	cttttaccac cagcattaac attatta	27
<210>	30	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer 15R	
<400>	30	
	catcctgttc cagctccatt	20
<210>	31	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer 16F	
<400>	31	

caaaatacac caccagctga a	21
<210> 32	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer 16R	
<400> 32	
ttagattaga agttagttag tagcggg	27
<210> 33	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer 17F	
<400> 33	
gagccccaga tatagctttc c	21
<210> 34	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer 17R	
<400> 34	
gaagagattc cagctagatg aag	23
<210> 35	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer 18F	
<400> 35	
tatggccgga ttgttcatt	20
<210> 36	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> primer 18R
 <400> 36
 gctaaaccta agaagtgttg ggga 24
 <210> 37
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 19F
 <400> 37
 tacttcattc ttgatcctg ct 22
 <210> 38
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer 19R
 <400> 38
 ccaaagtgtt cctttttacc tga 23