(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0081154
(43) 공개일자 2010년07월14일

(51) Int. Cl.
C12N 15/10 (2006.01) *C12N 15/29* (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2009-0000450
(22) 출원일자 2009년01월05일
심사청구일자 2009년01월05일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제캠퍼스내
(72) 발명자
인준교
경기도 용인시 수지구 풍덕천2동 현대성우아파트 812동 404
이범수
경기도 군포시 산본동 1156-1 한라아파트 408동 1203호
양덕춘
대전광역시 유성구 전민동 엑스포아파트 404-102
(74) 대리인
김정현

전체 청구항 수 : 총 6 항

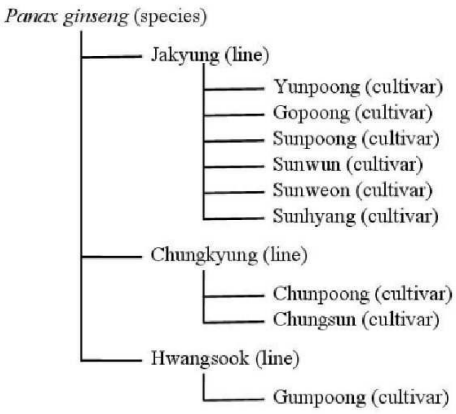
(54) NAD7 인트론4 영역에 특이적인 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머 및 이를 이용한 고려인삼 천풍종 구별방법

(57) 요 약

본 발명은 NAD7 인트론4 영역에 특이적인 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머 및 이를 이용한 고려인삼 천풍종 구별방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 고려인삼 재배종의 미토콘드리아 NAD7 인트론4 영역의 DNA 서열에서 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)을 확인하고, 이들 영역에 특이적으로 결합하는 SNP 프라이머를 제공한다.

본 발명의 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머는 모든 고려인삼 재배종에서 확인되는 특정 앰플리콘을 발현하는 유니버설 프라이머와 함께 PCR에 사용된 후 얻어진 PCR 생성물의 전기영동 결과를 확인하는 간단한 방법으로 고려인삼 천풍종의 구별을 가능하게 한다.

대 표 도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

고려인삼 천풍종 미토콘드리아 NAD7 인트론 4 영역에 특이적으로 결합하는 서열번호 3의 염기서열을 갖는 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머.

청구항 2

고려인삼 천풍종 미토콘드리아 NAD7 인트론 4 영역에 특이적으로 결합하지 않는 서열번호 4의 염기서열을 갖는 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머.

청구항 3

서열번호 1의 nad74F 프라이머, 서열번호 2의 nad75R 프라이머, 및 서열번호 3의 염기서열을 갖는 CPR 프라이머를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머 키트.

청구항 4

서열번호 1의 nad74F 프라이머, 서열번호 2의 nad75R 프라이머, 및 서열번호 4의 염기서열을 갖는 CNF 프라이머를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머.

청구항 5

1) 구별대상 시료로부터 DNA를 추출하는 단계;

2) 상기 1) 단계에서 추출한 DNA를 주형으로 하고, 서열번호 1의 nad74F 프라이머, 서열번호 2의 nad75R 프라이머, 및 서열번호 3의 염기서열을 갖는 CPR 프라이머를 포함하여 이루어지는 PCR 혼합물을 94℃에서 4분 동안 변성시키고(pre-denaturation), 94℃에서 30초 동안 변성, 61℃에서 30초간 어닐링 및 72℃에서 1분간 증폭시키는 사이클을 35회 반복한 다음 72℃에서 7분간 유지(final extension)하여 증폭을 완결시키는 단계;

3) 상기 2) 단계에서 증폭이 완결되어 얻어진 PCR 생성물을 확인하는 단계

를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 고려인삼 천풍종 구별방법.

청구항 6

1) 구별대상 시료로부터 DNA를 추출하는 단계;

2) 상기 1) 단계에서 추출한 DNA를 주형으로 하고, 서열번호 1의 nad74F 프라이머, 서열번호 2의 nad75R 프라이머, 및 서열번호 4의 염기서열을 갖는 CNF 프라이머를 포함하여 이루어지는 PCR 혼합물을 94℃에서 4분 동안 변성시키고(pre-denaturation), 94℃에서 30초 동안 변성, 64℃에서 30초간 어닐링 및 72℃에서 1분간 증폭시키는 사이클을 35회 반복한 다음 72℃에서 7분간 유지(final extension)하여 증폭을 완결시키는 단계;

3) 상기 2) 단계에서 증폭이 완결되어 얻어진 PCR 생성물을 확인하는 단계

를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 고려인삼 천풍종 구별방법.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머 및 이를 이용한 고려인삼 천풍종 구별방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 인삼(*Panax ginseng* C.A.Meyer)은 동양의 주요 약재 중의 하나로서, 피로와 허약함을 개선하기 위한 일차적인 치료제로서 오래도록 사용되어져 왔다. 한국과 중국 동북부에서 자생하는 이 붉은 장과모양의 식물은 일반적으로 고려인삼(Korean ginseng)이라고 불리우며 현재 전세계적으로 재배되고 있다[1].

[0003] 인삼의 약리성분은 1854년 미국산 인삼(*Panax quinquefolium*) 뿌리에서 일종의 사포닌 혼합물인 무정형 물질을 분리하면서 인삼의 유효성분에 대한 과학적 연구가 시작되었고 인삼의 화학적 활성 성분 연구가 본격적으로 시작된 것은 1957년 소련의 Brekhman에 의해 사포닌 배당체(glycoside)가 인삼의 약효 성분임을 강조함으로써 사포닌에 대한 집중적인 연구가 이루어져 1960년대에 이르러 생화학적 분야에서 많은 연구가 활발히 수행되었다. 대부분의 인삼에서는 진세노사이드(ginsenoside), 다당류(polysaccharides), 펩타이드류(peptides), 폴리아세틸렌계 알콜류(polyacetylenic alcohols) 및 지방산류(fatty acids)를 포함하는 다양한 활성성분이 발견된다[2].

[0004] 고려인삼의 약리학적 효능으로는 뇌기능 개선, 통증 감소 효과, 항종양 활성을 비롯한 암예방효과, 면역기능의 향상, 항당뇨효과, 간기능 향상, 혈압의 조절, 항피로와 항스트레스 효과, 갱년기 장애와 성기능의 개선, 항산화를 비롯한 항노화효과 등이 있음이 현대 과학에 의하여 밝혀졌다[3]. 이러한 이유로, 고려인삼(*P. ginseng*)은 전세계적으로 가장 주목받는 식물성 치료제가 되었다.

[0005] 인삼은 이들의 기원(origin)과 경작(cultivation)에 따라 다양한 이름으로 불리운다. Panax 속(genus)은 17 종(species)으로 구성되며, *P. ginseng* C.A.Meyer(Korean ginseng, 고려인삼), *P. notoginseng*(Chinese ginseng, 중국삼), 및 *P. quinquefolium*(American ginseng, 미국삼)의 세 종류가, 이들의 약효가 미리 알려졌기 때문에 널리 재배되어지고 있다.

[0006] 고려인삼은 세 종류의 순계 품종: 자경(Jakyung), 청경(Chungkyung) 및 황숙(Hwangsook)을 포함한다. 현재까지, 순계 선택 방법(pure-line selection method)에 의하여 총 9개 품종이 세 종류의 순계 품종 중에서 선택되었고, 이들은 연풍(Yunpoong), 고풍(Gopoong), 선풍(Sunpoong), 선운(Sunwun), 선원(Sunweon), 선향(Sunhyang), 천풍(Chunpoong), 정선(Chungsun) 및 금풍(Gumpoong)이다[도 1].

[0007] 이들 9개 품종 중에서, 권 등에 의하여 개발된 천풍종은 신품종으로서 우수한 품질과 높은 생산성을 가진다. 천풍종은 밝은 보랏빛을 띠는 녹색 줄기와 오렌지-옐로우 빛의 과실을 가지며, 자경보다 3 내지 7일 늦게 개화한다[4]. 뿌리의 좋은 외관 때문에 천풍종은 "홍삼(red-ginseng, steamed ginseng roots)" 생산에 적합하여 최적의 상업적 생산품을 만들 수 있다. 더욱이, 천풍종의 뿌리 생산성은 자경계(Jakyung line)에서 선택된 다른 품종보다 9% 높다[4]. 따라서, 천풍종은 더 높은 시장가치를 점유할 수 있고 국내 재배면적이 확대되고 있다.

[0008] 상기와 같이 다른 신품종과 비교하여 생장이 우수하고 균일성이 높다고 알려진 천풍은 천삼제조에 가장 적합하여 최근 재배농민들로부터 선호도가 가장 높은 인삼 품종이다. 그러나 순도율이 67%로 낮아 신품종 종자관리 대책이 필요하다는 보고가 제시된 바 있다(Lee et al., 2005).

[0009] 한편, 전통적으로 인삼의 인증은 형태학적 또는 조직학적 조사에 의존해 왔으나, 이러한 접근은 대부분의 인삼 뿌리와 종자가 형태학적으로 극히 유사하여 이들의 차이점을 알아내기에는 거의 불가능하기 때문에 신뢰적이지 않다.

[0010] 또한 천풍종은 형태학적 구별방법에 의해서 등록되어 있고 유전적인 마커가 없기에 외부종자 혼입에 의한 순도율 저하를 막기가 어렵다. 그러므로 천풍종을 판별할 수 있는 유전적인 분자 마커의 개발이 절실히 요구되고 있는 상황이다.

[0011] 현재 인삼 품종 구별을 위해 사용되고 있는 분자생물학적 방법으로서, RAPD(random amplified polymorphic DNA), ISSR(inter-simple sequence repeats)[5, 6], RFLPs(restriction fragment length polymorphism)[7] 및 SSR(simple sequence repeats)[8, 9] 을 포함하는, 고려인삼(*P. ginseng*) 품종간의 유전학적 다형성(polymorphism)을 규명하기 위한 몇 가지 접근이 시도되었다. 그러나 이러한 방법은 재현성과 신뢰성이 부족하

여 단일 품종 확인을 위한 분자마커(molecular marker)를 개발하지는 못하였다[10].

[0012] 즉, 현재 재배되고 있는 인삼 품종들의 구별은 외부 형태적인 특징으로 구별할 뿐 이들을 정확히 구별할 수 있는 분자마커(molecular marker)가 없는 실정이다.

[0013] 따라서 인삼의 품종육종을 위한 기간 단축과 뿌리삼의 유통과정에서 품종을 명확히 구별하기 위한 품종별 분자마커의 개발이 절실히 요구되고 있다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0014] 본 발명은, 인삼의 품종 구별을 위한 분자마커 개발을 위해서 최근 인간의 질병진단 및 신약개발 분야에서 많이 이용되는 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)방법을 이용하였다. SNP는 유전적 변이의 원인으로 알려진 단일염기변이를 의미하는 것으로, 사람의 경우 1,200 내지 1,500bp 의 염기에 하나 비율로 나타나고 있다. 그러나 인삼처럼 혼계종으로 단기간에 순계분리를 통하여 육성된 유사한 품종을 구별할 수 있는 SNP를 찾기는 쉽지 않다.

[0015] 미토콘드리아 NAD7 인트론4 영역의 염기서열을 근거로 하여 천풍종에 특이적이라고 확인된 상기 SNP를 확인하였으며, 이로부터 얻어진 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머로서 변형된 대립유전자-특이 프라이머(modified allele-specific primer)를 제공하는데 그 목적이 있다.

[0016] 또한, 본 발명의 고려인삼 천품종 구별용 SNP 프라이머를 고려인삼 재배종의 NAD7 인트론4 영역을 증폭시키기 위하여 유니버셜 프라이머(universial primer)와 함께 사용하여 멀티플렉스 PCR을 수행한 후 전기영동 결과를 확인하는 간단한 방법으로 천풍종을 구별할 수 있는 방법을 제공하는데 또 다른 목적이 있다.

과제 해결수단

[0017] 상기한 목적을 달성하기 위한 일례로서 본 발명은, 고려인삼 천풍종 미토콘드리아 NAD7 인트론 4 영역에 특이적으로 결합하는 서열번호 3의 염기서열을 갖는 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머를 특징으로 한다.

[0018] 상기한 목적을 달성하기 위한 다른 일례로서 본 발명은, 고려인삼 천풍종 미토콘드리아 NAD7 인트론 4 영역에 특이적으로 결합하지 않는 서열번호 4의 염기서열을 갖는 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머를 특징으로 한다.

[0019] 상기한 목적을 달성하기 위한 다른 일례로서 본 발명은, 서열번호 1의 nad74F 프라이머, 서열번호 2의 nad75R 프라이머, 및 서열번호 3의 염기서열을 갖는 CPR 프라이머를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머 키트를 포함한다.

[0020] 상기한 목적을 달성하기 위한 다른 일례로서 본 발명은, 서열번호 1의 nad74F 프라이며, 서열번호 2의 nad75R 프라이머, 및 서열번호 4의 염기서열을 갖는 CNF 프라이머를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머를 포함한다.

[0021] 상기한 목적을 달성하기 위한 다른 일례로서 본 발명은, 1) 구별대상 시료로부터 DNA를 추출하는 단계; 2) 상기 1) 단계에서 추출한 DNA를 주형으로 하고, 서열번호 1의 nad74F 프라이머, 서열번호 2의 nad75R 프라이머, 및 서열번호 3의 염기서열을 갖는 CPR 프라이머를 포함하여 이루어지는 PCR 혼합물을 94℃에서 4분 동안 변성시키고(pre-denaturation), 94℃에서 30초 동안 변성, 61℃에서 30초간 어닐링 및 72℃에서 1분간 증폭시키는 사이클을 35회 반복한 다음 72℃에서 7분간 유지(final extension)하여 증폭을 완결시키는 단계; 3) 상기 2) 단계에서 증폭이 완결되어 얻어진 PCR 생성물을 확인하는 단계를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 고려인삼 천풍종 구별방법을 포함한다.

[0022] 상기한 목적을 달성하기 위한 다른 일례로서 본 발명은, 1) 구별대상 시료로부터 DNA를 추출하는 단계; 2) 상기 1) 단계에서 추출한 DNA를 주형으로 하고, 서열번호 1의 nad74F 프라이머, 서열번호 2의 nad75R 프라이머, 및 서열번호 4의 염기서열을 갖는 CNF 프라이머를 포함하여 이루어지는 PCR 혼합물을 94℃에서 4분 동안 변성시키고(pre-denaturation), 94℃에서 30초 동안 변성, 64℃에서 30초간 어닐링 및 72℃에서 1분간 증폭시키는 사이

클을 35회 반복한 다음 72℃에서 7분간 유지(final extension)하여 증폭을 완결시키는 단계; 3) 상기 2) 단계에서 증폭이 완결되어 얻어진 PCR 생성물을 확인하는 단계를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 고려인삼 천풍종 구별방법을 포함한다.

[0023] 이하, 본 발명을 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머를 위주로 하여 구체적으로 설명한다.

[0024] 최근, 계통 발생론(phylogency)과 식물 개체군의 유전학적 연구 분야에서 미토콘드리아 유전자의 이용에 대한 관심이 높아져 가고 있다[11, 16-18]. 미토콘드리아 유전자는 크기, 구조적 유기조직(organization), 코딩 역량, 및 유전자 발현에 따라 크게 다르며, 진핵 생물(eukaryotic organisms)의 계(kingdom) 내부 또는 상호간에 있어서도 크게 다르다[19]. 식물 미토콘드리아 유전자의 특징적 양상은 그들의 주목할만하게 느린 진화율이다[20]. 인트론의 염기서열과 유전자 상호간(intergenic) 영역은 작용하는 염기서열 보존의 부족 때문에 매우 가변적이다[21]. 더욱이, 미토콘드리아 DNA의 엑손부위의 염기서열은 매우 잘 보존되어 있고, 가변적인 비 코딩 영역을 증폭시킬 수 있는 공통적으로 사용되는 프라이머의 설계를 촉진한다.

[0025] NADH 디하이드로게나제 복합체 I(NADH dehydrogenase complex I)의 서브유닛7을 코딩하는 NAD7 유전자는, 녹조류와 속씨식물 수 종에 있어 미토콘드리아 유전자를 코딩한다[22]. 개화한 식물에 있어서, 기능성 미토콘드리아 NAD7 유전자는 3 또는 4 그룹 II 인트론을 지닌다[23]. 선행된 연구들은 미토콘드리아 DNA 비 코딩(non-coding) 염기서열(인트론 또는 유전자 상호간의 스페이서(intergenic spacer))은 내부-특이적 다양성 연구를 포함하는 낮은 분류학적 수준의 계통 발생학적 연구를 위하여 사용될 수 있음을 밝혔다[21, 24].

[0026] 본 발명에서는, NAD7 인트론4 영역을 본 발명의 분자적 분석을 위하여 타겟으로 하였고, 이 영역이 천풍종의 인증을 위하여 유용한 것임을 밝혔다

[0027] 본 발명은, 미토콘드리아 NAD7 인트론4 영역에서 검색된 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP) 위치에 근거한, 고려인삼 천풍종을 특이적으로 재현가능하고 간단하게 확인할 수 있는 고려인삼 천품종 구별용 SNP 프라이머와, 고려인삼 재배종의 NAD7 인트론4 영역에서 공통적으로 앰플리콘을 발현시키는 유니버설 프라이머와 본 발명의 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머를 포함하는 키트 및 이들을 사용하여 고려인삼 천품종을 구별하는 방법을 제공한다.

효 과

[0028] 상기한 본 발명에 의하면 인삼으로부터 마커 유전자의 선발 및 염기서열 분석을 통한 SNP 탐색을 통하여 선발된 마커 유전자를 통한 SNP 프라이머를 제작하고 이를 통하여 국내에서 재배되는 작물들의 유전자원에 대한 재산권을 확보할 수 있을 것이다.

[0029] 국내에서 확보된 선발마커유전자를 활용하여 외국산과 구별할 수 있는 시스템을 개발하여 국내 농가의 권익을 보호하는데 활용할 수 있을 것이다.

[0030] 개발된 SNP 프라이머를 이용하여 간편하고 신속한 분석법을 개발하고 이를 제품화 하여 일반에 공급함으로써 그 활용성을 높일 수 있을 것이다.

[0031] SNP 프라이머 및 이의 적용기술이 개발되면 외국에서 밀려오는 모든 농산물을 값싸고 쉽게 구별이 가능하여 자국의 농업을 보호할 수 있을 것이다.

[0032] 특히 인삼 신품종 천풍종의 마커가 확인되었으며 이중맹검법에 의하여 완벽하게 시험되었기 때문에 바로 농가에 적용함으로써 일반 자경종이 천풍으로 둔갑하여 고가로 판매되는 것을 막을 수 있어 유통질서체계를 순기능적으로 확립할 수 있으며, 현재 중국 등으로 유출되어 대량으로 재배되고 있는 천풍이 국내에 무단으로 반입될 경우 사전 방지가 가능할 것이다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0033] 이하, 본 발명을 실시예에 의거하여 구체적으로 설명하겠는바, 다음 실시예에 의하여 본 발명이 한정되는 것은 아니다. 또한, 본 발명의 실시예는 정상적으로 생육하는 인삼의 여러 조직을 시료로 PCR을 수행하여 부위별 DNA가 개체 내에서 동일함을 확인한 후 수행하였으며, 인삼의 뿌리나 잎에서 얻어지는 DNA 결과는 동일 개체 내에

서는 동일하게 나타남을 근거한다. 또한, 본 발명의 실시예는 모두 이중맹검법이 적용되었다.

[0034] **실시예 1. 재료 및 방법**

[0035] **[재료]**

[0036] 널리 재배되는 서로 다른 9 품종의 시료를 한국의 대전 지역에서 수집하였다. 수집된 품종은 연풍(Yunpoong), 고풍(Gopoong), 선풍(Sunpoong), 선운(Sunwun), 선원(Sunweon), 선향(Sunhyang), 천풍(Chunpoong), 정선(Chungsun) 및 금풍(Gumpoong) 이었다. 모든 시료는 고려 인삼 센터(Korean Ginseng Center)의 인삼 분류학자에 의하여 형태학적으로 검증된 것을 사용하였다.

[0037] **[DNA 추출과 PCR 증폭]**

[0038] 식물의 잎은 액체 질소에 넣어 동결시키고 막사사발로 마쇄하였다. 식물 DNA 추출 키트(InvisorbSpin Plant Mini, Invitek)를 사용하여 genomic DNA를 분리 및 정제하였다. NAD7 인트론4 영역의 증폭을 위하여 사용된 프라이머 쌍은 다음과 같다.

[0039] [서열번호 1] nad74F, forward, universial primer

[0040] 5'-TGTCCTCCATCACGATVTCG-3'

[0041] [서열번호 2] nad75R, reverse, universial primer

[0042] 5'-CCAAATTCTCCTTTAGGTGC-3' [11].

[0043] PCR 증폭은 총량 20 ㎕ 으로 수행되며, 반응 믹스는 각각의 프라이머 0.5 μM, 주형(template) DNA 50 ng 및 2X PCR 프리믹스(Genotech, South Korea) 10 ㎕으로 구성되었다. PCR 기구로는 Palm-Cycler(Corbett Robptics Inc.)가 사용되었다. 증폭은 94℃에서 4분 동안 미리 변성시키고(pre-denaturation), 94℃에서 30초 동안 변성, 58℃에서 30초 동안 어닐링 및 72℃에서 1분 동안 증폭시키는 증폭사이클을 35회 반복, 마지막으로 72℃에서 10분간 유지(final extension)하여 완결시켰다. PCR 생성물은 1.0% 아가로스 겔 상에서 전기영동하고, Et-Br(ethidium bromide) 염색하여 UV(DNR MiniBIS Pro Bio-Imagining System, Israel)하에서 관찰하였다.

[0044] **[클로닝 및 시퀀싱(Cloning and sequencing)]**

[0045] 9종류의 인삼 품종의 PCR 생성물은 PCR DNA 정제 키트(GeneAll, South Korea)에 의하여 정제하였고, pGEM-T 이지 벡터(pGEM-T Easy vector, Promega, USA)에 결착시킨 후 항체반응성이 있는 *E. coli* XL1-Blue 세포로 형질전환시켰다. 0.1 M의 IPTG와 2% X-gal을 형질전환체의 선별을 위해 LB 플레이트에 첨가하였다. 백색 클론을 꺼내어 LB 액상 배지에서 37℃에서 밤새 교반하면서 배양하였다. 플라스미드 DNA를 플라스미드 DNA 퀵-프렙 키트(plasmid DNA quick-prep kit, GeneAll, South Korea)를 사용하여 분리하고 전문기관에 의뢰하여 염기서열을 분석하였다(Genotech, Daejeon, South Korea).

[0046] **[DNA 염기서열 분석(DNA Sequence Analysis)]**

[0047] 염기서열 분석에 의하여 얻어진 9종류 인삼 품종의 DNA 염기서열은 SeqMan 염기서열 분석 소프트웨어를 사용하여 분석하였고, 염기서열은 BioEdit 프로그램을 사용하여 편집하였다[12].

[0048] 다중 염기서열 정렬(multiple sequence alignment)은 온라인 프로그램에 의하여 수행하였다(ClustalW2 program, http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/).

[0049] **실시예 2. 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머의 설계**

[0050] 다음 표 1에 나타낸 바와 같이 상기 실시예 1의 결과에 의해 검색된 염기의 변이 위치에 근거하여, 증가된 특이성과 대립유전자 간의 신뢰성 있는 식별력을 가지는 대립유전자-특이적 프라이머를 설계하기 위하여 변형된 방법이 적용되었다[13-15]. 두개의 특이 프라이머인 CPR 과 CNF는 천풍종에 특이적인 포지티브 프라이머와 네거티브 프라이머로 설계되었다(도 2).

[0051] 다음 표 2에서 진하게 표시하고 밑줄 그은 염기와, 인접한 3 ' 말단 방향의 염기(SNP site)에서, CPR 프라이머

에서는 T를 C로 치환하고, CNF 프라이머에서는 C를 G로 치환하여 고의적으로 불안정하게 함으로써 절대적인 특이성을 확실하게 하였다[서열번호 3 및 4].

[0052] [서열번호 3] CPR, reverse

[0053] 5'-GAAGGACAAGAAAGATATTA**C**G-3'

[0054] [서열번호 4] CNF, forward

[0055] 5'-GGAAGCGGGAGCAAGAAAAC**G**A-3'

[0056] [표 1] 고려인삼 재배종(*P. ginseng* cultivars[a])의 NAD7 인트론 4 염기서열

[0057]

Cultivars	Specimen voucher	Sequences of NAD7 intron4 region	Accession No.
Chunpoong	GBD001	AAGAAAACC**C**ATAATATCTTT	FJ467501
Yunpoong	GBD002	AAGAAAACC**A**ATAATATCTTT	FJ467494
Gopoong	GBD003	AAGAAAACC**A**ATAATATCTTT	FJ467495
Sunpoong	GBD004	AAGAAAACC**A**ATAATATCTTT	FJ467496
Sunwun	GBD048	AAGAAAACC**A**ATAATATCTTT	FJ467497
Sunweon	GBD043	AAGAAAACC**A**ATAATATCTTT	FJ467498
Sunhyang	GBD058	AAGAAAACC**A**ATAATATCTTT	FJ467499
Gumpoong	GBD005	AAGAAAACC**A**ATAATATCTTT	FJ467500
Chungsun	GBD073	AAGAAAACC**A**ATAATATCTTT	FJ467502

[a] Bold and underlined letters are SNP sites detected in this study.
Chunpoong[서열번호 5, 도 6], Yunpoong[서열번호 6, 도 7],
Gopoong[서열번호 7, 도 8], Sunpoong[서열번호 8, 도 9],
Sunwun[서열번호 9, 도 10], Sunweon[서열번호 10, 도 11],
Sunhyang[서열번호 11, 도 12], Gumpoong[서열번호 12, 도 13],
Chungsun[서열번호 13, 도 14]

[0058] [표 2] 본 발명에서 사용된 프라이머의 염기서열 [a]

[0059]

프라이머	염기서열(5' - 3')	인용문헌	도 2에서의 위치
*nad7*4F	TGTCCTCCATCACGATVTCG	11	Not shown
*nad7*5R	CCAAATTCTCCTTTAGGTGC	11	Not shown
CNF	GGAAGCGGGAGCAAGAAAAC**G**A (C→G)	본 발명	14071428
CPR	GAAGGACAAGAAAGATATTA**C**G (T→C)	본 발명	14491428

[a] Bold and underlined letters are mismatches introduced deliberately via the substitutions of G for C and C for T.

[0060] **실시예 3. 멀티플렉스 PCR(multiplex PCR)**

[0061] 천풍종의 분자적 인증은 두 가지의 멀티플렉스 PCR 증폭에 의하여 수행되었다. 각각의 반응을 위하여, 세 가지의 프라이머가 사용되었다. 유니버셜 프라이머 nad74F와 nad75R은 각각의 반응 모두에 사용되었고, 대조군 PCR 생성물을 제공하는 역할을 수행하였다. 두 개의 특이 프라이머인 CPR 프라이머와 CNF 프라이머는 각각의 다른 멀티플렉스 PCR 증폭에 각가 사용되었다(도 3).

[0062] CPR 프라이머를 사용한 멀티플렉스 PCR 는 94℃에서 4분 동안 변성시키고(pre-denaturation), 94℃에서 30초, 61℃에서 30초 및 72℃에서 1분간 수행되는 증폭사이클을 35회 반복, 마지막으로 72℃에서 7분간 유지(final extension)하여 완결시켰다. 반응 혼합물은 프라이머의 농도를 제외하고는 상기와 같으며, 공통적으로 사용되는 nad74F 및 nad75R 프라이머는 0.5 μM 사용하고, 천풍종 특이 프라이머인 CPR 프라이머는 0.1 μM 사용하였다. CNF 프라이머를 사용하는 다른 멀티플렉스 PCR 은 어닐링 온도를 64℃로 하고, CNF 프라이머의 농도를 0.2 μM

로 하는 것을 제외하면 상기한 바와 동일한 조건에서 수행되었다.

[0063] **실시예 4. 전기영동**

[0064] 전기영동장치를 이용하여 전기영동을 하는 경우 완충용액는 50배 TAE 버퍼(242 g Tris base, 57.1 ml glacial acetic acid, 100 ml 0.5 M EDTA (pH 8.0))를 0.5배액으로 희석하여 사용하였다. 이때 전기영동에 사용되는 아가로즈 겔 1%(w/v)을 사용하며, 전기영동 결과를 확인할 수 있는 염색시약으로 Et-Br(Etidium Bromide)를 0.5 ug/ml 넣어 만들어 사용한다. PCR 생성물을 전기영동할 경우 겔 로딩 버퍼(0.25% bromophenol blue, 0.25% xylene cyanol FF, 40%(w/v) sucrose in water)와 혼합하여 실시한다.

[0065] 전기영동에 의하여 얻어진 결과는 도 4 및 도 5에 각각 나타내었다. 이를 구체적으로 살펴보면, NAD7 인트론4 영역에 걸친 PCR 생성물은 1,932bp 임이 확인되었다. 즉, 천풍종에 특이적으로 검색된 단일염기다형성(SNP) 부위를 제외하고, 서로 다른 인삼 재배종 간의 염기서열의 상동성이 매우 높음을 보여준다. 천풍종은 1,428 bp 부위에서 뉴클레오티드 C를 포함하지만, 그 외 다른 재배종들은 동일 부위에 뉴클레오티드 A를 포함한다[표 1 및 도 2]. 상기 SNP 부위에 근거하여, 두 개의 특이 프라이머 쌍, CNF 프라이머와 CPR 프라이머를 다른 인삼 재배종과 천풍종을 구별하기 위한 프라이머로 설계되었다.

[0066] 불일치되는 3 ‘ 말단 잔기를 가지는 올리고뉴클레오티드는 적절한 상태의 PCR에서 프라이머로 작용하지 못하며[13], SNP는, 그 부위와 상응하는 프라이머의 3 ‘ 말단 뉴클레오티드가 이처럼 설계된 대립유전자-특이적 프라이머를 사용한 경우 검색될 수 있다. 따라서, 대립유전자-특이적 프라이머는 특이적인 대립유전자와 완벽하게 일치하고, 비특이적인 대립유전자와는 3’ 말단이 불일치하게 된다[15]. 3’ 말단의 하나의 염기가 불일치하는 경우, 상대적으로 높은 어닐링 온도에도 불구하고 완벽한 특이성을 보증할 수 없다. 이러한 문제점을 극복하기 위하여, 추가적인 불일치가 특이적 프라이머 3’ 말단의 두 번째 염기의 치환에 의하여 유도된다. 특이적 프라이머를 사용하면, 멀티플렉스 PCR에 의해 천풍종과 다른 재배종을 구별할 수 있다.

[0067] 본 발명에서는 두 종류의 특이적 프라이머가 각각 서로 다른 멀티플렉스 PCR 증폭에서 사용되었다.

[0068] 예측되는 품종-특이적 앰플리콘의 상대적인 위치(position)와 크기는 도 4와 5에 나타내었다. 모든 인삼 품종들은 유니버설 프라이머와 함께 1,932bp의 앰플리콘을 생성하였다. 반면, 천풍종은 CPR 프라이머와 함께 1,449bp의 특이 밴드를 생성하였다.

[0069] CNF 프라이머를 함유한 다른 반응에서, 천풍종을 제외한 모든 품종은 526bp의 특이 밴드를 생성하였다. 여분의 불일치의 추가는, 3 ‘ 말단의 자연적인 불일치의 제공과 결합하여, 비 특이적 대립유전자의 PCR 생성물의 생성을 극적으로 감소시키는 반면, 특이적 대립유전자의 증폭에는 상대적으로 미소한 영향을 미칠 뿐이다[14]. 따라서, 특이유전자는 다른 고려인삼(*P. ginseng*) 과 천풍종을 특이적으로 구별할 수 있도록 할 수 있다는 것을 확인할 수 있다.

[0070] 본 발명에 의하여 제시된 고려인삼 천풍종 구별용 SNP 프라이머는, 제한효소에 의한 절단(digestion)이나, PCR 생성물의 염기서열의 분석이 필요하지 않으며, 대립유전자-특이적 PCR은 SNP 유전자형을 위한 가치있는 분자마커이다. SNP 검색에 기초하여, 멀티플렉스 PCR은 변형된 대립유전자-특이적 프라이머에 적용되었다. 결과는 표준 아가로스 겔 상의 전기영동에 의하여 쉽게 탐독될 수 있다.

[0071] 따라서, 본 발명은 시간을 절약할 수 있으며, 효과적으로 고려인삼의 다른 품종과 천풍종을 구별할 수 있는 방법을 제공할 수 있다. 또한, 본 발명에서 제시한 SNP 마커는 고려인삼의 선택 및 육종과 관련된 분야의 발전을 촉진시킬 수 있을 것이다.

[0072] **[인용 문헌]**

[0073] (1) Helms, S. Cancer prevention and therapeutics: Panax ginseng. Altern. Med. Rev. 2004, 9 (3), 259-274.

[0074] (2) Lee, F. C. Facts about Ginseng: The Elixir of Life. Hollym International Corp: 1992.

[0075] (3) Choi, K. T. Botanical characteristics, pharmacological effects and medicinal components of Korean Panax ginseng C A Meyer. Acta Pharmacol Sin. 2008, 29 (9), 1109-1118.

[0076] (4) Kwon, W. S.; Chung, C. M.; Kim, Y. T.; Lee, M. G.; Choi, K. T. Breeding Process and Characteristics of KG101, a Superior Line of Panax ginseng C. A. Meyer. Korean J. Ginseng Sci. 1998, 22, 11-17.

[0077] (5) In, D. S.; Kim, Y. C.; Bang, K. H.; Chung, J. W.; Kim, O. T.; Hyun, D. Y.; Cha, S. W.; Kim, T. S.; Seong, N. S. Genetic Relationships of Panax Species by RAPD and ISSR Analyses. Korean J. Medicinal Crop Sci. 2005, 13, 249-253.

[0078] (6) Bang, K. H. Molecular Authentication and Genetic Polymorphism of Korean Ginseng (Panax ginseng C. A. Meyer) by Inter-Simple Sequence Repeats (ISSRs) Markers. J. Life Sci. 2004, 14 (3), 425-428.

[0079] (7) Kim, O.; Bang, K.; In, D.; Lee, J.; Kim, Y.; Shin, Y.; Hyun, D.; Lee, S.; Cha, S.; Seong, N. Molecular authentication of ginseng cultivars by comparison of internal transcribed spacer and 5.8S rDNA sequences. Plant Biotechnol. Rep. 2007, 1 (3), 163-167.

[0080] (8) Ma, K. H.; Dixit, A.; Kim, Y. C.; Lee, D. Y.; Kim, T. S.; Cho, E. G.; Park, Y. J. Development and characterization of new microsatellite markers for ginseng (Panax ginseng C. A. Meyer). Conserv. Genet. 2007, 8 (6), 1507-1509.

[0081] (9) Kim, J.; Jo, B. H.; Lee, K. L.; Yoon, E. S.; Ryu, G. H.; Chung, K. W. Identification of new microsatellite markers in Panax ginseng. Mol. Cells. 2007, 24 (1), 60-68.

[0082] (10) Hayashi, K.; Hashimoto, N.; Daigen, M.; Ashikawa, I. Development of PCR-based SNP markers for rice blast resistance genes at the Piz locus. Theo. Appl. Genet. 2004, 108 (7), 1212-1220.

[0083] (11) Duminil, J.; Pemonge, M. H.; Petit, R. J. A set of 35 consensus primer pairs amplifying genes and introns of plant mitochondrial DNA. Mol. Ecol. Notes. 2002, 2 (4), 428-430.

[0084] (12) Hall, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symp. Ser. 1999, 41,95-98.

[0085] (13) Newton, C. R.; Graham, A.; Heptinstall, L. E.; Powell, S. J.; Summers, C.; Kalsheker, N.; Smith, J. C.; Markham, A. F. Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). Nucleic Acids Res. 1989, 17 (7), 2503-2516.

[0086] (14) Kwok, S.; Chang, S. Y.; Sninsky, J. J.; Wang, A. A guide to the design and use of mismatched and degenerate primers. Genome Res. 1994, 3 (4), S39-S47.

[0087] (15) Drenkard, E.; Richter, B. G.; Rozen, S.; Stutius, L. M.; Angell, N. A.; Mindrinos, M.; Cho, R. J.; Oefner, P. J.; Davis, R. W.; Ausubel, F. M. A simple procedure for the analysis of single nucleotide polymorphisms facilitates map-based cloning in Arabidopsis. Plant Physiol. 2000, 124 (4), 1483-1492.

[0088] (16) Jeandroz, S.; Bastien, D.; Chandelier, A.; Du Jardin, P.; Favre, J. M. A set of primers for amplification of mitochondrial DNA in Picea abies and other conifer species. Mol. Ecol. Notes. 2002, 2 (4), 389-392.

[0089] (17) Uwai, S.; Yotsukura, N.; Serisawa, Y.; Muraoka, D.; Hiraoka, M.; Kogame, K. Intraspecific Genetic Diversity of Undaria pinnatifida in Japan, based on the Mitochondrial cox3 Gene and the ITS1 of nrDNA. Hydrobiologia. 2006, 553, 345-356.

[0090] (18) Uwai, S.; Arai, S.; Morita, T.; Kawai, H. Genetic distinctness and phylogenetic relationships among Undaria species (Laminariales, Phaeophyceae) based on mitochondrial cox3 gene sequences. Phycol. Res. 2007, 55 (4), 263-271.

[0091] (19) Kudla, J.; Albertazzi, F. J.; Blazevic, D.; Hermann, M.; Bock, R. Loss of the mitochondrial cox2 intron 1 in a family of monocotyledonous plants and utilization of mitochondrial intron sequences for the construction of a nuclear intron. Mol. Genet. Genomics. 2002, 267 (2), 223-230.

[0092] (20) Wolfe, K. H.; Li, W. H.; Sharp, P. M. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant

Mitochondrial, Chloroplast, and Nuclear DNAs. Proc. Natl. Acad. Sci. 1987, 84 (24), 9054-9058.

[0093] (21) Hu, D. C.; Luo, Z. R. Polymorphisms of amplified mitochondrial DNA non-coding regions in Diospyros spp. Sci. Hortic. 2006, 109 (3), 275-281.

[0094] (22) Hashimoto, K.; Sato, N. Characterization of the mitochondrial nad7 gene in Physcomitrella patens: Similarity with angiosperm nad7 genes. Plant Sci. 2001, 160 (5), 807-815.

[0095] (23) Bonen, L.; Williams, K.; Bird, S.; Wood, C. The NADH dehydrogenase subunit 7 gene is interrupted by four group II introns in the wheat mitochondrial genome. Mol. Gen. Genet. 1994, 244 (1), 81-89.

[0096] (24) Deng, K. J.; Yang, Z. J.; Liu, C.; Zhao, W.; Feng, J.; Ren, Z. L. Identification and phylogenetic application of unique nucleotide sequence of nad7 intron2 in Rhodiola (Crassulaceae) species. Yi Chuan. 2007, 29 (3), 371-375.

도면의 간단한 설명

[0097] 도 1은 한국에서 재배되는 고려인삼(*P.ginseng*)의 계통과 품종의 근연관계를 나타낸 것이다.

[0098] 도 2는 NAD7 인트론4 염기서열 중 인삼 품종 간에 차이가 있는 부분(박스 부부분)을 비교하여 나타낸 것으로, CPR은 천풍 특이적인 프라이머를 나타내고, CNF는 천풍 외의 다른 품종에 특이적인 프라이머를 나타낸다.

[0099] 도 3은 본 발명에서 사용된 프라이머 세트의 위치(position)을 나타낸 모식도이며, nad74F와 nad75R은 nad7인트로4영역에 대한 유니버설 프라이머(universal primer)이고, CNF와 CPR은 본 발명의 고려인삼 천풍종 구별용 프라이머를 나타낸다.

[0100] 도 4는 nad74F, nad75R 및 CPR을 사용한 멀티플렉스(multiplex) PCR 생성물의 전기영동 결과를 나타낸 것이다.

[0101] 도 5는 nad74F, nad75R 및 CNF을 사용한 멀티플렉스 PCR 생성물의 전기영동 결과를 나타낸 것이다.

[0102] 도 6은 천풍종(Chunpoong)의 NAD7 인트론4 염기서열을 나타낸 것이다.

[0103] 도 7은 연풍종(Yunpoong)의 NAD7 인트론4 염기서열을 나타낸 것이다.

[0104] 도 8은 고풍종(Gopoong)의 NAD7 인트론4 염기서열을 나타낸 것이다.

[0105] 도 9는 선풍종(Sunpoong)의 NAD7 인트론4 염기서열을 나타낸 것이다.

[0106] 도 10은 선운종(Sunwun)의 NAD7 인트론4 염기서열을 나타낸 것이다.

[0107] 도 11은 선원종(Sunweon)의 NAD7 인트론4 염기서열을 나타낸 것이다.

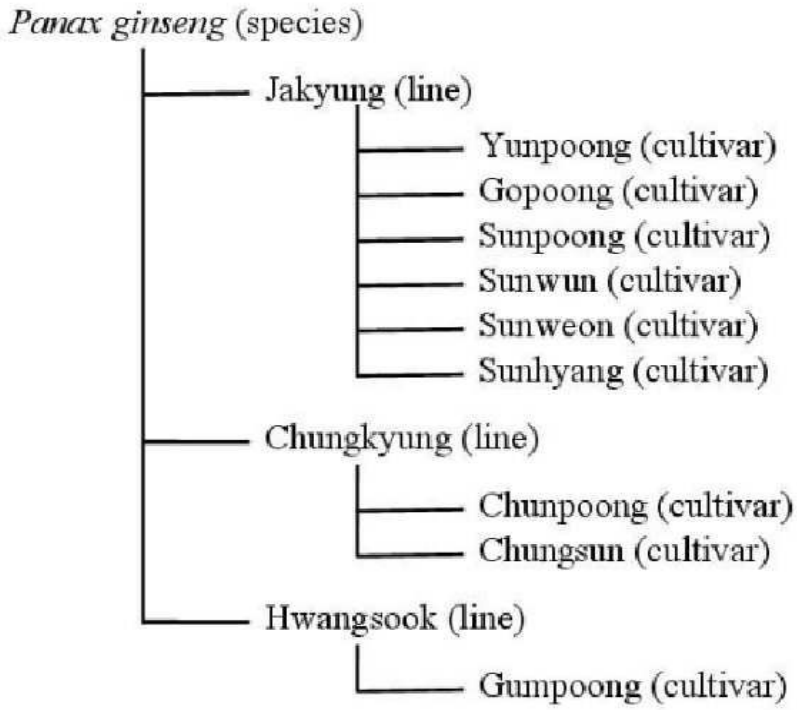
[0108] 도 12는 선향종(Sunhyang)의 NAD7 인트론4 염기서열을 나타낸 것이다.

[0109] 도 13은 금풍종(Gumpoong)의 NAD7 인트론4 염기서열을 나타낸 것이다.

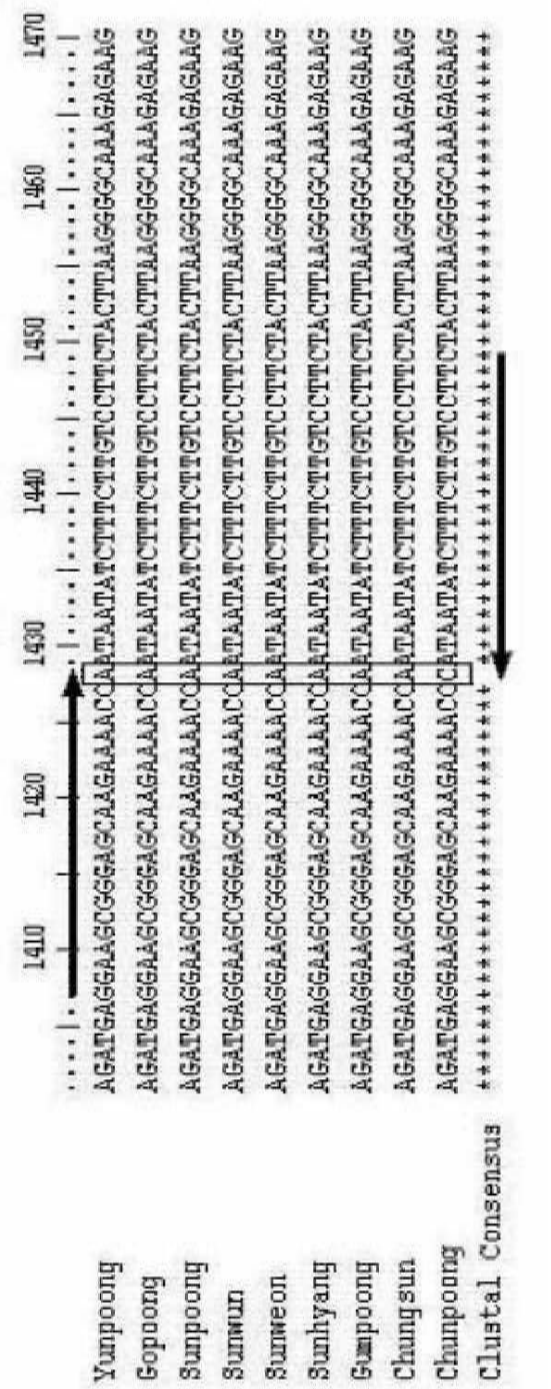
[0110] 도 14는 정선종(Chungsun)의 NAD7 인트론4 염기서열을 나타낸 것이다.

도면

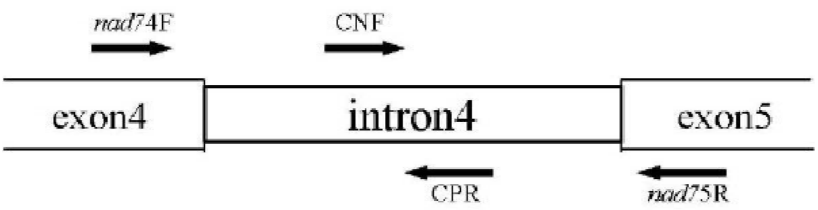
도면1


Panax ginseng (species)
Jakyung (line)
Yunpoong (cultivar)
Gopoong (cultivar)
Sunpoong (cultivar)
Sunwun (cultivar)
Sunweon (cultivar)
Sunhyang (cultivar)
Chungkyung (line)
Chunpoong (cultivar)
Chungsun (cultivar)
Hwangsook (line)
Gumpoong (cultivar)

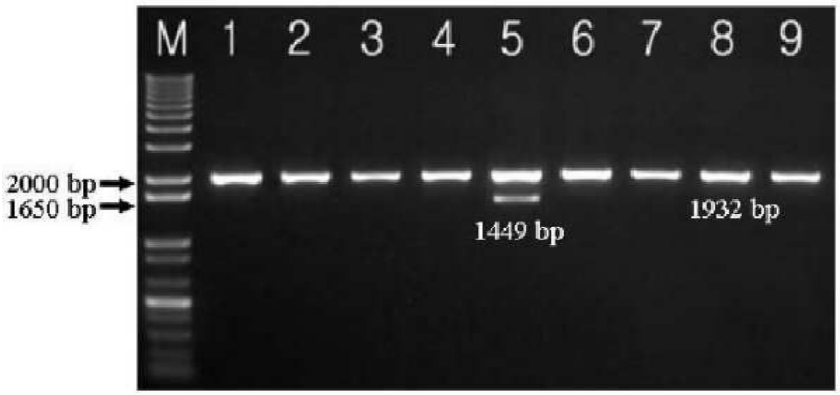
도면2


1410
1420
1430
1440
1450
1460
1470
Yunpoong
Gopoong
Sunpoong
Sunwun
Sunweon
Sunhyang
Gumpoong
Chungsun
Chunpoong
Clustal Consensus

도면3

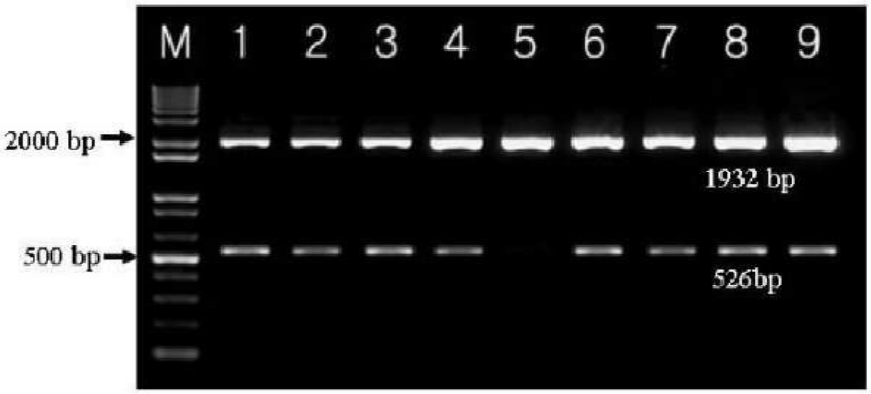

nad74F
CNF
exon4
intron4
exon5
CPR
nad75R

도면4



Lane M : 1000bp DNA ladder
Lane 1 : Yunpoong
Lane 2 : Gopoong
Lane 3 : Sunpoong
Lane 4 : Gumpoong
Lane 5 : Chunpoong
Lane 6 : Sunwun
Lane 7 : Sunweon
Lane 8 : Sunhyang
Lane 9 : Chungsun

도면5



Lane M : 1000bp DNA ladder
Lane 1 : Yunpoong
Lane 2 : Gopoong
Lane 3 : Sunpoong
Lane 4 : Gumpoong
Lane 5 : Chunpoong
Lane 6 : Sunwun
Lane 7 : Sunweon
Lane 8 : Sunhyang
Lane 9 : Chungsun

도면6


TGTCCTCCATCACGATATCGAATGAAACTATCCATGGAATCGTGCGCCGTGT
GAAACGTAGATCATCGCCGTTCTTAACCGAGACTCAGGTTAAGCTCCGTCT
CGGAACCTTGTGGGGTTAGGAGTAAAGCATCCCGAGGTTGGCGCATCTCGT
TGAGCGTGGAGAAGCATTGGGAACCCCAATTTCTTTCTTCGGAGCCGTTTC
TTTTCCCGTCCCCCCGCCCCGGCATAGCGCTTCGCTTCCGGTTCTTCGGAAG
AATCAACTTACTTCTACCTTCTTCATTGATCTGGGGGAAAAGGAACCGTCTA
CCAGTTGGGAAGCTAGACATCAAGTAAGTGGCTTGATGAGGATAACTAAGC
GGACACGCCGGAGTTGGCTGCTGGCACAACAGGGTGGTGCCTTACCGCAC
CGCAGGCGGACGCGCGGTAGCGTTCGTGGTGGTGCTTCAGGATTCCAATGT
ACTGCGTCCAAGATCAGAACGAGCTTGCCGGCGGACCACTGCCGTCCCAT
TCTTGAGTGAGCTGGAGCGCAGCCATCTTATCCACTGAACTAGCTAGAAGC
TATCGCTTCGGGTCGAAGCACTAAAAGAAAAGGACCGGGAAAGGCGGCG
GCATAGGAACCACGGGACCCCCTACTAGTAAAGGGAAAACGGAAGTGCGC
TCCTGCGCACCAGCTGAAAAAGCCCTTTCCCCTTTCTCTAATAACGAATAA
GGTAAGCTTCATAGCTCCAACCTATACAAGGGGCTTTGATGCCCTTTGTATA
GCTTGGGTTGCTGGATACGGGATCCTCGTAGTAGGCTGGACCAACATCCAG
CCGAGAGAGGGCAGTCTTTAGAAGCAACAGGTTGGGAAACCAAGAGAAC
GCCTCGCGTTTTCTTATCTTCTTCCCGCCCCAGGAGTAGCACAAAAAGAGG
GATTAGCATTATGGACCCAATGATAAACCACTAAAACCTTACTCGTTGGGGC
TCCGCGCACTGGGAAAACGCTCTAGCGACGGGAAACCGGTCACTAGTTAC
AAAGCTCCAATAAGGTAAGGTATCGAGAGGGCTATCACAGTCAGGTGCGA
AGCAATTAGCTCTATTTGGAAAGTACCCCTCTTCCTATTTAGGGAGTTGAGG
CGACCAATTTCTTGATGAACCGTTCCGTTCGCCACGCACCGGACCCATTCA
CTTGCTTATCGTAGAGGCTGTAAGTACACAGTGCCCCACAACTTTGAATAGT
ATAGTGGGGTTGAAAGACAAGAGTGCCCGCCCCTAAAGTAGGCTACTTTTT
CCGGAACGCAGTCCGAGATAACCGTAACCGTGTATATATAGAAATAGATCTT
CGATGCTGTCATTTCGAAATGTCCGCTTCAACCGCTCTTTCACCTCCCAAAG
AGCAAAGTTGGCTTGATGAGCGCAGATGAGGAAGCGGGAGCAAGAAAAC
CCATAATATCTTTCTTGTCCTTCTACTTAAGGGGCAAAGAGAAGCGCTTTTG
CTACTGAGAAAGCGAACGGTCAGCACGAAGGTTCAAGACTTAGCCGAGTG
TTAGCGAAGCTAGATTCTCATAGCGAGGCGCTTCGAGTTAGCGAAGCGCTG
TAGTAGCGCCGAAGCCCTATGTGCTATAATGCTGAGCCAAGGACGCTCCGC
CTTATCTATAGAAGCAGTCAACTGAGTTCTGAACGAATTAAATTAGCTCCTT
GGTAATGGCTCAATCTATAGATAGAAAGCCCTATGATGGGAAACTACCACGT
TAGGTTTGGAGAGAGATGGGACCGGTTATATAATAGGGGGAGCAGATGCAA
GCTTTTTCTTTCAATAGCCGGCCAAATGACTACAGGATCATCGGTCTACTCT
ACCTCAATTCACCATTTCGAACCTTATACAGAAGGTTTTTCCGTACCAGCTC
CTTCTACCTATACCGCAGTTGAAGCACCTAAAGGAGAATTTGG

도면7


TGTCCTCCATCACGATATCGAATGAAACTATCCATGGAATCGTGCGCCGTGT
GAAACGTAGATCATCGCCGTTCTTAACCGAGACTCAGGTTAAGCTCCGTCT
CGGAACCTTGTGGGGTTAGGAGTAAAGCATCCCGAGGTTGGCGCATCTCGT
TGAGCGTGGAGAAGCATTGGGAACCCCAATTTCTTTCTTCGGAGCCGTTTC
TTTTCCCGTCCCCCCCGCCCCGGCATAGCGCTTCGCTTCCGGTTCTTCGGAAG
AATCAACTTACTTCTACCTTCTTCATTGATCTGGGGGAAAAGGAACCGTCTA
CCAGTTGGGAAGCTAGACATCAAGTAAGTGGCTTGATGAGGATAACTAAGC
GGACACGCCGGAGTTGGCTGCTGGCACAACAGGGTGGTGCCTTACCGCAC
CGCAGGCGGACGCGCGGTAGCGTTCGTGGTGGTGCTTCAGGATTCCAATGT
ACTGCGTCCAAGATCAGAACGAGCTTGCCGGCGGACCACTGCCGTCCCAT
TCTTGAGTGAGCTGGAGCGCAGCCATCTTATCCACTGAACTAGCTAGAAGC
TATCGCTTCGGGTCGAAGCACTAAAAGAAAAGGACCGGGAAAGGCGGCG
GCATAGGAACCACGGGACCCCCTACTAGTAAAGGGAAAACGGAAGTGCGC
TCCTGCGCACCAGCTGAAAAAGCCCTTTCCCCTTTCTCTAATAACGAATAA
GGTAAGCTTCATAGCTCCAACCTATACAAGGGGCTTTGATGCCCTTTGTATA
GCTTGGGTTGCTGGATACGGGATCCTCGTAGTAGGCTGGACCAACATCCAG
CCGAGAGAGGGCAGTCTTTAGAAGCAACAGGTTGGGAAACCAAGAGAAC
GCCTCGCGTTTTCTTATCTTCTTCCCGCCCCAGGAGTAGCACAAAAAGAGG
GATTAGCATTATGGACCCAATGATAAACCACTAAAACCTTACTCGTTGGGGC
TCCGCGCACTGGGAAAACGCTCTAGCGACGGGAAACCGGTCACTAGTTAC
AAAGCTCCAATAAGGTAAGGTATCGAGAGGGCTATCACAGTCAGGTGCGA
AGCAATTAGCTCTATTTGGAAAGTACCCCTCTTCCTATTTAGGGAGTTGAGG
CGACCAATTTCTTGATGAACCGTTCCGTTCGCCACGCACCGGACCCATTCA
CTTGCTTATCGTAGAGGCTGTAAGTACACAGTGCCCCACAACTTTGAATAGT
ATAGTGGGGTTGAAAGACAAGAGTGCCCGCCCCTAAAGTAGGCTACTTTTT
CCGGAACGCAGTCCGAGATAACCGTAACCGTGTATATATAGAAATAGATCTT
CGATGCTGTCATTTCGAAATGTCCGCTTCAACCGCTCTTTCACCTCCCAAAG
AGCAAAGTTGGCTTGATGAGCGCAGATGAGGAAGCGGGAGCAAGAAAAC
CAATAATATCTTTCTTGTCCTTCTACTTAAGGGGCAAAGAGAAGCGCTTTTG
CTACTGAGAAAGCGAACGGTCAGCACGAAGGTTCAAGACTTAGCCGAGTG
TTAGCGAAGCTAGATTCTCATAGCGAGGCGCTTCGAGTTAGCGAAGCGCTG
TAGTAGCGCCGAAGCCCTATGTGCTATAATGCTGAGCCAAGGACGCTCCGC
CTTATCTATAGAAGCAGTCAACTGAGTTCTGAACGAATTAAATTAGCTCCTT
GGTAATGGCTCAATCTATAGATAGAAAGCCCTATGATGGGAAACTACCACGT
TAGGTTTGGAGAGAGATGGGACCGGTTATATAATAGGGGGAGCAGATGCAA
GCTTTTTCTTTCAATAGCCGGCCAAATGACTACAGGATCATCGGTCTACTCT
ACCTCAATTCACCATTTCGAACCTTATACAGAAGGTTTTTCCGTACCAGCTC
CTTCTACCTATACCGCAGTTGAAGCACCTAAAGGAGAATTTGG

도면8


TGTCCTCCATCACGATATCGAATGAAACTATCCATGGAATCGTGCGCCGTGT
GAAACGTAGATCATCGCCGTTCTTAACCGAGACTCAGGTTAAGCTCCGTCT
CGGAACCTTGTGGGGTTAGGAGTAAAGCATCCCGAGGTTGGCGCATCTCGT
TGAGCGTGGAGAAGCATTGGGAACCCCAATTTCTTTCTTCGGAGCCGTTTC
TTTTCCCGTCCCCCCCGCCCCGGCATAGCGCTTCGCTTCCGGTTCTTCGGAAG
AATCAACTTACTTCTACCTTCTTCATTGATCTGGGGGAAAAGGAACCGTCTA
CCAGTTGGGAAGCTAGACATCAAGTAAGTGGCTTGATGAGGATAACTAAGC
GGACACGCCGGAGTTGGCTGCTGGCACAACAGGGTGGTGCCTTACCGCAC
CGCAGGCGGACGCGCGGTAGCGTTCGTGGTGGTGCTTCAGGATTCCAATGT
ACTGCGTCCAAGATCAGAACGAGCTTGCCGGCGGACCACTGCCGTCCCAT
TCTTGAGTGAGCTGGAGCGCAGCCATCTTATCCACTGAACTAGCTAGAAGC
TATCGCTTCGGGTCGAAGCACTAAAAGAAAAGGACCGGGAAAGGCGGCG
GCATAGGAACCACGGGACCCCCTACTAGTAAAGGGAAAACGGAAGTGCGC
TCCTGCGCACCAGCTGAAAAAGCCCTTTCCCCTTTCTCTAATAACGAATAA
GGTAAGCTTCATAGCTCCAACCTATACAAGGGGCTTTGATGCCCTTTGTATA
GCTTGGGTTGCTGGATACGGGATCCTCGTAGTAGGCTGGACCAACATCCAG
CCGAGAGAGGGCAGTCTTTAGAAGCAACAGGTTGGGAAACCAAGAGAAC
GCCTCGCGTTTTCTTATCTTCTTCCCGCCCCAGGAGTAGCACAAAAAGAGG
GATTAGCATTATGGACCCAATGATAAACCACTAAAACCTTACTCGTTGGGGC
TCCGCGCACTGGGAAAACGCTCTAGCGACGGGAAACCGGTCACTAGTTAC
AAAGCTCCAATAAGGTAAGGTATCGAGAGGGCTATCACAGTCAGGTGCGA
AGCAATTAGCTCTATTTGGAAAGTACCCCTCTTCCTATTTAGGGAGTTGAGG
CGACCAATTTCTTGATGAACCGTTCCGTTCGCCACGCACCGGACCCATTCA
CTTGCTTATCGTAGAGGCTGTAAGTACACAGTGCCCCACAACTTTGAATAGT
ATAGTGGGGTTGAAAGACAAGAGTGCCCGCCCCTAAAGTAGGCTACTTTTT
CCGGAACGCAGTCCGAGATAACCGTAACCGTGTATATATAGAAATAGATCTT
CGATGCTGTCATTTCGAAATGTCCGCTTCAACCGCTCTTTCACCTCCCAAAG
AGCAAAGTTGGCTTGATGAGCGCAGATGAGGAAGCGGGAGCAAGAAAAC
CAATAATATCTTTCTTGTCCTTCTACTTAAGGGGCAAAGAGAAGCGCTTTTG
CTACTGAGAAAGCGAACGGTCAGCACGAAGGTTCAAGACTTAGCCGAGTG
TTAGCGAAGCTAGATTCTCATAGCGAGGCGCTTCGAGTTAGCGAAGCGCTG
TAGTAGCGCCGAAGCCCTATGTGCTATAATGCTGAGCCAAGGACGCTCCGC
CTTATCTATAGAAGCAGTCAACTGAGTTCTGAACGAATTAAATTAGCTCCTT
GGTAATGGCTCAATCTATAGATAGAAAGCCCTATGATGGGAAACTACCACGT
TAGGTTTGGAGAGAGATGGGACCGGTTATATAATAGGGGGAGCAGATGCAA
GCTTTTTCTTTCAATAGCCGGCCAAATGACTACAGGATCATCGGTCTACTCT
ACCTCAATTCACCATTTCGAACCTTATACAGAAGGTTTTTCCGTACCAGCTC
CTTCTACCTATACCGCAGTTGAAGCACCTAAAGGAGAATTTGG

도면9


TGTCCTCCATCACGATATCGAATGAAACTATCCATGGAATCGTGCGCCGTGT
GAAACGTAGATCATCGCCGTTCTTAACCGAGACTCAGGTTAAGCTCCGTCT
CGGAACCTTGTGGGGTTAGGAGTAAAGCATCCCGAGGTTGGCGCATCTCGT
TGAGCGTGGAGAAGCATTGGGAACCCCAATTTCTTTCTTCGGAGCCGTTTC
TTTTCCCGTCCCCCCCGCCCCGGCATAGCGCTTCGCTTCCGGTTCTTCGGAAG
AATCAACTTACTTCTACCTTCTTCATTGATCTGGGGGAAAAGGAACCGTCTA
CCAGTTGGGAAGCTAGACATCAAGTAAGTGGCTTGATGAGGATAACTAAGC
GGACACGCCGGAGTTGGCTGCTGGCACAACAGGGTGGTGCCTTACCGCAC
CGCAGGCGGACGCGCGGTAGCGTTCGTGGTGGTGCTTCAGGATTCCAATGT
ACTGCGTCCAAGATCAGAACGAGCTTGCCGGCGGACCACTGCCGTCCCAT
TCTTGAGTGAGCTGGAGCGCAGCCATCTTATCCACTGAACTAGCTAGAAGC
TATCGCTTCGGGTCGAAGCACTAAAAGAAAAGGACCGGGAAAGGCGGCG
GCATAGGAACCACGGGACCCCCTACTAGTAAAGGGAAAACGGAAGTGCGC
TCCTGCGCACCAGCTGAAAAAGCCCTTTCCCCTTTCTCTAATAACGAATAA
GGTAAGCTTCATAGCTCCAACCTATACAAGGGGCTTTGATGCCCTTTGTATA
GCTTGGGTTGCTGGATACGGGATCCTCGTAGTAGGCTGGACCAACATCCAG
CCGAGAGAGGGCAGTCTTTAGAAGCAACAGGTTGGGAAACCAAGAGAAC
GCCTCGCGTTTTCTTATCTTCTTCCCGCCCCAGGAGTAGCACAAAAAGAGG
GATTAGCATTATGGACCCAATGATAAACCACTAAAACCTTACTCGTTGGGGC
TCCGCGCACTGGGAAAACGCTCTAGCGACGGGAAACCGGTCACTAGTTAC
AAAGCTCCAATAAGGTAAGGTATCGAGAGGGCTATCACAGTCAGGTGCGA
AGCAATTAGCTCTATTTGGAAAGTACCCCTCTTCCTATTTAGGGAGTTGAGG
CGACCAATTTCTTGATGAACCGTTCCGTTCGCCACGCACCGGACCCATTCA
CTTGCTTATCGTAGAGGCTGTAAGTACACAGTGCCCCACAACTTTGAATAGT
ATAGTGGGGTTGAAAGACAAGAGTGCCCGCCCCTAAAGTAGGCTACTTTTT
CCGGAACGCAGTCCGAGATAACCGTAACCGTGTATATATAGAAATAGATCTT
CGATGCTGTCATTTCGAAATGTCCGCTTCAACCGCTCTTTCACCTCCCAAAG
AGCAAAGTTGGCTTGATGAGCGCAGATGAGGAAGCGGGAGCAAGAAAAC
CAATAATATCTTTCTTGTCCTTCTACTTAAGGGGCAAAGAGAAGCGCTTTTG
CTACTGAGAAAGCGAACGGTCAGCACGAAGGTTCAAGACTTAGCCGAGTG
TTAGCGAAGCTAGATTCTCATAGCGAGGCGCTTCGAGTTAGCGAAGCGCTG
TAGTAGCGCCGAAGCCCTATGTGCTATAATGCTGAGCCAAGGACGCTCCGC
CTTATCTATAGAAGCAGTCAACTGAGTTCTGAACGAATTAAATTAGCTCCTT
GGTAATGGCTCAATCTATAGATAGAAAGCCCTATGATGGGAAACTACCACGT
TAGGTTTGGAGAGAGATGGGACCGGTTATATAATAGGGGGAGCAGATGCAA
GCTTTTTCTTTCAATAGCCGGCCAAATGACTACAGGATCATCGGTCTACTCT
ACCTCAATTCACCATTTCGAACCTTATACAGAAGGTTTTTCCGTACCAGCTC
CTTCTACCTATACCGCAGTTGAAGCACCTAAAGGAGAATTTGG

도면10


TGTCCTCCATCACGATATCGAATGAAACTATCCATGGAATCGTGCGCCGTGT
GAAACGTAGATCATCGCCGTTCTTAACCGAGACTCAGGTTAAGCTCCGTCT
CGGAACCTTGTGGGGTTAGGAGTAAAGCATCCCGAGGTTGGCGCATCTCGT
TGAGCGTGGAGAAGCATTGGGAACCCCAATTTCTTTCTTCGGAGCCGTTTC
TTTTCCCGTCCCCCCCGCCCCGGCATAGCGCTTCGCTTCCGGTTCTTCGGAAG
AATCAACTTACTTCTACCTTCTTCATTGATCTGGGGGAAAAGGAACCGTCTA
CCAGTTGGGAAGCTAGACATCAAGTAAGTGGCTTGATGAGGATAACTAAGC
GGACACGCCGGAGTTGGCTGCTGGCACAACAGGGTGGTGCCTTACCGCAC
CGCAGGCGGACGCGCGGTAGCGTTCGTGGTGGTGCTTCAGGATTCCAATGT
ACTGCGTCCAAGATCAGAACGAGCTTGCCGGCGGACCACTGCCGTCCCAT
TCTTGAGTGAGCTGGAGCGCAGCCATCTTATCCACTGAACTAGCTAGAAGC
TATCGCTTCGGGTCGAAGCACTAAAAGAAAAGGACCGGGAAAGGCGGCG
GCATAGGAACCACGGGACCCCCTACTAGTAAAGGGAAAACGGAAGTGCGC
TCCTGCGCACCAGCTGAAAAAGCCCTTTCCCCTTTCTCTAATAACGAATAA
GGTAAGCTTCATAGCTCCAACCTATACAAGGGGCTTTGATGCCCTTTGTATA
GCTTGGGTTGCTGGATACGGGATCCTCGTAGTAGGCTGGACCAACATCCAG
CCGAGAGAGGGCAGTCTTTAGAAGCAACAGGTTGGGAAACCAAGAGAAC
GCCTCGCGTTTTCTTATCTTCTTCCCGCCCCAGGAGTAGCACAAAAAGAGG
GATTAGCATTATGGACCCAATGATAAACCACTAAAACCTTACTCGTTGGGGC
TCCGCGCACTGGGAAAACGCTCTAGCGACGGGAAACCGGTCACTAGTTAC
AAAGCTCCAATAAGGTAAGGTATCGAGAGGGCTATCACAGTCAGGTGCGA
AGCAATTAGCTCTATTTGGAAAGTACCCCTCTTCCTATTTAGGGAGTTGAGG
CGACCAATTTCTTGATGAACCGTTCCGTTCGCCACGCACCGGACCCATTCA
CTTGCTTATCGTAGAGGCTGTAAGTACACAGTGCCCCCACAACTTTGAATAGT
ATAGTGGGGTTGAAAGACAAGAGTGCCCGCCCCTAAAGTAGGCTACTTTTT
CCGGAACGCAGTCCGAGATAACCGTAACCGTGTATATATAGAAATAGATCTT
CGATGCTGTCATTTCGAAATGTCCGCTTCAACCGCTCTTTCACCTCCCAAAG
AGCAAAGTTGGCTTGATGAGCGCAGATGAGGAAGCGGGAGCAAGAAAAC
CAATAATATCTTTCTTGTCCTTCTACTTAAGGGGCAAAGAGAAGCGCTTTTG
CTACTGAGAAAGCGAACGGTCAGCACGAAGGTTCAAGACTTAGCCGAGTG
TTAGCGAAGCTAGATTCTCATAGCGAGGCGCTTCGAGTTAGCGAAGCGCTG
TAGTAGCGCCGAAGCCCTATGTGCTATAATGCTGAGCCAAGGACGCTCCGC
CTTATCTATAGAAGCAGTCAACTGAGTTCTGAACGAATTAAATTAGCTCCTT
GGTAATGGCTCAATCTATAGATAGAAAGCCCTATGATGGGAAACTACCACGT
TAGGTTTGGAGAGAGATGGGACCGGTTATATAATAGGGGGAGCAGATGCAA
GCTTTTTCTTTCAATAGCCGGCCAAATGACTACAGGATCATCGGTCTACTCT
ACCTCAATTCACCATTTCGAACCTTATACAGAAGGTTTTTCCGTACCAGCTC
CTTCTACCTATACCGCAGTTGAAGCACCTAAAGGAGAATTTGG

도면11


TGTCCTCCATCACGATATCGAATGAAACTATCCATGGAATCGTGCGCCGTGT
GAAACGTAGATCATCGCCGTTCTTAACCGAGACTCAGGTTAAGCTCCGTCT
CGGAACCTTGTGGGGTTAGGAGTAAAGCATCCCGAGGTTGGCGCATCTCGT
TGAGCGTGGAGAAGCATTGGGAACCCCAATTTCTTTCTTCGGAGCCGTTTC
TTTTCCCGTCCCCCCGCCCCGGCATAGCGCTTCGCTTCCGGTTCTTCGGAAG
AATCAACTTACTTCTACCTTCTTCATTGATCTGGGGGAAAAGGAACCGTCTA
CCAGTTGGGAAGCTAGACATCAAGTAAGTGGCTTGATGAGGATAACTAAGC
GGACACGCCGGAGTTGGCTGCTGGCACAACAGGGTGGTGCCTTACCGCAC
CGCAGGCGGACGCGCGGTAGCGTTCGTGGTGGTGCTTCAGGATTCCAATGT
ACTGCGTCCAAGATCAGAACGAGCTTGCCGGCGGACCACTGCCGTCCCAT
TCTTGAGTGAGCTGGAGCGCAGCCATCTTATCCACTGAACTAGCTAGAAGC
TATCGCTTCGGGTCGAAGCACTAAAAGAAAAGGACCGGGAAAGGCGGCG
GCATAGGAACCACGGGACCCCCTACTAGTAAAGGGAAAACGGAAGTGCGC
TCCTGCGCACCAGCTGAAAAAGCCCTTTCCCCTTTCTCTAATAACGAATAA
GGTAAGCTTCATAGCTCCAACCTATACAAGGGGCTTTGATGCCCTTTGTATA
GCTTGGGTTGCTGGATACGGGATCCTCGTAGTAGGCTGGACCAACATCCAG
CCGAGAGAGGGCAGTCTTTAGAAGCAACAGGTTGGGAAACCAAGAGAAC
GCCTCGCGTTTTCTTATCTTCTTCCCGCCCCAGGAGTAGCACAAAAAGAGG
GATTAGCATTATGGACCCAATGATAAACCACTAAAACCTTACTCGTTGGGGC
TCCGCGCACTGGGAAAACGCTCTAGCGACGGGAAACCGGTCACTAGTTAC
AAAGCTCCAATAAGGTAAGGTATCGAGAGGGCTATCACAGTCAGGTGCGA
AGCAATTAGCTCTATTTGGAAAGTACCCCTCTTCCTATTTAGGGAGTTGAGG
CGACCAATTTCTTGATGAACCGTTCCGTTCGCCACGCACCGGACCCATTCA
CTTGCTTATCGTAGAGGCTGTAAGTACACAGTGCCCCACAACTTTGAATAGT
ATAGTGGGGTTGAAAGACAAGAGTGCCCGCCCCTAAAGTAGGCTACTTTTT
CCGGAACGCAGTCCGAGATAACCGTAACCGTGTATATATAGAAATAGATCTT
CGATGCTGTCATTTCGAAATGTCCGCTTCAACCGCTCTTTCACCTCCCAAAG
AGCAAAGTTGGCTTGATGAGCGCAGATGAGGAAGCGGGAGCAAGAAAAC
CAATAATATCTTTCTTGTCCTTCTACTTAAGGGGCAAAGAGAAGCGCTTTTG
CTACTGAGAAAGCGAACGGTCAGCACGAAGGTTCAAGACTTAGCCGAGTG
TTAGCGAAGCTAGATTCTCATAGCGAGGCGCTTCGAGTTAGCGAAGCGCTG
TAGTAGCGCCGAAGCCCTATGTGCTATAATGCTGAGCCAAGGACGCTCCGC
CTTATCTATAGAAGCAGTCAACTGAGTTCTGAACGAATTAAATTAGCTCCTT
GGTAATGGCTCAATCTATAGATAGAAAGCCCTATGATGGGAAACTACCACGT
TAGGTTTGGAGAGAGATGGGACCGGTTATATAATAGGGGGAGCAGATGCAA
GCTTTTTCTTTCAATAGCCGGCCAAATGACTACAGGATCATCGGTCTACTCT
ACCTCAATTCACCATTTCGAACCTTATACAGAAGGTTTTTCCGTACCAGCTC
CTTCTACCTATACCGCAGTTGAAGCACCTAAAGGAGAATTTGG

도면12


TGTCCTCCATCACGATATCGAATGAAACTATCCATGGAATCGTGCGCCGTGT
GAAACGTAGATCATCGCCGTTCTTAACCGAGACTCAGGTTAAGCTCCGTCT
CGGAACCTTGTGGGGTTAGGAGTAAAGCATCCCGAGGTTGGCGCATCTCGT
TGAGCGTGGAGAAGCATTGGGAACCCCAATTTCTTTCTTCGGAGCCGTTTC
TTTTCCCGTCCCCCCCGCCCCGGCATAGCGCTTCGCTTCCGGTTCTTCGGAAG
AATCAACTTACTTCTACCTTCTTCATTGATCTGGGGGAAAAGGAACCGTCTA
CCAGTTGGGAAGCTAGACATCAAGTAAGTGGCTTGATGAGGATAACTAAGC
GGACACGCCGGAGTTGGCTGCTGGCACAACAGGGTGGTGCCTTACCGCAC
CGCAGGCGGACGCGCGGTAGCGTTCGTGGTGGTGCTTCAGGATTCCAATGT
ACTGCGTCCAAGATCAGAACGAGCTTGCCGGCGGACCACTGCCGTCCCAT
TCTTGAGTGAGCTGGAGCGCAGCCATCTTATCCACTGAACTAGCTAGAAGC
TATCGCTTCGGGTCGAAGCACTAAAAGAAAAGGACCGGGAAAGGCGGCG
GCATAGGAACCACGGGACCCCCTACTAGTAAAGGGAAAACGGAAGTGCGC
TCCTGCGCACCAGCTGAAAAAGCCCTTTCCCCTTTCTCTAATAACGAATAA
GGTAAGCTTCATAGCTCCAACCTATACAAGGGGCTTTGATGCCCTTTGTATA
GCTTGGGTTGCTGGATACGGGATCCTCGTAGTAGGCTGGACCAACATCCAG
CCGAGAGAGGGCAGTCTTTAGAAGCAACAGGTTGGGAAACCAAGAGAAC
GCCTCGCGTTTTCTTATCTTCTTCCCGCCCCAGGAGTAGCACAAAAAGAGG
GATTAGCATTATGGACCCAATGATAAACCACTAAAACCTTACTCGTTGGGGC
TCCGCGCACTGGGAAAACGCTCTAGCGACGGGAAACCGGTCACTAGTTAC
AAAGCTCCAATAAGGTAAGGTATCGAGAGGGCTATCACAGTCAGGTGCGA
AGCAATTAGCTCTATTTGGAAAGTACCCCTCTTCCTATTTAGGGAGTTGAGG
CGACCAATTTCTTGATGAACCGTTCCGTTCGCCACGCACCGGACCCATTCA
CTTGCTTATCGTAGAGGCTGTAAGTACACAGTGCCCCACAACTTTGAATAGT
ATAGTGGGGTTGAAAGACAAGAGTGCCCGCCCCTAAAGTAGGCTACTTTTT
CCGGAACGCAGTCCGAGATAACCGTAACCGTGTATATATAGAAATAGATCTT
CGATGCTGTCATTTCGAAATGTCCGCTTCAACCGCTCTTTCACCTCCCAAAG
AGCAAAGTTGGCTTGATGAGCGCAGATGAGGAAGCGGGAGCAAGAAAAC
CAATAATATCTTTCTTGTCCTTCTACTTAAGGGGCAAAGAGAAGCGCTTTTG
CTACTGAGAAAGCGAACGGTCAGCACGAAGGTTCAAGACTTAGCCGAGTG
TTAGCGAAGCTAGATTCTCATAGCGAGGCGCTTCGAGTTAGCGAAGCGCTG
TAGTAGCGCCGAAGCCCTATGTGCTATAATGCTGAGCCAAGGACGCTCCGC
CTTATCTATAGAAGCAGTCAACTGAGTTCTGAACGAATTAAATTAGCTCCTT
GGTAATGGCTCAATCTATAGATAGAAAGCCCTATGATGGGAAACTACCACGT
TAGGTTTGGAGAGAGATGGGACCGGTTATATAATAGGGGGAGCAGATGCAA
GCTTTTTCTTTCAATAGCCGGCCAAATGACTACAGGATCATCGGTCTACTCT
ACCTCAATTCACCATTTCGAACCTTATACAGAAGGTTTTTCCGTACCAGCTC
CTTCTACCTATACCGCAGTTGAAGCACCTAAAGGAGAATTTGG

도면13


TGTCCTCCATCACGATATCGAATGAAACTATCCATGGAATCGTGCGCCGTGT
GAAACGTAGATCATCGCCGTTCTTAACCGAGACTCAGGTTAAGCTCCGTCT
CGGAACCTTGTGGGGTTAGGAGTAAAGCATCCCGAGGTTGGCGCATCTCGT
TGAGCGTGGAGAAGCATTGGGAACCCCAATTTCTTTCTTCGGAGCCGTTTC
TTTTCCCGTCCCCCCCGCCCCGGCATAGCGCTTCGCTTCCGGTTCTTCGGAAG
AATCAACTTACTTCTACCTTCTTCATTGATCTGGGGGAAAAGGAACCGTCTA
CCAGTTGGGAAGCTAGACATCAAGTAAGTGGCTTGATGAGGATAACTAAGC
GGACACGCCGGAGTTGGCTGCTGGCACAACAGGGTGGTGCCTTACCGCAC
CGCAGGCGGACGCGCGGTAGCGTTCGTGGTGGTGCTTCAGGATTCCAATGT
ACTGCGTCCAAGATCAGAACGAGCTTGCCGGCGGACCACTGCCGTCCCAT
TCTTGAGTGAGCTGGAGCGCAGCCATCTTATCCACTGAACTAGCTAGAAGC
TATCGCTTCCGGGTCGAAGCACTAAAAGAAAAGGACCGGGAAAGGCGGCG
GCATAGGAACCACGGGACCCCCTACTAGTAAAGGGAAAACGGAAGTGCGC
TCCTGCGCACCAGCTGAAAAAGCCCTTTCCCCTTTCTCTAATAACGAATAA
GGTAAGCTTCATAGCTCCAACCTATACAAGGGGCTTTGATGCCCTTTGTATA
GCTTGGGTTGCTGGATACGGGATCCTCGTAGTAGGCTGGACCAACATCCAG
CCGAGAGAGGGCAGTCTTTAGAAGCAACAGGTTGGGAAACCAAGAGAAC
GCCTCGCGTTTTCTTATCTTCTTCCCGCCCCAGGAGTAGCACAAAAAGAGG
GATTAGCATTATGGACCCAATGATAAACCACTAAAACCTTACTCGTTGGGGC
TCCGCGCACTGGGAAAACGCTCTAGCGACGGGAAACCGGTCACTAGTTAC
AAAGCTCCAATAAGGTAAGGTATCGAGAGGGCTATCACAGTCAGGTGCGA
AGCAATTAGCTCTATTTGGAAAGTACCCCTCTTCCTATTTAGGGAGTTGAGG
CGACCAATTTCTTGATGAACCGTTCCGTTCGCCACGCACCGGACCCATTCA
CTTGCTTATCGTAGAGGCTGTAAGTACACAGTGCCCCACAACTTTGAATAGT
ATAGTGGGGTTGAAAGACAAGAGTGCCCGCCCCTAAAGTAGGCTACTTTTT
CCGGAACGCAGTCCGAGATAACCGTAACCGTGTATATATAGAAATAGATCTT
CGATGCTGTCATTTCGAAATGTCCGCTTCAACCGCTCTTTCACCTCCCAAAG
AGCAAAGTTGGCTTGATGAGCGCAGATGAGGAAGCGGGAGCAAGAAAAC
CAATAATATCTTTCTTGTCCTTCTACTTAAGGGGCAAAGAGAAGCGCTTTTG
CTACTGAGAAAGCGAACGGTCAGCACGAAGGTTCAAGACTTAGCCGAGTG
TTAGCGAAGCTAGATTCTCATAGCGAGGCGCTTCGAGTTAGCGAAGCGCTG
TAGTAGCGCCGAAGCCCTATGTGCTATAATGCTGAGCCAAGGACGCTCCGC
CTTATCTATAGAAGCAGTCAACTGAGTTCTGAACGAATTAAATTAGCTCCTT
GGTAATGGCTCAATCTATAGATAGAAAGCCCTATGATGGGAAACTACCACGT
TAGGTTTGGAGAGAGATGGGACCGGTTATATAATAGGGGGAGCAGATGCAA
GCTTTTTCTTTCAATAGCCGGCCAAATGACTACAGGATCATCGGTCTACTCT
ACCTCAATTCACCATTTCGAACCTTATACAGAAGGTTTTTCCGTACCAGCTC
CTTCTACCTATACCGCAGTTGAAGCACCTAAAGGAGAATTTGG

도면14



서 열 목 록

<110> University-Industry Cooperation Group of Kyung Hee University

<120> Specific SNP primers for Chungpoong distinction in NAD7 4th intron region of Panax ginseng C.A.Meyer, and

<160> 13

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> nad74F, universial primer

<400> 1
tgtcctccat cacgatvtcg 20

<210> 2
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> nad75R, universial primer

<400> 2
ccaaattctc ctttaggtgc 20

<210> 3
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> CPR primer

<400> 3
gaaggacaag aaagatatta cg 22

<210> 4
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> CNF primer

<400> 4
ggaagcggga gcaagaaaac ga 22

<210> 5
<211> 1932
<212> DNA
<213> Panax ginseng C.A.Meyer

<400> 5
tgtcctccat cacgatatcg aatgaaacta tccatggaat cgtgcgccgt gtgaaacgta 60

gatcatcgcc gttcttaacc gagactcagg ttaagctccg tctcggaacc ttgtggggtt 120

aggagtaaag catcccgagg ttggcgcatc tcgttgagcg tggagaagca ttgggaaccc 180

caatttcttt cttcggagcc gtttcttttc ccgtcccccc gccccggcat agcgcttcgc 240

ttccggttct tcggaagaat caacttactt ctaccttctt cattgatctg ggggaaaagg 300

aaccgtctac cagttgggaa gctagacatc aagtaagtgg cttgatgagg ataactaagc 360

ggacacgccg gagttggctg ctggcacaac agggtggtgc cttaccgcac cgcaggcgga 420

cgcgcggtag cgttcgtggt ggtgcttcag gattccaatg tactgcgtcc aagatcagaa 480

cgagcttgcc ggcggaccac tgccgtccca ttcttgagtg agctggagcg cagccatctt 540

atccactgaa ctagctagaa gctatcgctt cgggtcgaag cactaaaaga aaaggaccgg 600

gaaaggcggc ggcataggaa ccacgggacc ccctactagt aaagggaaaa cggaagtgcg 660

ctcctgcgca ccagctgaaa aagccctttc ccctttctct aataacgaat aaggtaagct 720

tcatagctcc aacctataca aggggctttg atgccctttg tatagcttgg gttgctggat 780

acgggatcct cgtagtaggc tggaccaaca tccagccgag agagggcagt ctttagaagc 840

aacaggttgg gaaaccaaga gaacgcctcg cgttttctta tcttcttccc gccccaggag 900

tagcacaaaa agagggatta gcattatgga cccaatgata aaccactaaa accttactcg 960

ttggggctcc gcgcactggg aaaacgctct agcgacggga aaccggtcac tagttacaaa 1020

gctccaataa ggtaaggtat cgagagggct atcacagtca ggtgcgaagc aattagctct 1080

atttggaaag tacccctctt cctatttagg gagttgaggc gaccaatttc ttgatgaacc 1140

gttccgttcg ccacgcaccg gacccattca cttgcttatc gtagaggctg taagtacaca 1200

gtgccccaca actttgaata gtatagtggg gttgaaagac aagagtgccc gcccctaaag 1260

taggctactt tttccggaac gcagtccgag ataaccgtaa ccgtgtatat atagaaatag 1320

atcttcgatg ctgtcatttc gaaatgtccg cttcaaccgc tctttcacct cccaaagagc 1380

aaagttggct tgatgagcgc agatgaggaa gcgggagcaa gaaaacccat aatatctttc 1440

ttgtccttct acttaagggg caaagagaag cgcttttgct actgagaaag cgaacggtca 1500

gcacgaaggt tcaagactta gccgagtgtt agcgaagcta gattctcata gcgaggcgct 1560

tcgagttagc gaagcgctgt agtagcgccg aagccctatg tgctataatg ctgagccaag 1620

gacgctccgc cttatctata gaagcagtca actgagttct gaacgaatta aattagctcc 1680

ttggtaatgg ctcaatctat agatagaaag ccctatgatg ggaaactacc acgttaggtt 1740

tggagagaga tgggaccggt tatataatag ggggagcaga tgcaagcttt ttctttcaat 1800

agccggccaa atgactacag gatcatcggt ctactctacc tcaattcacc atttcgaacc 1860

ttatacagaa ggtttttccg taccagctcc ttctacctat accgcagttg aagcacctaa 1920

aggagaattt gg 1932

<210> 6
<211> 1932

<212> DNA
<213> Panax ginseng C.A.Meyer

<400> 6
tgtcctccat cacgatatcg aatgaaacta tccatggaat cgtgcgccgt gtgaaacgta 60

gatcatcgcc gttcttaacc gagactcagg ttaagctccg tctcggaacc ttgtggggtt 120

aggagtaaag catcccgagg ttggcgcatc tcgttgagcg tggagaagca ttgggaaccc 180

caatttcttt cttcggagcc gtttcttttc ccgtcccccc gccccggcat agcgcttcgc 240

ttccggttct tcggaagaat caacttactt ctaccttctt cattgatctg ggggaaaagg 300

aaccgtctac cagttgggaa gctagacatc aagtaagtgg cttgatgagg ataactaagc 360

ggacacgccg gagttggctg ctggcacaac agggtggtgc cttaccgcac cgcaggcgga 420

cgcgcggtag cgttcgtggt ggtgcttcag gattccaatg tactgcgtcc aagatcagaa 480

cgagcttgcc ggcggaccac tgccgtccca ttcttgagtg agctggagcg cagccatctt 540

atccactgaa ctagctagaa gctatcgctt cgggtcgaag cactaaaaga aaaggaccgg 600

gaaaggcggc ggcataggaa ccacgggacc ccctactagt aaagggaaaa cggaagtgcg 660

ctcctgcgca ccagctgaaa aagccctttc ccctttctct aataacgaat aaggtaagct 720

tcatagctcc aacctataca aggggctttg atgccctttg tatagcttgg gttgctggat 780

acgggatcct cgtagtaggc tggaccaaca tccagccgag agagggcagt ctttagaagc 840

aacaggttgg gaaaccaaga gaacgcctcg cgttttctta tcttcttccc gccccaggag 900

tagcacaaaa agagggatta gcattatgga cccaatgata aaccactaaa accttactcg 960

ttggggctcc gcgcactggg aaaacgctct agcgacggga aaccggtcac tagttacaaa 1020

gctccaataa ggtaaggtat cgagagggct atcacagtca ggtgcgaagc aattagctct 1080

atttggaaag tacccctctt cctatttagg gagttgaggc gaccaatttc ttgatgaacc 1140

gttccgttcg ccacgcaccg gacccattca cttgcttatc gtagaggctg taagtacaca 1200

gtgccccaca actttgaata gtatagtggg gttgaaagac aagagtgccc gcccctaaag 1260

taggctactt tttccggaac gcagtccgag ataaccgtaa ccgtgtatat atagaaatag 1320

atcttcgatg ctgtcatttc gaaatgtccg cttcaaccgc tctttcacct cccaaagagc 1380

aaagttggct tgatgagcgc agatgaggaa gcgggagcaa gaaaaccaat aatatctttc 1440

ttgtccttct acttaagggg caaagagaag cgcttttgct actgagaaag cgaacggtca 1500

gcacgaaggt tcaagactta gccgagtgtt agcgaagcta gattctcata gcgaggcgct 1560

tcgagttagc gaagcgctgt agtagcgccg aagccctatg tgctataatg ctgagccaag 1620

gacgctccgc cttatctata gaagcagtca actgagttct gaacgaatta aattagctcc 1680

ttggtaatgg ctcaatctat agatagaaag ccctatgatg ggaaactacc acgttaggtt 1740

tggagagaga tgggaccggt tatataatag ggggagcaga tgcaagcttt ttctttcaat 1800

agccggccaa atgactacag gatcatcggt ctactctacc tcaattcacc atttcgaacc 1860

ttatacagaa ggtttttccg taccagctcc ttctacctat accgcagttg aagcacctaa 1920

aggagaattt gg 1932

<210> 7
<211> 1932
<212> DNA
<213> Panax ginseng C.A.Meyer

<400> 7
tgtcctccat cacgatatcg aatgaaacta tccatggaat cgtgcgccgt gtgaaacgta 60

gatcatcgcc gttcttaacc gagactcagg ttaagctccg tctcggaacc ttgtggggtt 120

aggagtaaag catcccgagg ttggcgcatc tcgttgagcg tggagaagca ttgggaaccc 180

caatttcttt cttcggagcc gtttcttttc ccgtcccccc gccccggcat agcgcttcgc 240

ttccggttct tcggaagaat caacttactt ctaccttctt cattgatctg ggggaaaagg 300

aaccgtctac cagttgggaa gctagacatc aagtaagtgg cttgatgagg ataactaagc 360

ggacacgccg gagttggctg ctggcacaac agggtggtgc cttaccgcac cgcaggcgga 420

cgcgcggtag cgttcgtggt ggtgcttcag gattccaatg tactgcgtcc aagatcagaa 480

cgagcttgcc ggcggaccac tgccgtccca ttcttgagtg agctggagcg cagccatctt 540

atccactgaa ctagctagaa gctatcgctt cgggtcgaag cactaaaaga aaaggaccgg 600

gaaaggcggc ggcataggaa ccacgggacc ccctactagt aaagggaaaa cggaagtgcg 660

ctcctgcgca ccagctgaaa aagccctttc ccctttctct aataacgaat aaggtaagct 720

tcatagctcc aacctataca aggggctttg atgccctttg tatagcttgg gttgctggat 780

acgggatcct cgtagtaggc tggaccaaca tccagccgag agagggcagt ctttagaagc 840

aacaggttgg gaaaccaaga gaacgcctcg cgttttctta tcttcttccc gccccaggag 900

tagcacaaaa agagggatta gcattatgga cccaatgata aaccactaaa accttactcg 960

ttggggctcc gcgcactggg aaaacgctct agcgacggga aaccggtcac tagttacaaa 1020

gctccaataa ggtaaggtat cgagagggct atcacagtca ggtgcgaagc aattagctct 1080

atttggaaag tacccctctt cctatttagg gagttgaggc gaccaatttc ttgatgaacc 1140

gttccgttcg ccacgcaccg gacccattca cttgcttatc gtagaggctg taagtacaca 1200

gtgccccaca actttgaata gtatagtggg gttgaaagac aagagtgccc gcccctaaag 1260

taggctactt tttccggaac gcagtccgag ataaccgtaa ccgtgtatat atagaaatag 1320

atcttcgatg ctgtcatttc gaaatgtccg cttcaaccgc tctttcacct cccaaagagc 1380

aaagttggct tgatgagcgc agatgaggaa gcgggagcaa gaaaaccaat aatatctttc 1440

ttgtccttct acttaagggg caaagagaag cgcttttgct actgagaaag cgaacggtca 1500

gcacgaaggt tcaagactta gccgagtgtt agcgaagcta gattctcata gcgaggcgct 1560

tcgagttagc gaagcgctgt agtagcgccg aagccctatg tgctataatg ctgagccaag 1620

gacgctccgc cttatctata gaagcagtca actgagttct gaacgaatta aattagctcc 1680

ttggtaatgg ctcaatctat agatagaaag ccctatgatg ggaaactacc acgttaggtt 1740

tggagagaga tgggaccggt tatataatag ggggagcaga tgcaagcttt ttctttcaat 1800

agccggccaa atgactacag gatcatcggt ctactctacc tcaattcacc atttcgaacc 1860

ttatacagaa ggtttttccg taccagctcc ttctacctat accgcagttg aagcacctaa 1920

aggagaattt gg 1932

<210> 8
<211> 1932
<212> DNA
<213> Panax ginseng C.A.Meyer

<400> 8
tgtcctccat cacgatatcg aatgaaacta tccatggaat cgtgcgccgt gtgaaacgta 60

gatcatcgcc gttcttaacc gagactcagg ttaagctccg tctcggaacc ttgtggggtt 120

aggagtaaag catcccgagg ttggcgcatc tcgttgagcg tggagaagca ttgggaaccc 180

caatttcttt cttcggagcc gtttcttttc ccgtcccccc gccccggcat agcgcttcgc 240

ttccggttct tcggaagaat caacttactt ctaccttctt cattgatctg ggggaaaagg 300

aaccgtctac cagttgggaa gctagacatc aagtaagtgg cttgatgagg ataactaagc 360

ggacacgccg gagttggctg ctggcacaac agggtggtgc cttaccgcac cgcaggcgga 420

cgcgcggtag cgttcgtggt ggtgcttcag gattccaatg tactgcgtcc aagatcagaa 480

cgagcttgcc ggcggaccac tgccgtccca ttcttgagtg agctggagcg cagccatctt 540

atccactgaa ctagctagaa gctatcgctt cgggtcgaag cactaaaaga aaaggaccgg 600

gaaaggcggc ggcataggaa ccacgggacc ccctactagt aaagggaaaa cggaagtgcg 660

ctcctgcgca ccagctgaaa aagccctttc ccctttctct aataacgaat aaggtaagct 720

tcatagctcc aacctataca aggggctttg atgccctttg tatagcttgg gttgctggat 780

acgggatcct cgtagtaggc tggaccaaca tccagccgag agagggcagt ctttagaagc 840

aacaggttgg gaaaccaaga gaacgcctcg cgttttctta tcttcttccc gccccaggag 900

tagcacaaaa agagggatta gcattatgga cccaatgata aaccactaaa accttactcg 960

ttggggctcc gcgcactggg aaaacgctct agcgacggga aaccggtcac tagttacaaa 1020

gctccaataa ggtaaggtat cgagagggct atcacagtca ggtgcgaagc aattagctct 1080

atttggaaag taccctctt cctatttagg gagttgaggc gaccaatttc ttgatgaacc 1140

gttccgttcg ccacgcaccg gacccattca cttgcttatc gtagaggctg taagtacaca 1200

gtgccccaca actttgaata gtatagtggg gttgaaagac aagagtgccc gcccctaaag 1260

taggctactt tttccggaac gcagtccgag ataaccgtaa ccgtgtatat atagaaatag 1320

atcttcgatg ctgtcatttc gaaatgtccg cttcaaccgc tctttcacct cccaaagagc 1380

aaagttggct tgatgagcgc agatgaggaa gcgggagcaa gaaaaccaat aatatctttc 1440

ttgtccttct acttaagggg caaagagaag cgcttttgct actgagaaag cgaacggtca 1500

gcacgaaggt tcaagactta gccgagtgtt agcgaagcta gattctcata gcgaggcgct 1560

tcgagttagc gaagcgctgt agtagcgccg aagccctatg tgctataatg ctgagccaag 1620

gacgctccgc cttatctata gaagcagtca actgagttct gaacgaatta aattagctcc 1680

ttggtaatgg ctcaatctat agatagaaag ccctatgatg ggaaactacc acgttaggtt 1740

tggagagaga tgggaccggt tatataatag ggggagcaga tgcaagcttt ttctttcaat 1800

agccggccaa atgactacag gatcatcggt ctactctacc tcaattcacc atttcgaacc 1860

ttatacagaa ggtttttccg taccagctcc ttctacctat accgcagttg aagcacctaa 1920

aggagaattt gg 1932

<210> 9
<211> 1932
<212> DNA
<213> Panax ginseng C.A.Meyer

<400> 9
tgtcctccat cacgatatcg aatgaaacta tccatggaat cgtgcgccgt gtgaaacgta 60

gatcatcgcc gttcttaacc gagactcagg ttaagctccg tctcggaacc ttgtggggtt 120

aggagtaaag catcccgagg ttggcgcatc tcgttgagcg tggagaagca ttgggaaccc 180

caatttcttt cttcggagcc gtttcttttc ccgtcccccc gccccggcat agcgcttcgc 240

ttccggttct tcggaagaat caacttactt ctaccttctt cattgatctg ggggaaaagg 300

aaccgtctac cagttgggaa gctagacatc aagtaagtgg cttgatgagg ataactaagc 360

ggacacgccg gagttggctg ctggcacaac agggtggtgc cttaccgcac cgcaggcgga 420

cgcgcggtag cgttcgtggt ggtgcttcag gattccaatg tactgcgtcc aagatcagaa 480

cgagcttgcc ggcggaccac tgccgtccca ttcttgagtg agctggagcg cagccatctt 540

atccactgaa ctagctagaa gctatcgctt cgggtcgaag cactaaaaga aaaggaccgg 600

gaaaggcggc ggcataggaa ccacgggacc ccctactagt aaagggaaaa cggaagtgcg 660

ctcctgcgca ccagctgaaa aagccctttc ccctttctct aataacgaat aaggtaagct 720

tcatagctcc aacctataca aggggctttg atgccctttg tatagcttgg gttgctggat 780

acgggatcct cgtagtaggc tggaccaaca tccagccgag agagggcagt ctttagaagc 840

aacaggttgg gaaaccaaga gaacgcctcg cgttttctta tcttcttccc gccccaggag 900

tagcacaaaa agagggatta gcattatgga cccaatgata aaccactaaa accttactcg 960

ttggggctcc gcgcactggg aaaacgctct agcgacggga aaccggtcac tagttacaaa 1020

gctccaataa ggtaaggtat cgagagggct atcacagtca ggtgcgaagc aattagctct 1080

atttggaaag taccctctt cctatttagg gagttgaggc gaccaatttc ttgatgaacc 1140

gttccgttcg ccacgcaccg gacccattca cttgcttatc gtagaggctg taagtacaca 1200

gtgccccaca actttgaata gtatagtggg gttgaaagac aagagtgccc gcccctaaag 1260

taggctactt tttccggaac gcagtccgag ataaccgtaa ccgtgtatat atagaaatag 1320

atcttcgatg ctgtcatttc gaaatgtccg cttcaaccgc tctttcacct cccaaagagc 1380

aaagttggct tgatgagcgc agatgaggaa gcgggagcaa gaaaaccaat aatatctttc 1440

ttgtccttct acttaagggg caaagagaag cgcttttgct actgagaaag cgaacggtca 1500

gcacgaaggt tcaagactta gccgagtgtt agcgaagcta gattctcata gcgaggcgct 1560

tcgagttagc gaagcgctgt agtagcgccg aagccctatg tgctataatg ctgagccaag 1620

gacgctccgc cttatctata gaagcagtca actgagttct gaacgaatta aattagctcc 1680

ttggtaatgg ctcaatctat agatagaaag ccctatgatg ggaaactacc acgttaggtt 1740

tggagagaga tgggaccggt tatataatag ggggagcaga tgcaagcttt ttctttcaat 1800

agccggccaa atgactacag gatcatcggt ctactctacc tcaattcacc atttcgaacc 1860

ttatacagaa ggtttttccg taccagctcc ttctacctat accgcagttg aagcacctaa 1920

aggagaattt gg 1932

<210> 10
<211> 1932
<212> DNA
<213> Panax ginseng C.A.Meyer

<400> 10
tgtcctccat cacgatatcg aatgaaacta tccatggaat cgtgcgccgt gtgaaacgta 60

gatcatcgcc gttcttaacc gagactcagg ttaagctccg tctcggaacc ttgtggggtt 120

aggagtaaag catcccgagg ttggcgcatc tcgttgagcg tggagaagca ttgggaaccc 180

caatttcttt cttcggagcc gtttcttttc ccgtcccccc gccccggcat agcgcttcgc 240

ttccggttct tcggaagaat caacttactt ctaccttctt cattgatctg ggggaaaagg 300

aaccgtctac cagttgggaa gctagacatc aagtaagtgg cttgatgagg ataactaagc 360

ggacacgccg gagttggctg ctggcacaac agggtggtgc cttaccgcac cgcaggcgga 420

cgcgcggtag cgttcgtggt ggtgcttcag gattccaatg tactgcgtcc aagatcagaa 480

cgagcttgcc ggcggaccac tgccgtccca ttcttgagtg agctggagcg cagccatctt 540

atccactgaa ctagctagaa gctatcgctt cgggtcgaag cactaaaaga aaaggaccgg 600

gaaaggcggc ggcataggaa ccacgggacc ccctactagt aaagggaaaa cggaagtgcg 660

ctcctgcgca ccagctgaaa aagccctttc ccctttctct aataacgaat aaggtaagct 720

tcatagctcc aacctataca aggggctttg atgccctttg tatagcttgg gttgctggat 780

acgggatcct cgtagtaggc tggaccaaca tccagccgag agagggcagt ctttagaagc 840

aacaggttgg gaaaccaaga gaacgcctcg cgttttctta tcttcttccc gccccaggag 900

tagcacaaaa agagggatta gcattatgga cccaatgata aaccactaaa accttactcg 960

ttggggctcc gcgcactggg aaaacgctct agcgacggga aaccggtcac tagttacaaa 1020

gctccaataa ggtaaggtat cgagagggct atcacagtca ggtgcgaagc aattagctct 1080

atttggaaag taccctctt cctatttagg gagttgaggc gaccaatttc ttgatgaacc 1140

gttccgttcg ccacgcaccg gacccattca cttgcttatc gtagaggctg taagtacaca 1200

gtgccccaca actttgaata gtatagtggg gttgaaagac aagagtgccc gcccctaaag 1260

taggctactt tttccggaac gcagtccgag ataaccgtaa ccgtgtatat atagaaatag 1320

atcttcgatg ctgtcatttc gaaatgtccg cttcaaccgc tctttcacct cccaaagagc 1380

aaagttggct tgatgagcgc agatgaggaa gcgggagcaa gaaaaccaat aatatctttc 1440

ttgtccttct acttaagggg caaagagaag cgcttttgct actgagaaag cgaacggtca 1500

gcacgaaggt tcaagactta gccgagtgtt agcgaagcta gattctcata gcgaggcgct 1560

tcgagttagc gaagcgctgt agtagcgccg aagccctatg tgctataatg ctgagccaag 1620

gacgctccgc cttatctata gaagcagtca actgagttct gaacgaatta aattagctcc 1680

ttggtaatgg ctcaatctat agatagaaag ccctatgatg ggaaactacc acgttaggtt 1740

tggagagaga tgggaccggt tatataatag ggggagcaga tgcaagcttt ttctttcaat 1800

agccggccaa atgactacag gatcatcggt ctactctacc tcaattcacc atttcgaacc 1860

ttatacagaa ggtttttccg taccagctcc ttctacctat accgcagttg aagcacctaa 1920

aggagaattt gg 1932

<210> 11
<211> 1932
<212> DNA
<213> Panax ginseng C.A.Meyer

<400> 11
tgtcctccat cacgatatcg aatgaaacta tccatggaat cgtgcgccgt gtgaaacgta 60

gatcatcgcc gttcttaacc gagactcagg ttaagctccg tctcggaacc ttgtggggtt 120

aggagtaaag catcccgagg ttggcgcatc tcgttgagcg tggagaagca ttgggaaccc 180

caatttcttt cttcggagcc gtttcttttc ccgtcccccc gccccggcat agcgcttcgc 240

ttccggttct tcggaagaat caacttactt ctaccttctt cattgatctg ggggaaaagg 300

aaccgtctac cagttgggaa gctagacatc aagtaagtgg cttgatgagg ataactaagc 360

ggacacgccg gagttggctg ctggcacaac agggtggtgc cttaccgcac cgcaggcgga 420

cgcgcggtag cgttcgtggt ggtgcttcag gattccaatg tactgcgtcc aagatcagaa 480

cgagcttgcc ggcggaccac tgccgtccca ttcttgagtg agctggagcg cagccatctt 540

atccactgaa ctagctagaa gctatcgctt cgggtcgaag cactaaaaga aaaggaccgg 600

gaaaggcggc ggcataggaa ccacgggacc ccctactagt aaagggaaaa cggaagtgcg 660

ctcctgcgca ccagctgaaa aagcccttc ccctttctct aataacgaat aaggtaagct 720

tcatagctcc aacctataca aggggctttg atgccctttg tatagcttgg gttgctggat 780

acgggatcct cgtagtaggc tggaccaaca tccagccgag agagggcagt ctttagaagc 840

aacaggttgg gaaaccaaga gaacgcctcg cgttttctta tcttcttccc gccccaggag 900

tagcacaaaa agagggatta gcattatgga cccaatgata aaccactaaa accttactcg 960

ttggggctcc gcgcactggg aaaacgctct agcgacggga aaccggtcac tagttacaaa 1020

gctccaataa ggtaaggtat cgagagggct atcacagtca ggtgcgaagc aattagctct 1080

atttggaaag taccctctt cctatttagg gagttgaggc gaccaatttc ttgatgaacc 1140

gttccgttcg ccacgcaccg gacccattca cttgcttatc gtagaggctg taagtacaca 1200

gtgccccaca actttgaata gtatagtggg gttgaaagac aagagtgccc gcccctaaag 1260

taggctactt tttccggaac gcagtccgag ataaccgtaa ccgtgtatat atagaaatag 1320

atcttcgatg ctgtcatttc gaaatgtccg cttcaaccgc tctttcacct cccaaagagc 1380

aaagttggct tgatgagcgc agatgaggaa gcgggagcaa gaaaaccaat aatatctttc 1440

ttgtccttct acttaagggg caaagagaag cgcttttgct actgagaaag cgaacggtca 1500

gcacgaaggt tcaagactta gccgagtgtt agcgaagcta gattctcata gcgaggcgct 1560

tcgagttagc gaagcgctgt agtagcgccg aagccctatg tgctataatg ctgagccaag 1620

gacgctccgc cttatctata gaagcagtca actgagttct gaacgaatta aattagctcc 1680

ttggtaatgg ctcaatctat agatagaaag ccctatgatg ggaaactacc acgttaggtt 1740

tggagagaga tgggaccggt tatataatag ggggagcaga tgcaagcttt ttctttcaat 1800

agccggccaa atgactacag gatcatcggt ctactctacc tcaattcacc atttcgaacc 1860

ttatacagaa ggtttttccg taccagctcc ttctacctat accgcagttg aagcacctaa 1920

aggagaattt gg 1932

<210> 12
<211> 1932
<212> DNA
<213> Panax ginseng C.A.Meyer

<400> 12
tgtcctccat cacgatatcg aatgaaacta tccatggaat cgtgcgccgt gtgaaacgta 60

gatcatcgcc gttcttaacc gagactcagg ttaagctccg tctcggaacc ttgtggggtt 120

aggagtaaag catcccgagg ttggcgcatc tcgttgagcg tggagaagca ttgggaaccc 180

caatttcttt cttcggagcc gtttcttttc ccgtcccccc gccccggcat agcgcttcgc 240

ttccggttct tcggaagaat caacttactt ctaccttctt cattgatctg ggggaaaagg 300

aaccgtctac cagttgggaa gctagacatc aagtaagtgg cttgatgagg ataactaagc 360

ggacacgccg gagttggctg ctggcacaac agggtggtgc cttaccgcac cgcaggcgga 420

cgcgcggtag cgttcgtggt ggtgcttcag gattccaatg tactgcgtcc aagatcagaa 480

cgagcttgcc ggcggaccac tgccgtccca ttcttgagtg agctggagcg cagccatctt 540

atccactgaa ctagctagaa gctatcgctt cgggtcgaag cactaaaaga aaaggaccgg 600

gaaaggcggc ggcataggaa ccacgggacc ccctactagt aaagggaaaa cggaagtgcg 660

ctcctgcgca ccagctgaaa aagccctttc ccctttctct aataacgaat aaggtaagct 720

tcatagctcc aacctataca aggggctttg atgccctttg tatagcttgg gttgctggat 780

acgggatcct cgtagtaggc tggaccaaca tccagccgag agagggcagt ctttagaagc 840

aacaggttgg gaaaccaaga gaacgcctcg cgttttctta tcttcttccc gccccaggag 900

tagcacaaaa agagggatta gcattatgga cccaatgata aaccactaaa accttactcg 960

ttggggctcc gcgcactggg aaaacgctct agcgacggga aaccggtcac tagttacaaa 1020

gctccaataa ggtaaggtat cgagagggct atcacagtca ggtgcgaagc aattagctct 1080

atttggaaag tacccctctt cctatttagg gagttgaggc gaccaatttc ttgatgaacc 1140

gttccgttcg ccacgcaccg gacccattca cttgcttatc gtagaggctg taagtacaca 1200

gtgccccaca actttgaata gtatagtggg gttgaaagac aagagtgccc gcccctaaag 1260

taggctactt tttccggaac gcagtccgag ataaccgtaa ccgtgtatat atagaaatag 1320

atcttcgatg ctgtcatttc gaaatgtccg cttcaaccgc tctttcacct cccaaagagc 1380

aaagttggct tgatgagcgc agatgaggaa gcgggagcaa gaaaaccaat aatatctttc 1440

ttgtccttct acttaagggg caaagagaag cgcttttgct actgagaaag cgaacggtca 1500

gcacgaaggt tcaagactta gccgagtgtt agcgaagcta gattctcata gcgaggcgct 1560

tcgagttagc gaagcgctgt agtagcgccg aagccctatg tgctataatg ctgagccaag 1620

gacgctccgc cttatctata gaagcagtca actgagttct gaacgaatta aattagctcc 1680

ttggtaatgg ctcaatctat agatagaaag ccctatgatg ggaaactacc acgttaggtt 1740

tggagagaga tgggaccggt tatataatag ggggagcaga tgcaagcttt ttctttcaat 1800

agccggccaa atgactacag gatcatcggt ctactctacc tcaattcacc atttcgaacc 1860

ttatacagaa ggtttttccg taccagctcc ttctacctat accgcagttg aagcacctaa 1920

aggagaattt gg 1932

<210> 13
<211> 1932
<212> DNA
<213> Panax ginseng C.A.Meyer

<400> 13

tgtcctccat cacgatatcg aatgaaacta tccatggaat cgtgcgccgt gtgaaacgta 60

gatcatcgcc gttcttaacc gagactcagg ttaagctccg tctcggaacc ttgtggggtt 120

aggagtaaag catcccgagg ttggcgcatc tcgttgagcg tggagaagca ttgggaaccc 180

caatttcttt cttcggagcc gtttcttttc ccgtcccccc gccccggcat agcgcttcgc 240

ttccggttct tcggaagaat caacttactt ctaccttctt cattgatctg ggggaaaagg 300

aaccgtctac cagttgggaa gctagacatc aagtaagtgg cttgatgagg ataactaagc 360

ggacacgccg gagttggctg ctggcacaac agggtggtgc cttaccgcac cgcaggcgga 420

cgcgcggtag cgttcgtggt ggtgcttcag gattccaatg tactgcgtcc aagatcagaa 480

cgagcttgcc ggcggaccac tgccgtccca ttcttgagtg agctggagcg cagccatctt 540

atccactgaa ctagctagaa gctatcgctt cgggtcgaag cactaaaaga aaaggaccgg 600

gaaaggcggc ggcataggaa ccacgggacc ccctactagt aaagggaaaa cggaagtgcg 660

ctcctgcgca ccagctgaaa aagccctttc ccctttctct aataacgaat aaggtaagct 720

tcatagctcc aacctataca aggggctttg atgccctttg tatagcttgg gttgctggat 780

acgggatcct cgtagtaggc tggaccaaca tccagccgag agagggcagt ctttagaagc 840

aacaggttgg gaaaccaaga gaacgcctcg cgttttctta tcttcttccc gccccaggag 900

tagcacaaaa agagggatta gcattatgga cccaatgata aaccactaaa accttactcg 960

ttggggctcc gcgcactggg aaaacgctct agcgacggga aaccggtcac tagttacaaa 1020

gctccaataa ggtaaggtat cgagagggct atcacagtca ggtgcgaagc aattagctct 1080

atttggaaag taccctctt cctatttagg gagttgaggc gaccaatttc ttgatgaacc 1140

gttccgttcg ccacgcaccg gacccattca cttgcttatc gtagaggctg taagtacaca 1200

gtgccccaca actttgaata gtatagtggg gttgaaagac aagagtgccc gcccctaaag 1260

taggctactt tttccggaac gcagtccgag ataaccgtaa ccgtgtatat atagaaatag 1320

atcttcgatg ctgtcatttc gaaatgtccg cttcaaccgc tctttcacct cccaaagagc 1380

aaagttggct tgatgagcgc agatgaggaa gcgggagcaa gaaaaccaat aatatctttc 1440

ttgtccttct acttaagggg caaagagaag cgcttttgct actgagaaag cgaacggtca 1500

gcacgaaggt tcaagactta gccgagtgtt agcgaagcta gattctcata gcgaggcgct 1560

tcgagttagc gaagcgctgt agtagcgccg aagccctatg tgctataatg ctgagccaag 1620

gacgctccgc cttatctata gaagcagtca actgagttct gaacgaatta aattagctcc 1680

ttggtaatgg ctcaatctat agatagaaag ccctatgatg ggaaactacc acgttaggtt 1740

tggagagaga tgggaccggt tatataatag ggggagcaga tgcaagcttt ttctttcaat 1800

agccggccaa atgactacag gatcatcggt ctactctacc tcaattcacc atttcgaacc 1860

ttatacagaa ggtttttccg taccagctcc ttctacctat accgcagttg aagcacctaa 1920

aggagaattt gg 1932