(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0073757
(43) 공개일자 2015년07월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*C12N 15/11* (2006.01) *C12Q 1/68* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0161806
(22) 출원일자 2013년12월23일
심사청구일자 2013년12월23일

(71) 출원인
**경희대학교 산학협력단**
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
**양덕춘**
경기 용인시 기흥구 용구대로 1842, 111동 301호 (보라동, 현대모닝사이드2차아파트)
**권우생**
경기 수원시 영통구 권광로260번길 36, 111동 301호 (매탄동, 매탄현대힐스테이트)
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**김순웅**

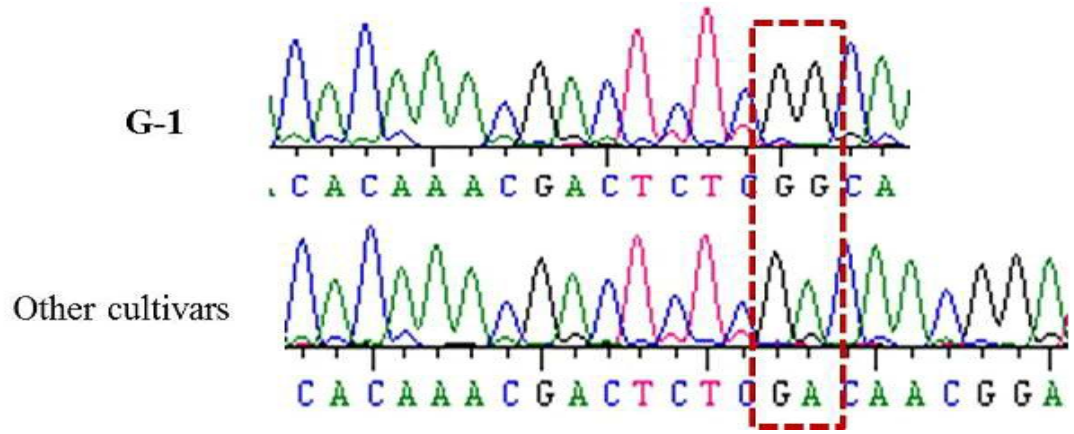
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **단일염기다형성을 이용한 고려인삼 G-1 품종 선별방법**

## (57) 요 약

본 발명은 고려인삼 G-1 품종 선별할수 있는 단일뉴클레오타이드다형성(single nucleotide polymorphism, SNP) 마커 및 이를 이용한 G-1 품종 선별방법을 제공한다. 본 발명에 따른 프라이머 세트는 G-1 품종을 선택적으로 선별해 낼 수 있으므로, 고려인삼에서 G-1 신품종의 구별에 효과적으로 이용될 수 있고, 이를 통해 인삼산업에 있어서 품종에 대한 신뢰도를 확보할 수 있어 인삼산업의 발전에 크게 이바지할 수 있다.

*대 표 도* - 도2



(72) 발명자

**김연주**

경기 화성시 영통로27번길 53, 212동 505호 (반월동, 신영통현대2차아파트)

**김민경**

경기 수원시 장안구 창훈로20번길 13, 3층 (연무동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

| | |
|---|---|
| 과제고유번호 | iPET 112142-05-1-CG000 |
| 부처명 | 농림축산식품부 |
| 연구관리전문기관 | 농림수산식품기술기획평가원 |
| 연구사업명 | 기내배양에 의한 종간잡종 및 고사포닌 개체 조기검정 |
| 연구과제명 | 골드 Seed 종자사업 |
| 기 여 율 | 1/1 |
| 주관기관 | 경희대학교 |
| 연구기간 | 2012.12.21 ~ 2017.12.20 |

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

서열번호 1에서 305번째 뉴클레오타이드를 포함하는 10 내지 30개의 연속 뉴클레오타이드로 구성되고, 고려인삼 G-1 품종 선별에 유용한 폴리뉴클레오타이드 또는 이의 상보적인 폴리뉴클레오타이드.

### 청구항 2

서열번호 1의 305번째 뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 증폭할 수 있도록 제작된 고려인삼 G-1 품종 선별용 프라이머 세트.

### 청구항 3

제 2 항에 있어서,

상기 프라이머 세트는 서열번호 12 및 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 것인, 고려인삼 G-1 품종 선별용 프라이머 세트.

### 청구항 4

(a) 인삼시료로부터 핵산분자를 분리하는 단계; 및

(b) 서열번호 1의 305번째 뉴클레오타이드에 해당하는 단일 뉴클레오타이드다형성(SNP)의 염기타입을 상기 분리된 핵산분자에서 확인하는 단계;를 포함하는, 고려인삼 G-1 품종 선별방법.

### 청구항 5

제 4 항에 있어서,

상기 단계 (b)는 서열번호 1의 305번째 뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 증폭할 수 있도록 제작된 프라이머 세트를 이용하여 상기 분리된 핵산 분자를 증폭하여 실시하는 것인, 고려인삼 G-1 품종 선별방법.

### 청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 단계 (b)는 상기 핵산 분자의 증폭 결과물을 측정하는 단계를 더 포함하는 방법으로 실시하는 것인, 고려인삼 G-1 품종 선별방법.

### 청구항 7

제 5 항에 있어서,

상기 증폭은 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction), 다중 중합효소연쇄반응(multiplex Polymerase Chain Reaction, multiplex PCR), 경쟁적 중합효소연쇄반응(competitive Polymerase Chain Reaction), 실시간 중합효소연쇄반응(real-time Polymerase Chain Reaction), 정량적 중합효소연쇄반응(Real-time Quantitative Polymerase Chain Reaction), DNA 칩(DNA chip), 등온증폭법(Loop-mediated isothermal amplification) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 방법을 이용하는 것인 고려인삼 G-1 품종 선별방법.

### 청구항 8

서열번호 1의 305번째 뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 증폭할 수 있도록 제작된 프라이머 세트를 포함하는, 고려인삼 G-1 품종 선별용 키트.

### 청구항 9

제 8 항에 있어서,

상기 프라이머 세트는 서열번호 12 및 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 것인, 고려인삼 G-1 품종 선별용 키트.

**청구항 10**

제 8 항에 있어서,

상기 키트는 서열번호 15의 염기서열로 이루어진 프라이머를 더 포함하는 것인, 고려인삼 G-1 품종 선별용 키트.

**청구항 11**

서열번호 1의 305번째 뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 증폭할 수 있도록 제작된 프라이머 세트를 포함하는, 고려인삼 G-1 품종 선별용 조성물.

**청구항 12**

제 11 항에 있어서,

상기 조성물은 서열번호 15의 염기서열로 이루어진 프라이머를 더 포함하는 것인, 고려인삼 G-1 품종 선별용 조성물.

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] 본 발명은 고려인삼 G-1 품종 선별할수 있는 단일뉴클레오타이드다형성(single nucleotide polymorphism, SNP) 마커 및 이를 이용한 G-1 품종 선별방법에 관한 것이다.

### *배 경 기 술*

[0002] 인삼(*Panax ginseng* Meyer)은 동양의 주요 약재 중의 하나로서 피로와 허약함을 개선하기 위한 일차적인 치료제로서 2000년 동안 사용되어 왔다. 한국과 중국 동북부에서 자생하는 이 식물은 일반적으로 고려인삼(Korean ginseng)이라고 불리며 현재 동북아를 중심으로 전세계적으로 재배되고 있다. 인삼의 약리성분은 1854년 서양삼뿌리에서 일종의 사포닌 혼합물인 무정형 물질을 분리하면서 인삼의 유효성분에 대한 과학적 연구가 시작되었고 인삼의 화학적 활성 성분 연구가 본격적으로 시작된 것은 1957년 소련의 브레이크만(Brekhman)에 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.

[0003] 고려인삼의 약리학적 효능으로는 뇌기능 개선, 통증 감소 효과, 항종양 활성을 비롯한 암 예방 효과, 면역 기능의 향상, 항당뇨 효과, 간기능 향상, 혈압의 조절, 항피로와 항스트레스 효과, 갱년기 장애와 성기능의 개선, 항산화를 비롯한 항노화 효과 등이 있음이 현대 과학에 의하여 밝혀졌다. 이러한 이유로 고려인삼은 전세계적으로 가장 주목 받는 식물성 치료제가 되었다.

[0004] 인삼은 기원(origin)과 경작(cultivation)에 따라 다양한 이름으로 불린다. 파낙스 속(Panax genus)은 17 종(species)으로 구성되며, 이 중 고려인삼(*P. ginseng* C.A.Meyer), 중국삼(*P. notoginseng*) 및 미국삼(*P. quinquefolium*)은 그 약효가 알려져 있다.

[0005] 고려인삼은 크게 세 종류의 계(系)인 자경계, 청경계 및 황숙계로 구분된다. 현재까지 순계 분리육종 방법(pure-line selection method)에 의하여 총 13개 품종이 세 종류의 순계로부터 육성되었고, 자경계는 연풍(Yunpoong), 고풍(Gopoong), 선풍(Sunpoong), 선운(Sunwun), 선원(Sunweon), 선향(Sunhyang), K-1, G-1, 천일, 천냥이며, 청경계는 천풍(Chunpoong), 청선(Chungsun) 그리고 황숙계는 금풍(Gumpoong)이다.

[0006] G-1 품종은 2013년 신품종 등록된 것으로, 진세노사이드를 다량으로 포함하고 있고, 내병성이 우수한 특성을 갖는다. 그러나 이러한 신 품종 인상의 경우 다른 품종과 섞여서 재배 및 판매되고 있는 실정이다. 따라서 재배

농가와 소비자의 권리를 보호하기 위해서 재배 품종을 확인할 수 있는 방법을 개발할 필요가 있다.

[0007] 인삼의 약학적 요소 및 효과에 대해서는 많은 연구가 진행되고 있으나, 고려인삼의 유전적인 정보에 대한 연구는 거의 없어, 상이한 품종의 식별분자를 만드는데 어려움이 따른다. 현재까지 인삼 품종 선별을 위해 사용되고 있는 분자생물학적 방법으로 RAPD(random amplified polymorphic DNA), ISSR(inter-simple sequence repeats), RFLPs(restriction fragment length polymorphism), SCAR(sequence0charecterixed amplified region), SSCP(single strand conformation polumorphism), AFLP(amplified fragment length polymorphism), DALP(direct amplification of length polymorphism) 및 SSR(simple sequence repeats)을 포함하는, 고려인삼 품종간의 유전학적 다형성(polymorphism)을 규명하기 위한 몇 가지 접근이 시도되었다. 그러나 이러한 방법은 재현성과 신뢰성이 부족하여 단일 품종 확인을 위한 분자 마커(molecular marker)로 개발되어 실용화되지는 못하고 있다.

[0008] 따라서, 품종을 명확히 선별하기 위한 단일 품종별 분자마커의 개발 및 농가에서 일반품종을 G-1 신품종으로 둔갑시켜 고가로 판매하는 시장질서를 어지럽히는 행위를 신속히 방지할 필요성이 절실히 요구되고 있다.

[0009] 이에 본 발명자는 고려인삼의 유전자수준의 뉴클레오타이드 변이를 이용하여 신품종을 용이하게 판별할 수 있는 유전자 마커를 개발하고자, 고려인삼 13개 품종에 대하여 DNA 염기서열을 심도있게 비교 연구한 결과, G-1 신품종에서만 나타나는 SNP 마커를 발굴하였고, 상기 SNP 마커를 이용하면 고려인삼 품종 중에서 G-1 품종을 높은 정확도로 판별할 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성 하였다.

## *선행기술문헌*

### *특허문헌*

[0010] (특허문헌 0001) KR 10-2013-0091850A

## *발명의 내용*

### *해결하려는 과제*

[0011] 본 발명의 목적은 G-1 품종을 선별하는데 유용하게 사용되는 SNP 마커를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 다른 목적은 상기 SNP 마커를 이용하여 G-1 품종을 선별하는 방법을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 G-1 품종을 선별하는 프라이머 세트와 이를 포함하는 조성물 및 키트를 제공하는 것이다.

### *과제의 해결 수단*

[0014] 상기와 같은 목적을 달성하기 위해서, 본 발명은 서열번호 1에서 305번째 뉴클레오타이드를 포함하는 10 내지 30개의 연속 뉴클레오타이드로 구성되고, 고려인삼 G-1 품종 선별에 유용한 폴리뉴클레오타이드 또는 이의 상보적인 폴리뉴클레오타이드를 제공한다.

[0015] 또한 본 발명은 서열번호 1의 305번째 뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 증폭할 수 있도록 제작된 고려인삼 G-1 품종 선별용 프라이머 세트를 제공한다.

[0016] 또한 본 발명은 (a) 인삼시료로부터 핵산분자를 분리하는 단계; 및 (b) 서열번호 1의 305번째 뉴클레오타이드에 해당하는 단일 뉴클레오타이드다형성(SNP)의 염기타입을 상기 분리된 핵산분자에서 확인하는 단계;를 포함하는, 고려인삼 G-1 품종 선별방법을 제공한다.

[0017] 또한 본 발명은 서열번호 1의 305번째 뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 증폭할 수 있도록 제작된 프라이머 세트를 포함하는, 고려인삼 G-1 품종 선별용 키트 및 조성물을 제공한다.

[0018] 본 발명의 명세서에서 특별한 언급이 없는 한, '선별'이란 목적하는 품종을 다른 품종과 구분하여 골라내는 것을 의미하고, 본 발명의 목적상 고려인삼 품종 중에서 G-1 품종의 유무를 확인하는 것을 모두 포함한다.

[0019] 본 발명의 명세서에서 특별한 언급이 없는 한, '프라이머(primer)'란 단일가닥의 올리고뉴클레오타이드로서, 적합한 조건(4가지 이상의 상이한 뉴클레오사이드 트리포스페이트 및 DNA 또는 RNA 폴리머라아제와 같은 중합효소

의 존재), 적합한 온도 및 적합한 완충액 하에서 주형(template)과 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 작용하는 것을 의미한다. 프라이머의 적합한 길이는 사용하고자하는 프라이머의 특성에 의하여 결정할 수 있다. 프라이머는 주형의 서열과 정확하게 상보적일 필요는 없지만 주형과 혼성복합체(hybrid-complex)를 형성할 수 있도록 상보적이어야만 한다. 본 발명의 프라이머는 고려인삼 G-1 품종의 45S rDNA의 305번째 뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 증폭할 수 있는 것이고, DNA 합성의 개시점으로 작용하는 프라이머의 기본 성질을 변화시키지 않는 범위 내에서 추가의 특징을 혼입한 것을 모두 포함한다.

[0020] 본 발명의 명세서에서 특별한 언급이 없는 한, '뉴클레오타이드'란 단일가닥 또는 이중가닥 형태로 존재하는 디옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드이며, 자연의 뉴클레오타이드의 유사체를 포함한다(Scheit, Nucleotide Analogs, John Wiley, New York(1980); Uhlman 및 Peyman, Chemical Reviews, 90:543-584(1990)).

[0021] 본 발명의 명세서에서 특별한 언급이 없는 한, '폴리뉴클레오타이드 증폭의 측정'이란 G-1 품종을 선별하기 위하여 시료에서 G-1 품종의 폴리뉴클레오타이드의 존재여부를 확인하는 과정으로, 일 예로 폴리뉴클레오타이드의 양을 측정하는 것을 모두 포함하는 것이다.

[0022] 본 발명의 명세서에서 특별한 언급이 없는 한, '핵산분자'란 DNA(gDNA 및 cDNA)그리고 RNA 분자를 포괄적으로 포함하는 것을 의미하며, 핵산 분자에서 기본 구성 단위인 뉴클레오타이드는 자연의 뉴클레오타이드 뿐만 아니라, 당 또는 염기 부위가 변형된 유사체(analogue)도 포함한다 (Scheit, Nucleotide Analogs, John Wiley, New York(1980); Uhlman 및 Peyman, ChemicalReviews, 90:543-584(1990)).

[0023] 본 발명의 명세서에서 특별한 언급이 없는 한, '프로브'란 특정 뉴클레오타이드 서열에 혼성화될 수 있는 디옥시 리보뉴클레오타이드 및 리보뉴클레오타이드를 포함하는 자연 또는 변형되는 모노머 또는 결합을 갖는 선형의 올리고머를 의미한다. 바람직하게는 프로브는 혼성화에서의 최대 효율을 위하여 단일가닥이다. 프로브는 바람직하게는 디옥시리보뉴클레오타이드이다.

[0024] 이하, 본 발명에 대하여 보다 상세히 설명한다.

[0025] 본 발명은 서열번호 1에서 305번째 뉴클레오타이드를 포함하는 10 내지 30개의 연속 뉴클레오타이드로 구성되고, 고려인삼 G-1 품종 선별에 유용한 폴리뉴클레오타이드 또는 이의 상보적인 폴리뉴클레오타이드를 제공한다.

[0026] 상기 G-1 품종은 고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)에 속하는 신품종으로, 2012년 03월 19일에 국립종자원에 품종보호 출원하여, 2013년 01월 17일 제 05-0005-32호로 품종보호권 설정등록이 되었다. G-1 품종은 다른 고려인삼 품종 중 선풍과 비교하여 출아가 느리고, 줄기의 색이 더 진한 자색을 띄며, 타원형의 소엽을 가지고, 꽃대의 길이가 선풍과 비교해서 짧은 특성을 가지고 있다. 또한 진세노사이드를 높은 함량으로 포함하고 있고, 내병성이 강하다.

[0027] 상기 G-1 품종의 형태학적 특성으로, 줄기의 길이는 평균 35 cm이고, 줄기수는 1경(1.5대)이며 줄기 안토니아색은 전체적으로 분포하고 있다. 잎 줄기당 소엽수는 평균 27.6매이고, 잎자루의 길이는 평균 5.3cm 이며, 잎자루 각도는 평균 60도 이다. 잎 탁엽의 발생은 중간이고, 표면 주름 정도는 중간보다 강한 경향을 갖는다. 소엽의 모양은 타원형으로 평균길이는 17.1 cm, 평균 너비는 6.5cm 이며 거치는 중간이다. 개화기는 중간이며 꽃대 길이는 평균 22.6cm 이고, 꽃송이 모양은 단형이며, 소화경의 자세는 반직립이다. 열매의 성숙기는 중간이고, 모양은 신장형으로 붉은색을 띄며 잎 노화 시 빨간색으로 띄고, 뿌리색은 미색이며, 몸통의 지름은 평균 1.9cm, 길이는 평균 6.5cm(4근 기준)이다.

[0028] 본 발명자는 G-1, 천풍, 연풍, 고풍, 선풍, 금풍, 선운, 청선, 선원, 선향 및 K-1 품종 각각의 45S rDNA 영역의 염기서열을 새롭게 밝히고, 상기 G-1의 rDNA의 염기서열은 서열번호 1에, 그 외 고려인삼 품종의 리보솜의 (ribosomal) 45S rDNA의 염기서열은 서열번호 2 내지 서열번호 11에 나타내었다. 또한, 상기 고려인삼 품종 각각의 45S rDNA의 염기서열을 천풍(KF727964), 연풍(KF727965), 고풍(KF727966), 선풍(KF727967), 금풍(KF727968), 선운(KF727969), 청선(KF727970), 선원(KF727971), 선향(KF72792), K-1(KF727973) 및 G-1(KF727974)에 대하여 GenBnaK에 등록하였다. 상기 새롭게 밝혀낸 리보솜의 45S rDNA 영역의 염기서열을 기초로, G-1 신품종에서만 나타나는 SNP 마커를 발굴하였다.

[0029] 상기 G-1에 특이적인 SNP 염기는 서열번호 1에서 305번째 뉴클레오타이드일 수 있다. 상기 서열번호 1의 305번째 뉴클레오타이드는 G 일 수 있다.

[0030] 본 발명은 서열번호 1의 서열에서 특정SNP 위치의 염기에 관한 것이나, 이러한 SNP 염기는 이중가닥의 gDNA(genomic DNA)에서 발견되는 경우, 상기한 뉴클레오타이드 서열에 대하여 상보적인 폴리뉴클레오타이드 서열도 포함할 수 있다. 따라서 상보적인 폴리뉴클레오타이드 서열에서 SNP 위치의 염기도 상보적인 염기일 수 있다.

[0031] 또한, 본 발명은 서열번호 1의 305번째 뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 증폭할 수 있도록 제작된 고려인삼 G-1 품종 선별용 프라이머 세트를 제공한다.

[0032] 상기 프라이머 세트를 이용하여 폴리뉴클레오타이드 증폭 수준을 측정하는 방법으로 고려인삼 품종 중에서 G-1 신품종을 신속하고 정확하게 선별해 낼 수 있다.

[0033] 상기 프라이머 세트는 서열번호 12 및 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 것 일 수 있다. 상기 서열번호 12의 염기서열로 이루어진 프라이머는 G-1 품종의 리보솜의 45S rDNA 영역에서 G-1 품종에 대해서 특이적인 SNP 위치를 이용하여 설계한 후, 303번째 뉴클레오타이드에 추가적인 불일치를 가하여 선별의 정확도가 더욱 우수하다. 상기 서열번호 12 및 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 프라이머 세트를 이용하여 PCR을 수행하는 경우 G-1 품종의 핵산분자에 대해서만 449 bp의 크기를 갖는 PCR 산물이 생산될 수 있다.

[0034] 상기 서열번호 12 및 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 프라이머 세트를 이용하여 G-1 품종을 선별하는 경우, 종래 공지된 45SF 프라이머를 함께 사용할 수 있다.

[0035] 상기 서열번호 12의 염기서열로 이루어진 프라이머는 정방향 프라이머(Forward primer)이고, 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 프라이머는 역방향 프라이머(reverse primer)일 수 있다.

[0036] 상기 프라이머는 필요한 경우, 분광학적, 광화학적, 생화학적, 면역화학적 또는 화학적 수단에 의해 직접적으로 또는 간접적으로 검출 가능한 표지를 포함할 수 있다. 상기 표지는 일 예로, 호스래디쉬 퍼옥시다제, 알칼린 포스파타아제 등과 같은 효소, 33P 등과 같은 방사성 동위원소, 바이오틴 등과 같은 화학그룹 및 형광성 분자 일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0037] 또한 본 발명은, (a) 인삼시료로부터 핵산분자를 분리하는 단계; 및 (b) 서열번호 1의 305번째 뉴클레오타이드에 해당하는 단일 뉴클레오타이드다형성(SNP)의 염기타입을 상기 분리된 핵산분자에서 확인하는 단계;를 포함하는, 고려인삼 G-1 품종 선별방법을 제공한다.

[0038] 상기 (a)의 인삼시료는 식물체 인삼, 인삼을 가공한 식품 또는 약제 등의 다양한 소스로부터 얻을 수 있다. 상기 인삼시료는 다양한 소스의 원료를 액화질소로 급속냉동 후 마쇄하여 분말화 시킨 것을 사용할 수 있다.

[0039] 상기 방법의 출발물질이 gDNA인 경우, gDNA의 분리는 본 발명이 속하는 분야에서 공지된 통상의 방법에 따라 실시될 수 있다(참조: Rogers & Bendich (1994)). 출발물질이 mRNA인 경우에는, 당업계에 공지된 통상의 방법에 총 RNA를 분리하여 실시된다 (참조: Sambrook, J. et al., Molecular Cloning. A Laboratory Manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Press(2001); Ausubel, F.M. et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Willey & Sons(1987); 및 Chomczynski, P. et al., Anal. Biochem. 162:156(1987)). 분리된 총 RNA는 역전사 효소를 이용하여 cDNA로 합성된다. 상기 총 RNA는 동물세포로부터 분리된 것이기 때문에, mRNA의 말단에는 폴리-A 테일을 갖고 있으며, 이러한 서열 특성을 이용한 올리고 dT 프라이머 및 역전사 효소를 이용하여 cDNA을 용이하게 합성 할 수 있다 (참조: PNAS USA, 85:8998(1988); Libert F, et al., Science, 244:569(1989); 및 Sambrook, J.et al., Molecular Cloning. A Laboratory Manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Press(2001)).

[0040] 상기 (b) 단계의 단일 뉴클레오타이드다형성(SNP)의 염기타입을 확인하는 방법은, 본 발명이 속하는 분야에서 공지된 다양한 방법을 응용하여 실시될 수 있다. 예를 들어, 본 발명에 응용될 수 있는 기술은, 형광 인 시투 혼성화 (FISH), 직접적 DNA 서열결정, PFGE 분석, 서던 블롯 분석, 단일-가닥 컨퍼메이션 분석 (SSCA, Orita et al., PNAS, USA 86:2776(1989)), RNase 보호 분석 (Finkelstein et al., Genomics, 7:167(1990)), 닷트 블롯 분석, 변성 구배 젤 전기영동 (DGGE, Wartell et al., Nucl.Acids Res., 18:2699(1990)), 뉴클레오타이드 미스매치를 인식하는 단백질 (예: E. coli의 mutS 단백질)을 이용하는 방법 (Modrich, Ann. Rev. Genet., 25:229-253(1991)), 및 대립형-특이 PCR을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0041] 상기 단계 (b)는 대립형-특이 유전자 증폭 방법에 의해 실시될 수 있다. 상기 SNP가 유전자 증폭 방법에 적용되

는 경우, 특히 SNAP (single nucleotide amplified polymophism)라 통칭된다. 또한 상기 단계 (b)는 유전자 증폭 이후, 상기 증폭 결과물을 측정하는 단계를 더 포함하는 방법으로 실시될 수 있다.

[0042] 상기 폴리뉴클레오타이드 증폭의 방법은 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR), 다중 중합효소연쇄반응(multiplex Polymerase Chain Reaction, multiplex PCR), 경쟁적 중합효소연쇄반응(competitive Polymerase Chain Reaction), 실시간 중합효소연쇄반응(real-time Polymerase Chain Reaction, RT PCR), 정량적 중합효소연쇄반응(Real-time Quantitative, RQ PCR Polymerase Chain Reationc), DNA 칩(DNA chip), 등온증폭법(Loop-mediated isothermal amplification, LAMP) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 일 수 있다.

[0043] 상기 대립형-특이 유전자 증폭 방법은 서열번호 1의 305번째 뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 증폭할 수 있도록 제작된 프라이머 세트를 이용하여 실시될 수 있다.

[0044] 상기 프라이머 세트는 서열번호 12 및 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 프라이머 세트일 수 있다. 상기 서열번호 12 및 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 프라이머 세트를 이용하여 G-1 품종을 선별하는 경우, 서열번호 15의 염기서열로 이루어진 프라이머(KgF) 및 종래 공지된 45SF 프라이머를 함께 포함하여 사용할 수 있고, 이 경우 각각 상이한 크기의 PCR 산물이 형성되므로 그 결과에 있어서 품종간 확실한 선별이 가능하다.

[0045] 상기 증폭 결과물을 측정하는 단계는 상기 프라이머 세트를 이용하여 폴리뉴클레오타이드를 증폭하고, 상기 증폭을 수행한 결과물에서 특정 크기의 밴드의 생성이 확인되면 고려인삼 G-1 품종 또는 G-1 품종이 상기 인삼 시료에 존재한다고 판별하는 방법으로 고려인삼 G-1 품종을 선별할 수 있다. 또한 상기 PCR 생성물의 형광량을 측정함으로써 PCR 생성물의 생성이 확인되면 상기 인삼 시료에 존재한다고 판별할 수 있다.

[0046] 본 발명의 일 실시예에서 상기 서열번호 12 및 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 프라이머 세트를 이용하여 다중 중합효소연쇄반응을 실시한 결과, 한 결과 G-1 품종에서만 449 bp의 PCR 생성물이 검출됨을 확인하였다.

[0047] 또한 본 발명은 서열번호 1의 305번째 뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 증폭할 수 있도록 제작된 고려인삼 G-1 품종 선별용 프라이머 세트를 포함하는 고려인삼 G-1 품종 선별용 조성물 또는 키트를 제공한다.

[0048] 상기 고려인삼 G-1 품종 선별용 조성물 또는 키트는 서열번호 12 및 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 프라이머 세트를 포함하는 것일 수 있다.

[0049] 상기 고려인삼 G-1 품종 선별용 조성물 또는 키트는 서열번호 15의 염기서열로 이루어진 프라이머를 더 포함하는 것일 수 있다. 상기 서열번호 15의 염기서열로 이루어진 프라이머는 고려인삼의 45S rDNA영역에서 170-186번째의 폴리뉴클레오타이드를 증폭할 수 있도록 설계되었고, 184번 째 뉴클레오타이드에 추가적인 불일치를 도입하여, 서양삼과 고려인삼의 구분이 더욱 정확하도록 하는 효과를 갖는다. 상기 서열번호 15의 염기서열로 이루어진 프라이머를 더 포함하는 키트 또는 조성물의 경우, 분석 시료 중 고려인삼의 존재 여부를 더욱 정확하게 선별할 수 있고, 동시에 G-1 품종의 존재 여부도 함께 확인할 수 있는 효과가 있다.

[0050] 상기 G-1 품종 선별용 조성물은 본 발명이 속하는 분야에서 널리 사용되는 다른 구성 성분 또는 장치를 추가로 포함하여 G-1 품종을 선별하는 키트로 응용, 제작될 수 있다.

[0051] 상기 키트의 일 예로 PCR용 키트, DNA 칩용 키트, 단백질 칩용 키트 또는 G-1 품종의 유전자를 검출할 수 있는 래피트 진단 키트의 형태로 제작될 수 있으나, 상기 형태에 한정되는 것은 아니다.

[0052] 상기 G-1 품종 선별용 키트는 상기 프라이머 세트 외에도 DNA 폴리머라제, 데옥시뉴클레오타이드(dNTPs), 반응 완충액, DNAse 억제제, RNAse 억제제, DEPC-수(DEPC-water), 멸균수 등을 비롯하여 폴리뉴클레오타이드의 증폭을 통하여 G-1 품종을 선별하는데 필요한 모든 생물학적 또는 화학적 시약, 사용설명서 등을 포함할 수 있다. 이러한 키트의 다른 구성은 상기 키트의 형태에 따라서 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의하여 적절히 선택될 수 있다.

## *발명의 효과*

[0053] 본 발명에 따른 프라이머 세트는 G-1 품종을 선택적으로 선별해 낼 수 있으므로, 고려인삼에서 신품종의 구별에 효과적으로 이용될 수 있고, 이를 통해 인삼산업에 있어서 품종에 대한 신뢰도를 확보할 수 있어 인삼산업의 발

전에 크게 이바지 할 수 있다.

## 도면의 간단한 설명

[0054] 도 1은 고려인삼의 ribosomal 45S 영역에 있어서 KgF, G-1F 및 45SR 프라이머의 위치를 나타내는 도이다.

도 2는 고려인삼의 ribosomal 45S 영역의 일부 서열을 나타내는 도로, G-1 품종에 대한 특이적인 서열을 나타내는 도이다.

도 3은 서열번호 12 및 서열번호 14의 염기서열로 이루어진 프라이머 세트를 이용한 중합효소연쇄반응의 생성물의 전기영동 결과를 나타내는 도이다. 1부터 순서대로 천풍(1), 연풍(2), 고풍(3), 선풍(4), 금풍(5), 선운(6), 청선(7), 선원(8), 선향(9), K-1(10) 및 G-1 품종(11 내지 13)을 나타낸다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0055] 이하, 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0056] **[실시예 1] DNA 추출**

[0057] 경희대학교 인삼소재은행으로부터 G-1, 천풍, 연풍, 고풍, 선풍, 금풍, 선운, 청선, 선원, 선향 및 K-1 품종의 고려 인삼을 분양 받고, 각각의 품종에 대하여 DNA를 추출하였다.

[0058] DNA 의 추출은 식물의 잎을 액체 질소에 넣은 후, 분쇄하여 식물 DNA 추출키트 G-spin™IIp(iNtRON, Seongam, Korea)를 사용하여 유전체(genomic) DNA를 분리 및 정제하였다. 유전체 DNA는 상기 키트의 제조사의 사양서에 따라서 수행하였다.

[0059] **[실시예 2] 고려인삼 G-1 품종 특이적 SNP 선별 및 프라이머 설계**

[0060] 2-1. PCR 증폭

[0061] 상기에서 추출된 유전체 DNA에 대하여 각각 PCR 증폭을 실시하였다.

[0062] PCR은 20 ng의 주형 DNA, 0.5 μM의 프라이머 및 10 μL의 2X PCR premix(Genotech, South Korea)를 혼합하여 총 부피 20 μL로 수행하였다. PCR 증폭은 94 ℃에서 4 분 동안 전 변성(pre-denaturation)시킨 후, 94 ℃에서 30초, 60 ℃에서 30초 동안 어닐링 및 72 ℃에서 2 분 동안 신장시키는 증폭 주기를 35회 반복하고, 마지막으로 72 ℃에서 7분간 신장시켰다. PCR 생성물은 1.0 % 아가로오스 겔 상에서 전기영동하고, 브롬화 에티듐(Ethidium bromide, Et-Br)으로 염색하여 UV(DNR MiniBIS Pro Bio-Imagining System, Israel) 하에서 관찰되었다.

[0063] 상기 추출된 유전체 DNA의 45S 영역(region)의 증폭을 위하여 45SF(5'-GCG AGA ATT CCA CTG AAC CT-3')와 45SR(5'- ACG AAT TCC CTC CGC TTA TTG ATA TGC TTA-3') 프라이머 세트를 사용하였다.

[0064] 2-2. 시퀀싱 및 DNA 염기서열 분석

[0065] 상기 11개 품종 각각의 PCR 산물은 PCRquick-spin™(iNtRON)을 이용하여 분리되었다. 상기 분리는 사용자의 사양서에 따라 수행하였다. 상기 분리된 PCR 산물은 Genotech를 이용하여 각각 11개 고려인삼 품종의 45S 영역이 서열화 되었다. 리보솜의(ribosomal) 45S 영역의 DNA 서열은 SeqMan 소프트웨어를 이용하여 얻었고, BioEdit 프로그램을 이용하여 서열을 편집하였다(Hall TA, 1999). 복수의 서열 정렬(sequence alignments)은 온라인 상의 ClustalW2 프로그램(http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/)을 이용하여 수행하였다. 그 결과는 G-1 품종의 45S rDNA의 염기서열은 서열번호 1에 나타내었고, 10개 고려인삼(천풍, 연풍, 고풍, 선풍, 금풍, 선운, 청선, 선원, 선향 및 K-1) 품종의 45S rDNA 영역에 염기서열에 있어서 한 품종에 대해서만 특이적인 서열이 나타나지 않아, 상기 고려인삼 품종 중에서 천풍의 45S rDNA의 염기서열을 서열번호 2에 나타내었다.

[0066] 2-3. G-1 특이적 SNP 선별 및 프라이머의 설계

[0067] 상기 염기서열을 분석한 45S 영역에서 G-1 품종에 특이적으로 나타나는 특정 SNP 위치를 선별하였고, 이를 기초로 G-1 품종에 특이적인 프라이머(G-1F)를 설계하였고, 양성대조군으로 고려인삼 품종에 대하여 특이적인 프라이머(KgF)를 설계하였으며, 이를 표 1, 도 1 및 도 2에 나타내었다.

표 1

[0068]

| 서열번호 | 프라이머 명 | 서열(5' - 3') | 45S 영역에서 위치 |
|---|---|---|---|
| 12 | G-1F | TCTAA AACAC AAACG ACTCT AGG (C->A ) | 283-305 |
| 13 | 45SF | GCG AGA ATT CCA CTG AAC C | Sousa et al., 2011 |
| 14 | 45SR | ACGAATTCCCTCCGCTTATTGATATGCTTA | Sousa et al., 2011 |
| 15 | KgF | GACCACCCTTGGGTTGA (G->T) | 170-186 |

[0069] 상기 표 1 그리고 도 1 및 도 2에 나타낸 바와 같이, ribosomal 45S 영역에서 G-1 품종에 특이적인 SNP를 포함하여 증폭할 수 있는 프라이머를 설계하였고, 또한, G-1F 프라이머는 303번째 뉴클레오타이드를 C에서 A로 전환하여 추가적인 불일치(additional mismatch)를 도입함으로써 G-1 품종에 대한 특이적인 선별이 확실하게 가능하도록 하였다. 또한 상기 KgF 프라이머는 고려인삼의 동일 영역 중에서, 45S 영역의 170-186의 위치에 대하여 발현하는 프라이머를 설계하였고, 184번 째 뉴클레오타이드를 G에서 T로 전환하여 추가적인 불일치를 도입하여, 고려인삼품종에 대하여 정확한 선별이 가능하도록 하였다.

[0070] **[시험예 1] 설계된 프라이머를 이용한 G-1 품종의 선별시험(MARMS-PCR)**

[0071] 상기 실시예 1 내지 3에서 추출한 고려인삼 품종 각각의 DNA 및 설계한 프라이머가 G-1 품종 선별을 위한 마커로 이용될 수 있는지를 확인하기 위하여, G-1 품종 선별시험을 실시하였다. 양성 대조군으로 KgF 프라이머를 함께 추가하여 PCR을 수행하였고, 고려인삼 품종 중에서 G-1 품종에 대해서만 특이적으로 식별이 가능한지 확인하였다. 리버스 프라이머로는 45SR 프라이머를 사용하였다.

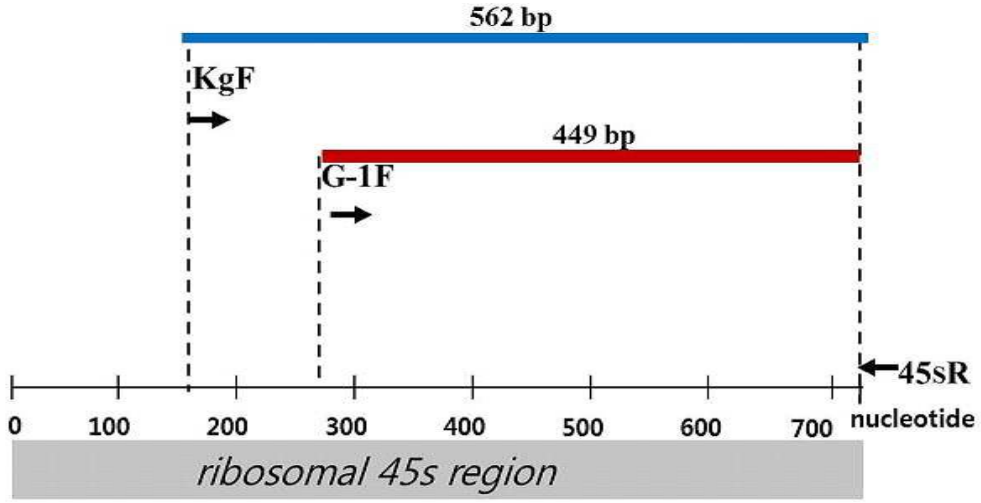
[0072] G-1 품종(11 내지 13), 천풍(1), 연풍(2), 고풍(3), 선풍(4), 금풍(5), 선운(6), 청선(7), 선원(8), 선향(9) 그리고 K-1(10) 품종의 유전체 DNA에 대하여 상기 설계한 G-1F와 45SR 프라이머 세트를 이용하여 PCR을 수행하였다.

[0073] PCR 증폭은 반응 혼합물을 총부피 20 ㎕로 수행하였고, 반응 혼합물은 각주형(template) DNA 20 ng, 2X PreMix DNA 폴리머라제(Genotech, 한국), KgF 0.13 μM, G-1F 0.13 μM 및 45SR 0.13 μM 를 포함하도록 하였다. 증폭은 94 ℃에서 5 분 동안 전 변성 (pre-denaturation)시키는 단계를 거치고, 94 ℃에서 30 초 동안 변성, 62.5 ℃에서 40 초 동안 어닐링 및 72 ℃에서 40 초 동안 증폭하는 증폭주기를 35회 반복 한 다음 72 ℃에서 7 분 동안 신장(final extension)하여 완결시켰다. PCR 생성물은 0.1 % 아가로오스 젤 상에서 전기영동하고, 브롬화 에티듐(Et-Br)으로 염색하여 UV(DNR MiniBIS Pro Bio-Imagining System, Israel) 하에서 관찰하였고, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

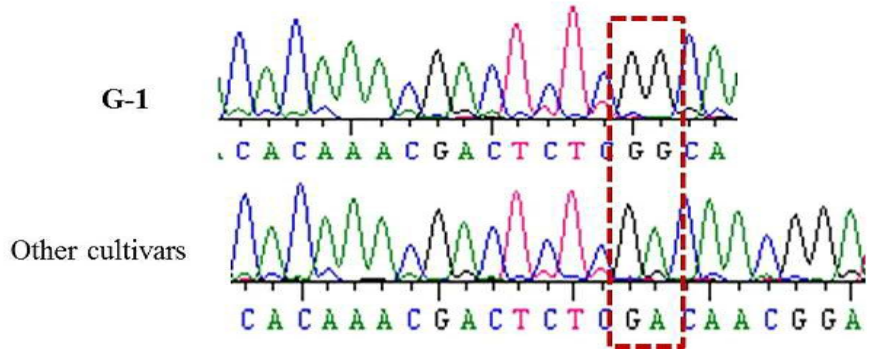
[0074] 도 3에 나타낸 바와 같이, 1 내지 10 번의 고려인삼 품종에 대해서 양성 대조군은 562 bp에서만 밴드가 형성되었고, 449 bp의 밴드는 형성되지 않았으나, 11 내지 13번의 G-1 품종에 대해서는 449 bp에서 밴드가 형성되었다. 상기 실험은 실시예에서 준비한 다양한 인삼 샘플에 대하여 여러 차례 수행하여 상기 프라이머의 G-1 품종의 식별을 위한 마커로서의 효과를 검증하였다.

## 도면

### 도면1




### 도면2




### 도면3




## 서 열 목 록

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

<120> METHOD FOR SELECTING KOREAN GINSENG G-1 USING SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM

<130> KNU1-43P

<160> 15

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 731

<212> DNA

<213> Panax ginseng cv. G-1

<220><221> gene

<222> (1)..(731)

<223> 45S ribosomal RNA gene

<400> 1

gaaccttatc atttagagga aggagaagtc gtaacaaggt ttccgtaggt gaacctgcgg 60

aaggatcatt gtcgaaacct gcatagcaga acgacccgcg aacacgttac aataccgggt 120

gagggacgag gggtgcgcaa gctccccaag ttgcaaaccc atggtcgggg accacccttg 180

ggtggatctc gtccgaacaa cgacccccgg gcgcggaatg cgccaaggaa atcaaactga 240

actgcacgcg tccccccgt ttgcgggcgg cggaagcgtc tttctaaaac acaaacgact 300

ctcggcaacg gatatctcgg ctctcgcatc gatgaagaac gtagcgaaat gcgatacttg 360

gtgtgaattg cagaatcccg tgaaccatcg agtctttgaa cgcaagttgc gcccgaagcc 420

attaggccga gggcacgtct gcctgggcgt cacgcatcgc gtcgcccccc aacccatcac 480

tcccttgcgg gagttgaggc ggaggggcgg ataatggcct cccgtgtctc accgcgcggt 540

tggcccaaat gcgagtcctt ggcgatggac gtcacgacaa gtggtggttg taaaaagccc 600

tcttctcatg tcgtgcggtg acccgtcgcc agcaaaagct ctcatgaccc tgttgcgccg 660

tcctcgacgt gcgctccgac cgygacccca ggtcaggcgg gactacccgc tgagtttaag 720

catatcaata a 731

<210> 2

<211> 731

<212> DNA

<213> Panax ginseng cv. Chunpoong

<220><221> gene

<222> (1)..(731)

<223> 45S ribosomal RNA gene

<400> 2

gaaccttatc atttagagga aggagaagtc gtaacaaggt ttccgtaggt gaacctgcgg 60

aaggatcatt gtcgaaacct gcatagcaga acgacccgcg aacacgttac aataccgggt 120

gagggacgag gggtgcgcaa gctccccaag ttgcaaaccc atggtcgggg accacccttg 180

ggtggatctc gtccgaacaa cgacccccgg gcgcggaatg cgccaaggaa atcaaactga 240

actgcacgcg tccccccgt ttgcgggcgg cggaagcgtc tttctaaaac acaaacgact 300

ctcgacaacg gatatctcgg ctctcgcatc gatgaagaac gtagcgaaat gcgatacttg 360

gtgtgaattg cagaatcccg tgaaccatcg agtctttgaa cgcaagttgc gcccgaagcc 420

attaggccga gggcacgtct gcctgggcgt cacgcatcgc gtcgcccccc aacccatcac 480

tcccttgcgg gagttgaggc ggaggggcgg ataatggcct cccgtgtctc accgcgcggt 540

tggcccaaat gcgagtcctt ggcgatggac gtcacgacaa gtggtggttg taaaaagccc 600

tcttctcatg tcgtgcggtg acccgtcgcc agcaaaagct ctcatgaccc tgttgcgccg 660

tcctcgacgt gcgctccgac cgcgacccca ggtcaggcgg gactacccgc tgagtttaag 720

catatcaata a 731

<210> 3

<211> 731

<212> DNA

<213> Panax ginseng cv. Yunpoong

<220><221> gene

<222> (1)..(731)

<223> 45S ribosomal RNA gene

<400> 3

gaaccttatc atttagagga aggagaagtc gtaacaaggt ttccgtaggt gaacctgcgg 60

aaggatcatt gtcgaaacct gcatagcaga acgacccgcg aacacgttac aataccgggt 120

gagggacgag gggtgcgcaa gctccccaag ttgcaaaccc atggtcgggg accacccttg 180

ggtggatctc gtccgaacaa cgacccccgg gcgcggaatg cgccaaggaa atcaaactga 240

actgcacgcg tccccccgt ttgcgggcgg cggaagcgtc tttctaaaac acaaacgact 300

ctcgacaacg gatatctcgg ctctcgcatc gatgaagaac gtagcgaaat gcgatacttg 360

gtgtgaattg cagaatcccg tgaaccatcg agtctttgaa cgcaagttgc gcccgaagcc 420

attaggccga gggcacgtct gcctgggcgt cacgcatcgc gtcgcccccc aacccatcac 480

tcccttgcgg gagttgaggc ggaggggcgg ataatggcct cccgtgtctc accgcgcggt 540

tggcccaaat gcgagtcctt ggcgatggac gtcacgacaa gtggtggttg taaaaagccc 600

tcttctcatg tcgtgcggtg acccgtcgcc agcaaaagct ctcatgaccc tgttgcgccg 660

tcctcgacgt gcgctccgac cgcgacccca ggtcaggcgg gactacccgc tgagtttaag 720

catatcaata a 731

<210> 4

<211> 731

<212> DNA

<213> Panax ginseng cv. Gopoong

<220><221> gene

<222> (1)..(731)

<223> 45S ribosomal RNA gene

<400> 4

gaaccttatc atttagagga aggagaagtc gtaacaaggt ttccgtaggt gaacctgcgg 60

aaggatcatt gtcgaaacct gcatagcaga acgacccgcg aacacgttac aataccgggt 120

gagggacgag gggtgcgcaa gctccccaag ttgcaaaccc atggtcgggg accacccttg 180

ggtggatctc gtccgaacaa cgacccccgg gcgcggaatg cgccaaggaa atcaaactga 240

actgcacgcg tccccccgt ttgcgggcgg cggaagcgtc tttctaaaac acaaacgact 300

ctcgacaacg gatatctcgg ctctcgcatc gatgaagaac gtagcgaaat gcgatacttg 360

gtgtgaattg cagaatcccg tgaaccatcg agtctttgaa cgcaagttgc gcccgaagcc 420

attaggccga gggcacgtct gcctgggcgt cacgcatcgc gtcgcccccc aacccatcac 480

tcccttgcgg gagttgaggc ggaggggcgg ataatggcct cccgtgtctc accgcgcggt 540

tggcccaaat gcgagtcctt ggcgatggac gtcacgacaa gtggtggttg taaaaagccc 600

tcttctcatg tcgtgcggtg acccgtcgcc agcaaaagct ctcatgaccc tgttgcgccg 660

tcctcgacgt gcgctccgac cgcgacccca ggtcaggcgg gactacccgc tgagtttaag 720

catatcaata a 731

<210> 5

<211> 731

<212> DNA

<213> Panax ginseng cv. Sunpoong

<220><221> gene

<222> (1)..(731)

<223> 45S ribosomal RNA gene

<400> 5

gaaccttatc atttagagga aggagaagtc gtaacaaggt ttccgtaggt gaacctgcgg 60

aaggatcatt gtcgaaacct gcatagcaga acgacccgcg aacacgttac aataccgggt 120

gagggacgag gggtgcgcaa gctccccaag ttgcaaaccc atggtcgggg accacccttg 180

ggtggatctc gtccgaacaa cgacccccgg gcgcggaatg cgccaaggaa atcaaactga 240

actgcacgcg tccccccgt ttgcgggcgg cggaagcgtc tttctaaaac acaaacgact 300

ctcgacaacg gatatctcgg ctctcgcatc gatgaagaac gtagcgaaat gcgatacttg 360

gtgtgaattg cagaatcccg tgaaccatcg agtctttgaa cgcaagttgc gcccgaagcc 420

attaggccga gggcacgtct gcctgggcgt cacgcatcgc gtcgcccccc aacccatcac 480

tcccttgcgg gagttgaggc ggaggggcgg ataatggcct cccgtgtctc accgcgcggt 540

tggcccaaat gcgagtcctt ggcgatggac gtcacgacaa gtggtggttg taaaaagccc 600

tcttctcatg tcgtgcggtg acccgtcgcc agcaaaagct ctcatgaccc tgttgcgccg 660

tcctcgacgt gcgctccgac cgcgacccca ggtcaggcgg gactacccgc tgagtttaag 720

catatcaata a 731

<210> 6

<211> 731

<212> DNA

<213> Panax ginseng cv. Gumpoong

<220><221> gene

<222> (1)..(731)

<223> 45S ribosomal RNA gene

<400> 6

gaaccttatc atttagagga aggagaagtc gtaacaaggt ttccgtaggt gaacctgcgg 60

aaggatcatt gtcgaaacct gcatagcaga acgacccgcg aacacgttac aataccgggt 120

gagggacgag gggtgcgcaa gctccccaag ttgcaaaccc atggtcgggg accacccttg 180

ggtggatctc gtccgaacaa cgacccccgg gcgcggaatg cgccaaggaa atcaaactga 240

actgcacgcg tccccccgt ttgcgggcgg cggaagcgtc tttctaaaac acaaacgact 300

ctcgacaacg gatatctcgg ctctcgcatc gatgaagaac gtagcgaaat gcgatacttg 360

gtgtgaattg cagaatcccg tgaaccatcg agtctttgaa cgcaagttgc gcccgaagcc 420

attaggccga gggcacgtct gcctgggcgt cacgcatcgc gtcgcccccc aacccatcac 480

tcccttgcgg gagttgaggc ggaggggcgg ataatggcct cccgtgtctc accgcgcggt 540

tggcccaaat gcgagtcctt ggcgatggac gtcacgacaa gtggtggttg taaaaagccc 600

tcttctcatg tcgtgcggtg acccgtcgcc agcaaaagct ctcatgaccc tgttgcgccg 660

tcctcgacgt gcgctccgac cgcgacccca ggtcaggcgg gactacccgc tgagtttaag 720

catatcaata a 731

<210> 7

<211> 731

<212> DNA

<213> Panax ginseng cv. Sunwon

<220><221> gene

<222> (1)..(731)

<223> 45S ribosomal RNA gene

<400> 7

gaaccttatc atttagagga aggagaagtc gtaacaaggt ttccgtaggt gaacctgcgg 60

aaggatcatt gtcgaaacct gcatagcaga acgacccgcg aacacgttac aataccgggt 120

gagggacgag gggtgcgcaa gctccccaag ttgcaaaccc atggtcgggg accacccttg 180

ggtggatctc gtccgaacaa cgacccccgg gcgcggaatg cgccaaggaa atcaaactga 240

actgcacgcg tccccccgt ttgcgggcgg cggaagcgtc tttctaaaac acaaacgact 300

ctcgacaacg gatatctcgg ctctcgcatc gatgaagaac gtagcgaaat gcgatacttg 360

gtgtgaattg cagaatcccg tgaaccatcg agtctttgaa cgcaagttgc gcccgaagcc 420

attaggccga gggcacgtct gcctgggcgt cacgcatcgc gtcgcccccc aacccatcac 480

tcccttgcgg gagttgaggc ggaggggcgg ataatggcct cccgtgtctc accgcgcggt 540

tggcccaaat gcgagtcctt ggcgatggac gtcacgacaa gtggtggttg taaaaagccc 600

tcttctcatg tcgtgcggtg acccgtcgcc agcaaaagct ctcatgaccc tgttgcgccg 660

tcctcgacgt gcgctccgac cgcgacccca ggtcaggcgg gactacccgc tgagtttaag 720

catatcaata a 731

<210> 8

<211> 731

<212> DNA

<213> Panax ginseng cv. Chungsun

<220><221> gene

<222> (1)..(731)

<223> 45S ribosomal RNA gene

<400> 8

gaaccttatc atttagagga aggagaagtc gtaacaaggt ttccgtaggt gaacctgcgg 60

aaggatcatt gtcgaaacct gcatagcaga acgacccgcg aacacgttac aataccgggt 120

gagggacgag gggtgcgcaa gctccccaag ttgcaaaccc atggtcgggg accacccttg 180

ggtggatctc gtccgaacaa cgacccccgg gcgcggaatg cgccaaggaa atcaaactga 240

actgcacgcg tccccccgt ttgcgggcgg cggaagcgtc tttctaaaac acaaacgact 300

ctcgacaacg gatatctcgg ctctcgcatc gatgaagaac gtagcgaaat gcgatacttg 360

gtgtgaattg cagaatcccg tgaaccatcg agtctttgaa cgcaagttgc gcccgaagcc 420

attaggccga gggcacgtct gcctgggcgt cacgcatcgc gtcgcccccc aacccatcac 480

tcccttgcgg gagttgaggc ggaggggcgg ataatggcct cccgtgtctc accgcgcggt 540

tggcccaaat gcgagtcctt ggcgatggac gtcacgacaa gtggtggttg taaaaagccc 600

tcttctcatg tcgtgcggtg acccgtcgcc agcaaaagct ctcatgaccc tgttgcgccg 660

tcctcgacgt gcgctccgac cgcgacccca ggtcaggcgg gactacccgc tgagtttaag 720

catatcaata a 731

<210> 9

<211> 731

<212> DNA

<213> Panax ginseng cv. Sunweon

<220><221> gene

<222> (1)..(731)

<223> 45S ribosomal RNA gene

<400> 9

gaaccttatc atttagagga aggagaagtc gtaacaaggt ttccgtaggt gaacctgcgg 60

aaggatcatt gtcgaaacct gcatagcaga acgacccgcg aacacgttac aataccgggt 120

gagggacgag gggtgcgcaa gctccccaag ttgcaaaccc atggtcgggg accacccttg 180

ggtggatctc gtccgaacaa cgacccccgg gcgcggaatg cgccaaggaa atcaaactga 240

actgcacgcg tccccccgt ttgcgggcgg cggaagcgtc tttctaaaac acaaacgact 300

ctcgacaacg gatatctcgg ctctcgcatc gatgaagaac gtagcgaaat gcgatacttg 360

gtgtgaattg cagaatcccg tgaaccatcg agtctttgaa cgcaagttgc gcccgaagcc 420

attaggccga gggcacgtct gcctgggcgt cacgcatcgc gtcgcccccc aacccatcac 480

tcccttgcgg gagttgaggc ggaggggcgg ataatggcct cccgtgtctc accgcgcggt 540

tggcccaaat gcgagtcctt ggcgatggac gtcacgacaa gtggtggttg taaaaagccc 600

tcttctcatg tcgtgcggtg acccgtcgcc agcaaaagct ctcatgaccc tgttgcgccg 660

tcctcgacgt gcgctccgac cgcgacccca ggtcaggcgg gactacccgc tgagtttaag 720

catatcaata a 731

<210> 10

<211> 731

<212> DNA

<213> Panax ginseng cv. Sunhyang

<220><221> gene

<222> (1)..(731)

<223> 45S ribosomal RNA gene

<400> 10

gaaccttatc atttagagga aggagaagtc gtaacaaggt ttccgtaggt gaacctgcgg 60

aaggatcatt gtcgaaacct gcatagcaga acgacccgcg aacacgttac aataccgggt 120

gagggacgag gggtgcgcaa gctccccaag ttgcaaaccc atggtcgggg accacccttg 180

ggtggatctc gtccgaacaa cgacccccgg gcgcggaatg cgccaaggaa atcaaactga 240

actgcacgcg tccccccgt ttgcgggcgg cggaagcgtc tttctaaaac acaaacgact 300

ctcgacaacg gatatctcgg ctctcgcatc gatgaagaac gtagcgaaat gcgatacttg 360

gtgtgaattg cagaatcccg tgaaccatcg agtctttgaa cgcaagttgc gcccgaagcc 420

attaggccga gggcacgtct gcctgggcgt cacgcatcgc gtcgcccccc aacccatcac 480

tcccttgcgg gagttgaggc ggaggggcgg ataatggcct cccgtgtctc accgcgcggt 540

tggcccaaat gcgagtcctt ggcgatggac gtcacgacaa gtggtggttg taaaaagccc 600

tcttctcatg tcgtgcggtg acccgtcgcc agcaaaagct ctcatgaccc tgttgcgccg 660

tcctcgacgt gcgctccgac cgcgacccca ggtcaggcgg gactacccgc tgagtttaag 720

catatcaata a 731

<210> 11

<211> 731

<212> DNA

<213> Panax ginseng cv. K-1

<220><221> gene

<222> (1)..(731)

<223> 45S ribosomal RNA gene

<400> 11

gaaccttatc atttagagga aggagaagtc gtaacaaggt ttccgtaggt gaacctgcgg 60

aaggatcatt gtcgaaacct gcatagcaga acgacccgcg aacacgttac aataccgggt 120

gagggacgag gggtgcgcaa gctccccaag ttgcaaaccc atggtcgggg accacccttg 180

ggtggatctc gtccgaacaa cgacccccgg gcgcggaatg cgccaaggaa atcaaactga 240

actgcacgcg tccccccgt ttgcgggcgg cggaagcgtc tttctaaaac acaaacgact 300

ctcgacaacg gatatctcgg ctctcgcatc gatgaagaac gtagcgaaat gcgatacttg 360

gtgtgaattg cagaatcccg tgaaccatcg agtctttgaa cgcaagttgc gcccgaagcc 420

attaggccga gggcacgtct gcctgggcgt cacgcatcgc gtcgcccccc aacccatcac 480

tcccttgcgg gagttgaggc ggaggggcgg ataatggcct cccgtgtctc accgcgcggt 540

tggcccaaat gcgagtcctt ggcgatggac gtcacgacaa gtggtggttg taaaaagccc 600

tcttctcatg tcgtgcggtg acccgtcgcc agcaaaagct ctcatgaccc tgttgcgccg 660

tcctcgacgt gcgctccgac cgcgacccca ggtcaggcgg gactacccgc tgagtttaag 720

catatcaata a 731

<210> 12

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<400> 12

tctaaaacac aaacgactct agg 23

<210> 13

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<400> 13

gcgagaattc cactgaacc 19

<210> 14

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<400> 14

acgaattccc tccgcttatt gatatgctta 30

<210> 15

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<400> 15

gaccaccctt gggttga 17