



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0165250
(43) 공개일자 2024년11월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/483 (2006.01)

(52) CPC특허분류
G01N 33/4833 (2013.01)

G01N 2333/43569 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0158846

(22) 출원일자 2023년11월16일

심사청구일자 2023년11월16일

(30) 우선권주장

1020230062261 2023년05월15일 대한민국(KR)

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

강태모

서울특별시 성북구 삼선교로16가길 20, 101호 (삼선동2가)

박지은

인천광역시 연수구 원인재로 180, 215동 1801호 (연수동, 연수우성2차아파트)

박성환

서울특별시 서초구 신반포로 9, 81동 401호 (반포동, 반포아파트)

(74) 대리인

특허법인태백

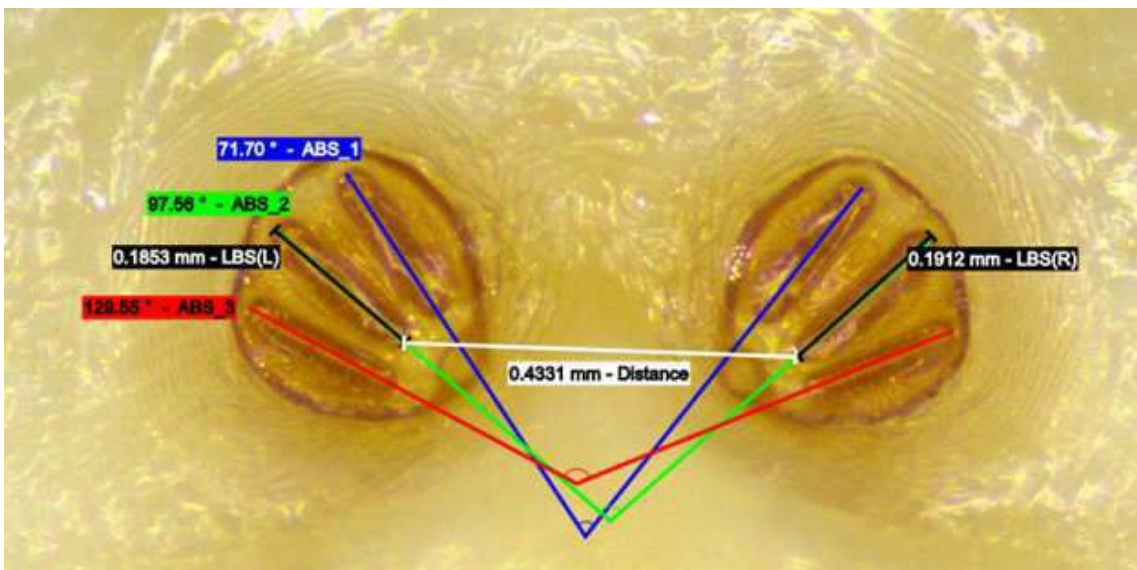
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 후기문을 활용한 형태측정학 기반 파리의 종 동정 방법

(57) 요약

본 발명은 파리의 종 동정 방법에 관한 것으로, 3령 유충(third instar larval) 후기문의 형태학적 특징을 분석하여 종(species) 동정의 기준이 될 적합한 분류지표를 선정하고, 이를 통해 검정파리과(Calliphoridae)에 속하는 큰검정파리(*Calliphora lata*)(la), 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*)(vi), 두꼬리검정파리(*Triceratopyga calliphoroides*)(cl), 연두금파리(*Lucilia illustris*)(il), 금파리(*Lucilia caesar*)(ca), 구리금파리(*Lucilia sericata*)(se), 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*)(mg), 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*)(pi), 및 검정금파리(*Phormia regina*)(re)를 분류하는 방법을 제공하고, 이의 유의성을 통계학적으로 분석하여 높은 정확도를 나타냄을 입증하고, 상기 종 동정의 분류지표가 유충의 성장 정도(몸 길이)와 관련성이 낮다는 것을 확인함으로써, 후기문의 형태학적 이미지를 통한 새로운 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 종 동정 방법을 제공하는 것이다.

대표도 - 도3



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1325164022
과제번호	PR10-04-000-22
부처명	경찰청
과제관리(전문)기관명	경찰대학
연구사업명	과학적범죄수사고도화기술개발
연구과제명	법곤충 감정기법 고도화 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	고려대학교
연구기간	2022.04.01 ~ 2022.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

3령 유충의 형태학적 특징을 이용한 파리의 동정 시스템에 있어서,

파리 집단으로부터 3령 유충(third instar larval)의 후기문(posterior spiracle)을 촬영하여 후기문의 이미지를 수집하는 이미지 수집부;

상기 파리 집단 중 학명이 밝혀진 표준 파리 집단의 후기문 이미지만 추출하고, 추출된 표준 파리의 후기문 이미지로부터 형태학적 특징들을 측정하여 형태학적 데이터로 수집하는 데이터 수집부;

상기 수집된 형태학적 데이터로부터 통계적으로 산출된 평균값, 표준편차값, 최소값, 최대값, 및 중간값을 포함하는 상기 형태학적 데이터의 기준값들을 산출하는 데이터 처리부;

상기 산출된 기준값들로부터 제1 분류 기준 모델 및 제2 분류 기준 모델을 구축하고 상기 표준 파리의 학명에 따라 분류하는 분류 기준 모델 구축부;

상기 파리 집단 중 학명이 밝혀지지 않은 미지 파리 집단의 후기문 이미지만 추출하고, 추출된 미지 파리의 후기문 이미지로부터 형태학적 특징들을 측정하여 측정값을 수집하는 측정값 수집부; 및

상기 제1 분류 기준모델 및 제2 분류 기준모델로부터 제공된 기준값을 상기 측정값과 비교하여 파리를 동정하는 분석부;를 포함하는 파리의 동정 시스템.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 형태학적 특징은,

후기문의 양쪽으로 대칭되는 3쌍의 슬릿(slits)쌍에서 가장 위쪽에 위치한 제1 슬릿쌍(US, Upper slits)이 이루는 각도($^{\circ}$)인 ABS₁;

후기문의 양쪽으로 대칭되는 3쌍의 슬릿(slits)쌍에서 가운데 위치한 제2 슬릿쌍(MS, Middle Slits)이 이루는 각도($^{\circ}$)인 ABS₂;

후기문의 양쪽으로 대칭되는 3쌍의 슬릿(slits)쌍에서 가장 아래쪽에 위치한 제3 슬릿쌍(LS, Lower Slits)이 이루는 각도($^{\circ}$)인 ABS₃;

상기 제2 슬릿의 평균 길이(mm)인 LBS(Length BiSlit); 및

후기문의 양쪽으로 대칭되는 상기 제2 슬릿의 하단 점 사이의 최단 거리(mm)를 상기 LBS로 나눈 값인 DBS(Distance Between Slit);를 포함하는 것을 특징으로 하는 파리의 동정 시스템.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 제1 분류 기준 모델은 상기 형태학적 데이터의 최소값 내지 최대값으로 표현되는 범위들로 구성된 것을 특징으로 하는 파리의 동정 시스템.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 제2 분류 기준 모델은 상기 형태학적 데이터의 중간값들로 구성된 것을 특징으로 하는 파리의 동정 시스템.

청구항 5

3령 유충의 형태학적 특징을 이용한 파리의 동정 시스템으로 파리를 동정하는 방법으로,

동정되지 않은 미지의 파리 3령 유충의 후기문을 촬영하여 얻은 후기문의 이미지를 수집하는 단계;

상기 수집된 이미지로부터 양쪽으로 대칭되는 3쌍의 슬릿(slits)쌍을 확인하고, 대칭의 중심에서부터 가장 위쪽에 위치되는 슬릿쌍부터 제1 슬릿쌍, 제2 슬릿쌍, 및 제3 슬릿쌍으로 인식하는 단계;

상기 3쌍의 슬릿쌍들이 형성하는 각도($^{\circ}$)를 측정하여 각 슬릿쌍의 각도를 측정하여 제1 슬릿쌍이 형성한 각도($^{\circ}$) 값인 ABS_1, 제2 슬릿쌍이 형성한 각도($^{\circ}$) 값인 ABS_2, 및 제3 슬릿쌍이 형성한 각도($^{\circ}$) 값인 ABS_3을 측정하는 단계;

상기 제2 슬릿쌍의 각각의 길이를 측정하여 평균 길이(mm) 값인 LBS(Length BiSlit)를 측정하는 단계;

상기 제2 슬릿의 하단 점 사이의 최단 거리(mm)를 상기 LBS로 나눈 값인 DBS(Distance Between Slit)를 측정하는 단계; 및

상기 파리의 동정 시스템 상 파리의 학명에 따라 구축된 제1 분류 기준 모델들 및 제2 분류 기준 모델들과 상기 ABS_1, ABS_2, ABS_3, LBS, 및 DBS의 측정값들을 비교하여 파리를 동정하는 단계:를 포함하는 파리의 동정 시스템으로 파리를 동정하는 방법.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 파리를 동정하는 단계는,

상기 LBS 측정값을 상기 제1 분류 기준 모델들과 비교하여 상기 LBS 측정값을 포함하는 제1 분류 기준 모델에 해당되는 파리의 학명을 분류 기준 종(species)으로 선별하는 단계;

상기 선별된 분류 기준 종의 제2 분류 기준 모델들의 기준값과 상기 ABS_1, ABS_2, ABS_3, LBS, 및 DBS의 측정값을 비교하여 오차율 절대값을 계산하는 단계; 및

상기 계산된 오차율 절대값의 합산이 가장 낮은 경우의 분류 기준 종으로 상기 미지의 파리를 동정하는 단계:를 포함하는 것을 특징으로 하는 파리의 동정 시스템으로 파리를 동정하는 방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 분류 기준 종(species)을 선별하는 단계에서 상기 제1 분류 기준 모델이 하나만 선별된 경우,

상기 선별된 제1 분류 기준 모델에 해당되는 표준 파리의 학명으로 상기 미지의 파리를 동정하는 것을 특징으로 하는 파리의 동정 시스템으로 파리를 동정하는 방법.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 오차율 절대값은 하기 [수학식 1]에 상기 제2 분류 기준 모델의 기준값과 상기 측정값을 대입하여 산출된 값인 것을 특징으로 하는 파리의 동정 시스템으로 파리를 동정하는 방법.

[수학식 1]

$$\text{오차율} = \frac{|\text{측정값} - \text{기준값}|}{\text{기준값}}$$

청구항 9

3령 유충의 형태학적 특징을 이용한 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 종 동정 방법에 있어서,

(1) 동정하고자 하는 파리의 3령 유충(third instar larval)에서 후기문(posterior spiracle)을 촬영하여 이미지를 준비하는 단계;

(2) 상기 이미지에서 후기문의 양쪽으로 대칭되는 3쌍의 슬릿(slits)쌍을 확인하고, 대칭의 중심에서부터 가장

위쪽에 위치되는 슬릿쌍부터 제1 슬릿쌍, 제2 슬릿쌍, 및 제3 슬릿쌍으로 인식하는 단계;

(3) 상기 제2 슬릿쌍의 각각의 길이를 측정하여 평균 길이(mm) 값인 LBS(Length BiSlit)를 측정하는 단계; 및

(4) 하기 표 1로 표시되는 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 제1 분류 기준 모델과 비교하여 상기 LBS의 측정값을 포함하는 LBS 기준 범위에 해당되는 분류 기준 종(species)을 선별하는 단계;를 포함하는 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 종 동정 방법.

[표 1]

분류 기준 종(species)	LBS 기준 범위
큰검정파리(<i>Calliphora lata</i>)(la)	$0.22 < \text{측정값} \leq 0.26$
붉은뺨검정파리(<i>Calliphora vicina</i>)(vi)	$0.1475 < \text{측정값} \leq 0.19$
두꼬리검정파리(<i>Triceratopyga calliphoroides</i>)(cl)	$0.12 < \text{측정값} \leq 0.1475$
연두금파리(<i>Lucilia illustris</i>)(il)	$0.17 < \text{측정값} \leq 0.20$
금파리(<i>Lucilia caesar</i>)(ca)	$0.18 < \text{측정값} \leq 0.22$
구리금파리(<i>Lucilia sericata</i>)(se)	$0.17 < \text{측정값} \leq 0.21$
검정뺨금파리(<i>Chrysomya megacephala</i>)(mg)	$0.28 < \text{측정값} \leq 0.37$
큰검정뺨금파리(<i>Chrysomya pinguis</i>)(pi)	$0.27 < \text{측정값} \leq 0.36$
검정금파리(<i>Phormia regina</i>)(re)	$0.23 < \text{측정값} \leq 0.27$

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 분류 기준 종(species)이 둘 이상 선별된 경우,

(4) 상기 제1 슬릿쌍이 형성한 각도($^{\circ}$) 값인 ABS_1, 상기 제2 슬릿쌍이 형성한 각도($^{\circ}$) 값인 ABS_2, 상기 제3 슬릿쌍이 형성한 각도($^{\circ}$) 값인 ABS_3, 및 상기 제2 슬릿의 하단 점 사이의 최단 거리(mm)를 상기 LBS로 나눈 값인 DBS(Distance Between Slit)를 측정하는 단계;

(5) 하기 표 2로 표시되는 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 제2 분류 기준 모델에서 제공되는 기준값과 상기 ABS_1, ABS_2, ABS_3, LBS, 및 DBS의 측정값을 비교하여 오차를 절대값을 계산하는 단계; 및

(6) 상기 계산된 오차율 절대값의 합산이 가장 낮은 경우의 분류 기준 종으로 파리를 동정하는 단계;를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 종 동정 방법.

[표 2]

분류 기준 종(species)	분류지표의 기준값				
	ABS_1 ($^{\circ}$)	ABS_2 ($^{\circ}$)	ABS_3 ($^{\circ}$)	DBS	LBS (mm)
큰검정파리(<i>Calliphora lata</i>)(la)	89.0	129.6	164.5	1.291	0.2415
붉은뺨검정파리(<i>Calliphora vicina</i>)(vi)	105.9	128.2	161.9	2.354	0.1687
두꼬리검정파리(<i>Triceratopyga calliphoroides</i>)(cl)	102.6	126.6	158.6	2.457	0.1333
연두금파리(<i>Lucilia illustris</i>)(il)	78.6	109.7	146.8	1.454	0.1888
금파리(<i>Lucilia caesar</i>)(ca)	72.3	105.9	146.1	1.226	0.2046
구리금파리(<i>Lucilia sericata</i>)(se)	76.0	95.7	135.3	1.975	0.1919
검정뺨금파리(<i>Chrysomya megacephala</i>)(mg)	36.2	67.0	103.9	1.234	0.3165
큰검정뺨금파리(<i>Chrysomya pinguis</i>)(pi)	47.5	77.9	115.2	1.161	0.3116
검정금파리(<i>Phormia regina</i>)(re)	43.9	78.9	119.7	1.550	0.2470

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 오차율 절대값은 하기 [수학식 1]에 상기 표 2의 기준값과 상기 ABS_1, ABS_2, ABS_3, LBS, 및 DBS의 측정값을 대입하여 산출된 값인 것을 특징으로 하는 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 종 동정 방법.

[수학적식 1]

$$\text{오차율} = \frac{|\text{측정값} - \text{기준값}|}{\text{기준값}}$$

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 3령 유충 후기문(Posterior Spiracles)의 형태학적 특징을 이용한 파리의 종 동정 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 법곤충학은 법적인 문제의 해결을 위해 곤충 증거를 활용하는 학문이다. 법곤충학에서는 변사체에 발생한 곤충의 유충, 특히 시식성 파리의 유충을 이용한 사후경과시간(postmortem interval)의 추정이 가장 일반적이다. 따라서 시식성 파리의 유충은 법곤충학에서 가장 중요한 감정물이라 할 수 있다. 시식성 파리 중에서도 검정파리와 파리들은 변사체에 가장 먼저 접근하여 산란하는 곤충이기에, 법곤충학 실무에서 시식성 파리 유충의 종 동정은 필수적이다. 하지만 유충에 대한 형태학적 종 동정은 매우 전문적인 작업이고 높은 난이도로 유명하다. 그래서 유충을 성충까지 사육하여 성충의 형태를 관찰하여 종을 확인하는 것이 전통적인 법곤충학적 방법이었다. 형태학적 종 동정의 대안으로는 DNA 바코딩 기법이 널리 활용되고 있다. DNA 바코딩은 다수의 종을 중합효소연쇄반응(PCR)과 염기서열분석이라는 표준화된 방법으로 동정할 수 있지만 시간과 비용이 들어가며, 결과의 해석에 분자진화학적 지식을 요한다는 진입장벽이 있다.

[0003] 이러한 어려움에도 불구하고, 형태학적 종 동정은 별도의 비용 소모가 없고 신속하게 종을 동정할 수 있다는 절대적인 장점이 있다. 실제로, 기존 형태학적 종 동정의 한계점을 극복하기 위한 연구들도 존재한다. 이러한 연구에서는 모든 종에서 발견되는 동일한 구조물을 활용하였고 동일한 구조물로 다수의 종을 동정하기 위해 통계적 방법을 사용하였다. 파리 성충의 날개를 활용해 Landmarks-based geometric morphometrics를 진행한 연구들이 대표적이지만 이 방법은 성충에만 국한된 방법이다. 유충에서 cephalopharyngeal skeleton을 활용하여 Landmarks-based geometric morphometrics를 진행한 연구도 있지만, 이는 전처리가 필수적이라는 단점이 있다. 위의 연구들은 모든 종에서 발견되는 구조물을 활용하였지만, 실제 적용된 종 범위가 좁거나, 전처리가 필요해서 기존 형태학적 종 동정의 한계점을 완전히 극복했다고 할 수는 없었다.

[0004] 본 발명에서는 다수의 종에 적용할 수 있고 쉽고 간편하며, 통일된 방법으로 진행되는 구더기의 형태학적 종 동정법을 개발하기 위해서 모든 구더기가 가지고 있는 구조물인 후기문을 이용하였다. 다수의 연구에서 종 동정 지표로써 후기문의 유의성에 대해 언급하고 있으나 유충의 후기문을 이용하여 종을 분석하는 정형화된 방법에 대해서는 아직 개발된 바 없다. 본 발명에서는 파리의 3령 유충의 후기문의 형태학적 특징을 정형화할 수 있는 새로운 지표를 제안하고, 이 지표를 활용하여 3령 유충의 파리 종을 동정하는 방법을 제안하고자 한다. 본 발명에서는 한국의 변사 사건에서 가장 높은 출현율을 보이는 9종의 검정파리과(Calliphoridae) 유충을 통해 파리 종 동정 방법의 유효성을 검증하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 한국등록특허공보 제10-2099457호 (2020. 04. 10. 공고)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 3령 유충의 형태학적 특징을 이용한 파리의 종 동정 시스템에 관한 것으로, 모든 파리의 3령 유충이 가지고 있는 형태학적 구조인 3쌍의 슬릿(Slits)을 활용하여 형태학적 특징을 정형화할 수 있는 지표를 발굴하고, 오차율을 기반으로 EBM(Error rate-based morphometrics)이라는 새로운 분류 방식을 고안하여 새로운 방식

의 파리 종 동정 방법을 개발하였으며, 이를 검정파리과(Calliphoridae)에 속하는 큰검정파리(*Calliphora lata*)(la), 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*)(vi), 두꼬리검정파리(*Triceratopyga calliphoroides*)(cl), 연두금파리(*Lucilia illustris*)(il), 금파리(*Lucilia caesar*)(ca), 구리금파리(*Lucilia sericata*)(se), 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*)(mg), 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*)(pi), 및 검정금파리(*Phormia regina*)(re)에 적용함으로써, 통계적으로 파리 종 동정의 유효성을 검증하여 새로운 파리의 종 동정 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명은 3령 유충의 형태학적 특징을 이용한 파리의 동정 시스템에 있어서, 파리 집단으로부터 3령 유충(third instar larval)의 후기문(posterior spiracle)을 촬영하여 후기문의 이미지를 수집하는 이미지 수집부; 상기 파리 집단 중 학명이 밝혀진 표준 파리 집단의 후기문 이미지만 추출하고, 추출된 표준 파리 집단의 후기문 이미지로부터 형태학적 특징들을 측정하여 형태학적 데이터로 수집하는 데이터 수집부; 상기 수집된 형태학적 데이터로부터 통계적으로 산출된 평균값, 표준편차값, 최소값, 최대값, 및 중간값을 포함하는 상기 형태학적 데이터의 기준값들을 산출하는 데이터 처리부; 상기 산출된 기준값들로부터 제1 분류 기준 모델 및 제2 분류 기준 모델을 구축하고 상기 표준 파리의 학명에 따라 분류하는 분류 기준 모델 구축부; 상기 파리 집단 중 학명이 밝혀지지 않은 미지 파리 집단의 후기문 이미지만 추출하고, 추출된 미지 파리 집단의 후기문 이미지로부터 형태학적 특징들을 측정하여 측정값을 수집하는 측정값 수집부; 및 상기 제1 분류 기준모델 및 제2 분류 기준모델로부터 제공된 기준값을 상기 측정값과 비교하여 파리를 동정하는 분석부;를 포함하는 파리의 동정 시스템을 제공한다.

[0008] 또한, 본 발명은 3령 유충의 형태학적 특징을 이용한 파리의 동정 시스템으로 파리를 동정하는 방법으로, 동정되지 않은 미지의 파리 3령 유충의 후기문을 촬영하여 얻은 후기문의 이미지를 수집하는 단계; 상기 수집된 이미지로부터 양쪽으로 대칭되는 3쌍의 슬릿(slits)쌍을 확인하고, 대칭의 중심에서부터 가장 위쪽에 위치되는 슬릿쌍부터 제1 슬릿쌍, 제2 슬릿쌍, 및 제3 슬릿쌍으로 인식하는 단계; 상기 3쌍의 슬릿쌍들이 형성하는 각도($^{\circ}$)를 측정하여 각 슬릿쌍의 각도를 측정하여 제1 슬릿쌍이 형성한 각도($^{\circ}$) 값인 ABS_1, 제2 슬릿쌍이 형성한 각도($^{\circ}$) 값인 ABS_2, 및 제3 슬릿쌍이 형성한 각도($^{\circ}$) 값인 ABS_3을 측정하는 단계; 상기 제2 슬릿쌍의 각각의 길이를 측정하여 평균 길이(mm) 값인 LBS(Length BiSlit)를 측정하는 단계; 상기 제2 슬릿의 하단 점 사이의 최단 거리(mm)를 상기 LBS로 나눈 값인 DBS(Distance Between Slit)를 측정하는 단계; 및 상기 파리의 동정 시스템 상 파리의 학명에 따라 구축된 제1 분류 기준 모델들 및 제2 분류 기준 모델들과 상기 ABS_1, ABS_2, ABS_3, LBS, 및 DBS의 측정값들을 비교하여 파리를 동정하는 단계;를 포함하는 파리의 동정 시스템으로 파리를 동정하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0009] 본 발명에 따르면, 3령 유충(third instar larval) 후기문의 형태학적 특징을 분석하여 종(species) 동정의 기준이 될 적합한 분류지표를 선정하고, 이를 통해 검정파리과(Calliphoridae)에 속하는 큰검정파리(*Calliphora lata*)(la), 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*)(vi), 두꼬리검정파리(*Triceratopyga calliphoroides*)(cl), 연두금파리(*Lucilia illustris*)(il), 금파리(*Lucilia caesar*)(ca), 구리금파리(*Lucilia sericata*)(se), 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*)(mg), 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*)(pi), 및 검정금파리(*Phormia regina*)(re)를 분류하는 방법을 제공하고, 이의 유의성을 통계학적으로 분석하여 높은 정확도를 나타냄을 입증하고, 상기 종 동정의 분류지표가 유충의 성장 정도(몸 길이)와 관련성이 낮다는 것을 확인함으로써, 후기문의 형태학적 이미지를 통한 새로운 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 종 동정 방법을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0010] 도 1은 검정파리과(Calliphoridae)에 속하는 파리의 3령 유충(third instar larval) 후기문을 촬영한 사진이다.

도 2는 검정파리과(Calliphoridae) 9종의 분류지표를 측정하여 종별로 개별 분류지표에 해당되는 Boxplots을 작성한 결과이다. 도 2a는 ABS_1에 관한 것이고, 도 2b는 ABS_2에 관한 것이고, 도 2c는 ABS_3에 관한 것이고, 도 2d는 DBS에 관한 것이고, 도 2e는 LBS에 관한 것이다.

도 3은 본 발명에 따른 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 종 동정 방법을 미지의 샘플에 적용한 것으로 미지의 파리 샘플의 3령 유충(third instar larval) 후기문에서 5종의 분류지표(ABS_1, ABS_2, ABS_3, LBS, 및 DBS)를

측정한 결과이다.

도 4a는 검정금파리(*Phormia regina*)의 3종의 분류 지표(ABS_2, DBS, 및 LBS)에 대한 상관관계를 Heatmap으로 분석한 결과이다.

도 4b는 검정금파리(*Phormia regina*)의 몸길이(Length)에 대한 ABS_2의 분포 패턴을 Scatter plot으로 작성한 결과이다.

도 4c는 검정금파리(*Phormia regina*)의 몸길이(Length)에 대한 DBS의 분포 패턴을 Scatter plot으로 작성한 결과이다.

도 4d는 검정금파리(*Phormia regina*)의 몸길이(Length)에 대한 LBS의 분포 패턴을 Scatter plot으로 작성한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0011] 본 명세서에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 판례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의되어야 한다.
- [0012] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0013] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [0014] 본 발명에서는 3령 유충의 형태학적 특징을 이용한 파리의 동정 시스템을 개발하고, 파리의 형태학적 특징으로 3쌍의 슬릿(Slits)을 활용하여 ABS, DBS, LBS라는 새로운 지표를 발굴하였다. ABS는 Angle between Slits의 약자로, 양쪽 슬릿쌍이 이루는 각도를 의미한다. DBS는 Distance between Slits으로 두 번째 슬릿의 길이와 두 번째 슬릿 사이의 거리가 이루는 비율을 의미한다. LBS는 Length BiSlit으로 두 번째 슬릿의 평균 길이를 의미한다. 모든 지표는 슬릿의 말단부 중앙을 기준으로 지표를 측정되며, 슬릿의 형태와 상관없이 검정파리과(Calliphoridae), 쉬파리과(Sarcophagidae), 집파리과(Muscidae)에서 모두 적용 가능한 장점이 있다. 상기 세 가지 지표에 대해서 오차율을 기반으로 EBM(Error rate-based morphometrics)이라는 새로운 파리종 분류 방식을 개발하였다. 본 발명에 따른 파리종 분류 방식을 9종의 검정파리과(Calliphoridae)에 적용하여 유효성을 검증하였으며, 다수의 검정금파리(*Phormia regina*) 개체를 통해 새롭게 발굴된 지표가 파리 유충의 성장 단계에 관계없이 형태학적으로 유효한 값임을 입증하였다.
- [0015] 본 발명은 3령 유충의 형태학적 특징을 이용한 파리의 동정 시스템에 있어서, 파리 집단으로부터 3령 유충(third instar larval)의 후기문(posterior spiracle)을 촬영하여 후기문의 이미지를 수집하는 이미지 수집부; 상기 파리 집단 중 학명이 밝혀진 표준 파리 집단의 후기문 이미지만 추출하고, 추출된 표준 파리 집단의 후기문 이미지로부터 형태학적 특징들을 측정하여 형태학적 데이터로 수집하는 데이터 수집부; 상기 수집된 형태학적 데이터로부터 통계적으로 산출된 평균값, 표준편차값, 최소값, 최대값, 및 중간값을 포함하는 상기 형태학적 데이터의 기준값들을 산출하는 데이터 처리부; 상기 산출된 기준값들로부터 제1 분류 기준 모델 및 제2 분류 기준 모델을 구축하고 상기 표준 파리의 학명에 따라 분류하는 분류 기준 모델 구축부; 상기 파리 집단 중 학명이 밝혀지지 않은 미지 파리 집단의 후기문 이미지만 추출하고, 추출된 미지 파리 집단의 후기문 이미지로부터 형태학적 특징들을 측정하여 측정값을 수집하는 측정값 수집부; 및 상기 제1 분류 기준모델 및 제2 분류 기준모델로부터 제공된 기준값을 상기 측정값과 비교하여 파리를 동정하는 분석부;를 포함하는 파리의 동정 시스템을 제공한다.
- [0016] 상기 형태학적 특징은, 유충의 구기부가 아래쪽, 배부가 위쪽을 향하도록 배치된 후기문 사진에서 후기문의 양쪽으로 대칭되는 3쌍의 슬릿(slits)쌍에서 가장 위쪽에 위치한 제1 슬릿쌍(US, Upper slits)이 이루는 각도($^{\circ}$)인 ABS_1; 후기문의 양쪽으로 대칭되는 3쌍의 슬릿(slits)쌍에서 가운데 위치한 제2 슬릿쌍(MS, Middle Slits)이 이루는 각도($^{\circ}$)인 ABS_2; 후기문의 양쪽으로 대칭되는 3쌍의 슬릿(slits)쌍에서 가장 아래쪽에 위치

한 제3 슬릿쌍(LS, Lower Slits)이 이루는 각도($^{\circ}$)인 ABS_3; 상기 제2 슬릿의 평균 길이(mm)인 LBS(Length BiSlit); 및 후기문의 양쪽으로 대칭되는 상기 제2 슬릿의 하단 점 사이의 최단 거리(mm)를 상기 LBS로 나눈 값인 DBS(Distance Between Slit);를 포함한다.

[0017] 상기 제1 분류 기준 모델은 상기 형태학적 데이터의 최소값 내지 최대값으로 표현되는 범위들로 구성되며, 바람직하게는 상기 제1 분류 기준 모델은 상기 제2 슬릿의 평균 길이(mm)인 LBS(Length BiSlit)의 최소값 내지 최대값이다. 상기 제2 분류 기준 모델은 상기 형태학적 데이터의 중간값들로 구성되며, 바람직하게는 상기 제2 분류 기준 모델은 ABS_1; ABS_2; ABS_3; LBS(Length BiSlit); 및 DBS(Distance Between Slit)의 중간값들로 구성된다. 상기 제1 분류 기준 모델 및 제2 분류 기준 모델은 학명이 밝혀진 표준 파리 집단으로부터 수집된 형태학적 데이터에 따라 결정되며, 파리종에 따라 분류 기준 모델이 달라진다.

[0018] 또한, 본 발명은 3령 유충의 형태학적 특징을 이용한 파리의 동정 시스템으로 파리를 동정하는 방법으로, 동정되지 않은 미지의 파리 3령 유충의 후기문을 촬영하여 얻은 후기문의 이미지를 수집하는 단계; 상기 수집된 이미지로부터 양쪽으로 대칭되는 3쌍의 슬릿(slits)쌍을 확인하고, 대칭의 중심에서부터 가장 위쪽에 위치되는 슬릿쌍부터 제1 슬릿쌍, 제2 슬릿쌍, 및 제3 슬릿쌍으로 인식하는 단계; 상기 3쌍의 슬릿쌍들이 형성하는 각도($^{\circ}$)를 측정하여 각 슬릿쌍의 각도를 측정하여 제1 슬릿쌍이 형성한 각도($^{\circ}$) 값인 ABS_1, 제2 슬릿쌍이 형성한 각도($^{\circ}$) 값인 ABS_2, 및 제3 슬릿쌍이 형성한 각도($^{\circ}$) 값인 ABS_3을 측정하는 단계; 상기 제2 슬릿쌍의 각각의 길이를 측정하여 평균 길이(mm) 값인 LBS(Length BiSlit)를 측정하는 단계; 상기 제2 슬릿의 하단 점 사이의 최단 거리(mm)를 상기 LBS로 나눈 값인 DBS(Distance Between Slit)를 측정하는 단계; 및 상기 파리의 동정 시스템 상 파리의 학명에 따라 구축된 제1 분류 기준 모델들 및 제2 분류 기준 모델들과 상기 ABS_1, ABS_2, ABS_3, LBS, 및 DBS의 측정값들을 비교하여 파리를 동정하는 단계;를 포함하는 파리의 동정 시스템으로 파리를 동정하는 방법을 제공한다.

[0019] 상기 파리를 동정하는 단계는, 상기 LBS 측정값을 상기 제1 분류 기준 모델들과 비교하여 상기 LBS 측정값을 포함하는 제1 분류 기준 모델에 해당되는 파리의 학명을 분류 기준 종(species)으로 선별하는 단계; 상기 선별된 분류 기준 종의 제2 분류 기준 모델들의 기준값과 상기 ABS_1, ABS_2, ABS_3, LBS, 및 DBS의 측정값을 비교하여 오차를 절대값을 계산하는 단계; 및 상기 계산된 오차율 절대값의 합산이 가장 낮은 경우의 분류 기준 종으로 상기 미지의 파리를 동정하는 단계;를 포함한다.

[0020] 상기 분류 기준 종(species)을 선별하는 단계에서 상기 제1 분류 기준 모델이 하나만 선별된 경우, 상기 선별된 제1 분류 기준 모델에 해당되는 표준 파리의 학명으로 상기 미지의 파리를 동정한다.

[0021] 상기 오차율 절대값은 하기 [수학식 1]에 상기 제2 분류 기준 모델의 기준값과 상기 측정값을 대입하여 산출된 값이다.

[0022] [수학식 1]

$$\text{오차율} = \frac{|\text{측정값} - \text{기준값}|}{\text{기준값}}$$

[0023]

[0024] 또한, 본 발명의 발명자들은 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 종 동정 방법으로, 검정파리과(Calliphoridae)에 속하는 큰검정파리(*Calliphora lata*)(la), 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*)(vi), 두꼬리검정파리(*Triceratopyga calliphoroides*)(cl), 연두금파리(*Lucilia illustris*)(il), 금파리(*Lucilia caesar*)(ca), 구리금파리(*Lucilia sericata*)(se), 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*)(mg), 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*)(pi), 및 검정금파리(*Phormia regina*)(re)의 3령 유충을 151 샘플을 확보하여 3령 유충(third instar larval) 후기문의 형태학적 특징을 분석하고, 상기의 형태학적 특징을 이용하여 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 제1 분류 기준 모델 및 제2 분류 기준 모델을 설계하여 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 종 동정 방법을 제공한다.

[0025] 상기 형태학적 특징은 ABS_1, ABS_2, ABS_3, DBS 및 LBS로 이루어지며, 상기 ABS(angle between slits)는 후기문(posterior spiracle)의 양쪽(bilateral) 대칭된 슬릿쌍(slits)이 이루는 각도($^{\circ}$)를 의미하며, 상기 ABS_1는 대칭된 슬릿쌍 중 가장 위쪽에 위치한 제1 슬릿쌍이 이루는 각도($^{\circ}$)를 의미하고, 상기 ABS_2는 대칭된 슬릿쌍 중 가운데 위치한 제2 슬릿쌍이 이루는 각도($^{\circ}$)를 의미하고, 상기 ABS_3은 대칭되는 슬릿쌍 중 가장 아래쪽에 위치한 제3 슬릿쌍이 이루는 각도($^{\circ}$)를 의미한다. 상기 DBS(Distance Between Slits)는 제2 슬릿쌍 사이의 최단 거리(mm) 및 제2 슬릿의 평균 길이(mm)의 비율(거리/길이)을 의미하고, 상기 LBS(Length Bislit)는 제2 슬

릿의 평균 길이(mm)를 의미한다.

[0026] 본 발명에서는 수집된 형태학적 특징들 중에서 통계적으로 분석한 결과 LBS 지표가 상기 검정파리과(Calliphoridae) 9종이 구분되는 분류지표의 표준편차의 범위가 가장 작은 것을 확인하였다.

[0027] 본 발명의 일실시예에 따른 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 종 동정 방법은 제1 분류 기준 모델을 이용한 1차 분류 단계와 1차 분류 단계를 통해서 선발된 분류 기준 종(species)의 제1 분류 기준 모델과 비교하여 파리 종을 동정하는 2차 분류 단계로 구성된다.

[0028] 구체적으로 본 발명에 따른 일 실시예에서는 3령 유충의 형태학적 특징을 이용한 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 종 동정 방법에 있어서, (1) 동정하고자 하는 파리의 3령 유충(third instar larval)에서 후기문(posterior spiracle)을 촬영하여 이미지를 준비하는 단계; (2) 상기 이미지에서 후기문의 양쪽으로 대칭되는 3쌍의 슬릿(slits)쌍을 확인하고, 대칭의 중심에서부터 가장 위쪽에 위치되는 슬릿쌍부터 제1 슬릿쌍, 제2 슬릿쌍, 및 제3 슬릿쌍으로 인식하는 단계; (3) 상기 제2 슬릿쌍의 각각의 길이를 측정하여 평균 길이(mm) 값인 LBS(Length BiSlit)를 측정하는 단계; 및 (4) 하기 표 1로 표시되는 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 제1 분류 기준 모델과 비교하여 상기 LBS의 측정값을 포함하는 LBS 기준 범위에 해당되는 분류 기준 종(species)을 선별하는 단계;를 포함하는 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 종 동정 방법을 제공한다.

표 1

분류 기준 종(species)	LBS 기준 범위
큰검정파리(<i>Calliphora lata</i>)(la)	$0.22 < \text{측정값} \leq 0.26$
붉은뺨검정파리(<i>Calliphora vicina</i>)(vi)	$0.1475 < \text{측정값} \leq 0.19$
두꼬리검정파리(<i>Triceratopyga calliphoroides</i>)(cl)	$0.12 < \text{측정값} \leq 0.1475$
연두금파리(<i>Lucilia illustris</i>)(il)	$0.17 < \text{측정값} \leq 0.20$
금파리(<i>Lucilia caesar</i>)(ca)	$0.18 < \text{측정값} \leq 0.22$
구리금파리(<i>Lucilia sericata</i>)(se)	$0.17 < \text{측정값} \leq 0.21$
검정뺨금파리(<i>Chrysomya megacephala</i>)(mg)	$0.28 < \text{측정값} \leq 0.37$
큰검정뺨금파리(<i>Chrysomya pinguis</i>)(pi)	$0.27 < \text{측정값} \leq 0.36$
검정금파리(<i>Phormia regina</i>)(re)	$0.23 < \text{측정값} \leq 0.27$

[0029]

[0030] 구체적으로 상기 1차 분류 단계에서는 분류지표로 LBS의 범위(mm)가 사용되며, 종을 동정하고자 하는 파리의 샘플로부터 측정된 LBS의 측정값이 각 분류 기준 종에 해당되는 LBS 기준 범위에 속하는지 여부로 검정파리과(Calliphoridae) 파리를 동정할 수 있다. 상기 LBS의 측정값이 0.22 mm 초과하거나 0.26 mm 이하에 해당되면 분류 기준 종으로 큰검정파리(*Calliphora lata*)(la)가 선별된다. 상기 LBS의 측정값이 0.1475 mm 초과하거나 0.19 mm 이하에 해당되면 분류 기준 종으로 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*)(vi)가 선별된다. 상기 LBS의 측정값이 0.12 mm 초과하거나 0.1475 mm 이하에 해당되면 분류 기준 종으로 두꼬리검정파리(*Triceratopyga calliphoroides*)(cl)가 선별된다. 상기 LBS의 측정값이 0.17 mm 초과하거나 0.20 mm 이하에 해당되면 분류 기준 종으로 연두금파리(*Lucilia illustris*)(il)가 선별된다. 상기 LBS의 측정값이 0.18 mm 초과하거나 0.22 mm 이하에 해당되면 분류 기준 종으로 금파리(*Lucilia caesar*)(ca)가 선별된다. 상기 LBS의 측정값이 0.17 mm 초과하거나 0.21 mm 이하에 해당되면 분류 기준 종으로 구리금파리(*Lucilia sericata*)(se)가 선별된다. 상기 LBS의 측정값이 0.28 mm 초과하거나 0.37 mm 이하에 해당되면 분류 기준 종으로 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*)(mg)가 선별된다. 상기 LBS의 측정값이 0.27 mm 초과하거나 0.36 mm 이하에 해당되면 분류 기준 종으로 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*)(pi)가 선별된다. 상기 LBS의 측정값이 0.23 mm 초과하거나 0.27 mm 이하에 해당되면 분류 기준 종으로 검정금파리(*Phormia regina*)(re)가 선별된다.

[0031] 상기 1차 분류 단계에서 LBS의 측정값에 따라 분류 기준 종은 1종만 선별되거나, 최대 4종이 선별된다. 상기 분류 기준 종이 1종만 선별되는 경우, 선별된 분류 기준 종으로 샘플의 파리를 동정할 수 있다. 상기 분류 기준 종이 2종 이상 선별된 경우 2차 분류 단계를 수행한다. 구체적으로 상기 분류 기준 종(species)이 둘 이상 선별된 경우, (4) 상기 제1 슬릿쌍이 형성한 각도($^{\circ}$) 값인 ABS_1, 상기 제2 슬릿쌍이 형성한 각도($^{\circ}$) 값인 ABS_2, 상기 제3 슬릿쌍이 형성한 각도($^{\circ}$) 값인 ABS_3, 및 상기 제2 슬릿의 하단 점 사이의 최단 거리(mm)를 상기 LBS

로 나눈 값인 DBS(Distance Between Slit)를 측정하는 단계; (5) 하기 표 2로 표시되는 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 제2 분류 기준 모델에서 제공되는 기준값과 상기 ABS_1, ABS_2, ABS_3, LBS, 및 DBS의 측정값을 비교하여 오차를 절대값을 계산하는 단계; 및 (6) 상기 계산된 오차의 절대값의 합산이 가장 낮은 경우의 분류 기준 종류로 파리를 동정하는 단계;를 추가로 포함한다.

표 2

분류 기준 종(species)	분류지표의 기준값				
	ABS_1 (°)	ABS_2 (°)	ABS_3 (°)	DBS	LBS (mm)
큰검정파리(<i>Calliphora lata</i>)(la)	89.0	129.6	164.5	1.291	0.2415
붉은뺨검정파리(<i>Calliphora vicina</i>)(vi)	105.9	128.2	161.9	2.354	0.1687
두꼬리검정파리(<i>Triceratopyga calliphoroides</i>)(cl)	102.6	126.6	158.6	2.457	0.1333
연두금파리(<i>Lucilia illustris</i>)(il)	78.6	109.7	146.8	1.454	0.1888
금파리(<i>Lucilia caesar</i>)(ca)	72.3	105.9	146.1	1.226	0.2046
구리금파리(<i>Lucilia sericata</i>)(se)	76.0	95.7	135.3	1.975	0.1919
검정뺨금파리(<i>Chrysomya megacephala</i>)(mg)	36.2	67.0	103.9	1.234	0.3165
큰검정뺨금파리(<i>Chrysomya pinguis</i>)(pi)	47.5	77.9	115.2	1.161	0.3116
검정금파리(<i>Phormia regina</i>)(re)	43.9	78.9	119.7	1.550	0.2470

[수학식 1]

$$\text{오차율} = \frac{|\text{측정값} - \text{기준값}|}{\text{기준값}}$$

구체적으로 1차 분류 단계에서 분류 기준 종류로 큰검정파리(*Calliphora lata*)(la)가 선별되면, ABS_1의 기준값은 89.0°, ABS_2의 기준값은 129.6°, ABS_3의 기준값은 164.5°, DBS의 기준값은 1.291, LBS의 기준값은 0.2415 mm을 사용한다. 1차 분류 단계에서 분류 기준 종류로 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*)(vi)가 선별되면, ABS_1의 기준값은 105.9°, ABS_2의 기준값은 128.2°, ABS_3의 기준값은 161.9°, DBS의 기준값은 2.354, LBS의 기준값은 0.1687 mm을 사용한다. 1차 분류 단계에서 분류 기준 종류로 두꼬리검정파리(*Triceratopyga calliphoroides*)(cl)가 선별되면, ABS_1의 기준값은 102.6°, ABS_2의 기준값은 126.6°, ABS_3의 기준값은 158.6°, DBS의 기준값은 2.457, LBS의 기준값은 0.1333 mm을 사용한다. 1차 분류 단계에서 분류 기준 종류로 연두금파리(*Lucilia illustris*)(il)가 선별되면, ABS_1의 기준값은 78.6°, ABS_2의 기준값은 109.7°, ABS_3의 기준값은 146.8°, DBS의 기준값은 1.454, LBS의 기준값은 0.1884 mm을 사용한다. 1차 분류 단계에서 분류 기준 종류로 금파리(*Lucilia caesar*)(ca)가 선별되면, ABS_1의 기준값은 72.3°, ABS_2의 기준값은 105.9°, ABS_3의 기준값은 146.1°, DBS의 기준값은 1.226, LBS의 기준값은 0.2046 mm을 사용한다. 1차 분류 단계에서 분류 기준 종류로 구리금파리(*Lucilia sericata*)(se)가 선별되면, ABS_1의 기준값은 76.0°, ABS_2의 기준값은 95.7°, ABS_3의 기준값은 135.3°, DBS의 기준값은 1.975, LBS의 기준값은 0.1919 mm을 사용한다. 1차 분류 단계에서 분류 기준 종류로 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*)(mg)가 선별되면, ABS_1의 기준값은 36.2°, ABS_2의 기준값은 67.0°, ABS_3의 기준값은 103.9°, DBS의 기준값은 1.234, LBS의 기준값은 0.3165 mm을 사용한다. 1차 분류 단계에서 분류 기준 종류로 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*)(pi)가 선별되면, ABS_1의 기준값은 47.5°, ABS_2의 기준값은 77.9°, ABS_3의 기준값은 115.2°, DBS의 기준값은 1.161, LBS의 기준값은 0.3116 mm을 사용한다. 1차 분류 단계에서 분류 기준 종류로 검정금파리(*Phormia regina*)(re)가 선별되면, ABS_1의 기준값은 43.9°, ABS_2의 기준값은 78.9°, ABS_3의 기준값은 119.7°, DBS의 기준값은 1.550, LBS의 기준값은 0.2470 mm을 사용한다.

이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실험예 및 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실험예 및 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실험예 및 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실험예 및 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

<실험예> 실험 재료 및 방법

[0038] 하기의 실험예들은 본 발명에 따른 각각의 실시예에 공통적으로 적용되는 실험예를 제공하기 위한 것이다.

[0039] 1. 샘플 채집

[0040] 샘플 채집은 한국에 서식하는 주요 시식성 파리 중 실제 사건에서 높은 출현율을 나타내는 검정파리과(Calliphoridae)의 3령 유충을 대상으로 진행되었다. 실험실 환경에서 발생할 수 있는 인위적인 영향을 배제하고자 실제 사건과 돼지부패실험에서만 샘플을 채집하였다. 한국에서 출현율이 높은 9종의 검정파리과인 큰검정파리(*Calliphora lata*)(la), 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*)(vi), 두꼬리검정파리(*Triceratopyga calliphoroides*)(cl), 연두금파리(*Lucilia illustris*)(il), 금파리(*Lucilia caesar*)(ca), 구리금파리(*Lucilia sericata*)(se), 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*)(mg), 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*)(pi), 및 검정금파리(*Phormia regina*)(re)의 3령 유충을 샘플로 확보하였다. 상기의 샘플들은 고려대학교 부검실(KU), 서울(Seoul), 인천(Incheon), 파주(Paju), 의정부(Uijeongbu), 부산(Busan)의 실제 변사사건과 고려대학교 덕소 농장(KU), 아산 경찰연수원(KPIA)에서 진행된 돼지부패실험을 통해 채집되었다. 상기 샘플들은 뜨거운 물($\geq 80^{\circ}\text{C}$)에 30초 이상 삶은 후 70% 에탄올에 액침시켜 보관하였다.

[0041] 2. 분류지표에 대한 기초 데이터 확보

[0042] 채집된 샘플들 중에서 초기(early stage)의 3령 유충, 손상된 개체, 오염된 개체 등을 제외한 성숙한 3령 유충만을 샘플로 선정한 후, 후기문부(말단부 후면)(anal division) 이미지를 촬영하였다(도 1). 이미지는 SZX10 실체현미경(Olympus, Tokyo, Japan)과 ECMOS05300KPA 디지털 카메라(Sony, Konan, Japan)를 활용하여 수집되었으며, 후기문이 수평을 이루도록 촬영하였다. 각 샘플에서 촬영된 이미지에서 개별 분류지표(ABS_1, ABS_2, ABS_3, DBS, 및 LBS)를 모두 측정할 수 있는 경우에만 데이터로 활용되었다. 최종적으로 24건의 사건에서 151개체가 샘플로 활용되었으며, 각 개체별로 분류지표(ABS_1, ABS_2, ABS_3, DBS, 및 LBS)를 측정하여 데이터로 수집하였다. 최종 선발된 샘플의 종 및 구분은 하기 표 3과 같다. 개별 분류지표는 ToupView(ToupTek Photonics, Hangzhou, China)를 통해 측정되었다. 종 동정은 Exgene Tissue SV mini kit(GeneAll, Seoul, Korea)를 활용한 COI Barcoding을 통해 진행되었다.

표 3

[0043]

Subfamily	Species	Number of samples	Collection sites
<i>Calliphorinae</i>	<i>Calliphora lata</i> (la)	21	Incheon, Busan
	<i>Calliphora vicina</i> (vi)	18	KU, Busan
	<i>Triceratopyga calliphoroides</i> (cl)	14	KU
<i>Luciliinae</i>	<i>Lucilia illustris</i> (il)	25	KU
	<i>Lucilia caesar</i> (ca)	13	KU
	<i>Lucilia sericata</i> (se)	13	KU, Seoul
<i>Chrysomyinae</i>	<i>Chrysomya megacephala</i> (mg)	17	Incheon, Paju
	<i>Chrysomya pinguis</i> (pi)	18	Incheon, KPIA
	<i>Phormia regina</i> i	12	KU, Uijeongbu

[0044] *KU: Korea University Autopsy Room & Korea University Deokso Farm

[0045] *KPIA: Korean Police Investigation Academy

[0046] 통계 프로그램 R (ver. 4.2.3)을 통해 개별 지표에 대한 종별 개체 수(obs), 평균(mean), 표준편차(sd), 최솟값(min), 최댓값(max), 중간값(median)에 대한 각각의 종별 기초 통계자료(표 4 내지 표 8)를 확보하였다.

표 4

[0047]

ABS_1 (°)	la	vi	cl	il	ca	se	mg	pi	re
obs	21	18	14	25	13	13	17	18	12
mean	91.6	106.4	102.3	77.4	72.8	74.9	38.0	47.8	43.6
sd	10.3	11.1	9.4	5.3	6.9	7.2	5.8	5.7	7.2
min	73.1	90.9	86.0	66.0	60.1	64.3	31.8	36.7	34.2
max	109.4	131.2	115.2	86.3	86.3	84.9	51.6	55.8	56.3

median	89.0	105.9	102.6	78.5	72.3	76.0	36.2	47.5	43.9
--------	------	-------	-------	------	------	------	------	------	------

표 5

[0048]

ABS_2 (°)	la	vi	cl	il	ca	se	mg	pi	re
obs	21	18	14	25	13	13	17	18	12
mean	127.3	130.3	125.3	108.8	106.3	97.1	68.3	76.6	78.0
sd	9.2	9.1	9.0	5.4	5.4	7.6	8.3	7.0	6.2
min	106.7	117.7	102.5	97.3	98.0	81.9	57.8	64.5	69.0
max	143.8	148.7	139.1	118.6	117.0	107.7	86.7	87.2	85.5
median	129.6	128.2	126.6	109.5	105.9	95.7	67.0	77.9	78.9

표 6

[0049]

ABS_3 (°)	la	vi	cl	il	ca	se	mg	pi	re
obs	21	18	14	25	13	13	17	18	12
mean	164.4	161.8	157.8	146.0	146.5	132.9	105.1	115.1	118.7
sd	5.6	10.8	9.6	7.0	3.1	7.0	8.0	7.9	6.6
min	150.8	142.1	135.0	132.4	140.3	119.1	93.6	100.9	106.9
max	173.7	186.6	170.2	165.5	152.0	142.5	122.9	127.9	128.6
median	164.5	161.9	158.6	146.4	146.1	135.3	103.9	115.2	119.7

표 7

[0050]

DBS	la	vi	cl	il	ca	se	mg	pi	re
obs	21	18	14	25	13	13	17	18	12
mean	1.302	2.432	2.464	1.453	1.217	1.976	1.261	1.173	1.519
sd	0.087	0.261	0.228	0.119	0.102	0.110	0.108	0.086	0.128
min	1.100	2.037	2.096	1.224	1.056	1.750	1.090	1.029	1.249
max	1.435	3.130	2.860	1.677	1.355	2.143	1.444	1.351	1.756
median	1.291	2.354	2.457	1.457	1.226	1.975	1.234	1.161	1.550

표 8

[0051]

LBS(mm)	la	vi	cl	il	ca	se	mg	pi	re
obs	21	18	14	25	13	13	17	18	12
mean	0.2408	0.1689	0.1336	0.1876	0.2014	0.1936	0.3196	0.3140	0.2463
sd	0.0081	0.0119	0.0065	0.0071	0.0085	0.0083	0.0212	0.0194	0.0090
min	0.2211	0.1496	0.1258	0.1723	0.1877	0.1774	0.2833	0.2714	0.2347
max	0.2559	0.1881	0.1456	0.1979	0.2134	0.2099	0.3609	0.3506	0.2626
median	0.2415	0.1687	0.1333	0.1888	0.2046	0.1919	0.3165	0.3116	0.2470

[0052]

3. 정확도 검증(Accuracy verification)

[0053]

본 발명에 따른 검정파리과 파리를 동정하는 방법의 정확도를 검증하기 위해서, 통계 프로그램 R (ver. 4.2.3)을 통해 다음의 3단계 순서로 검증을 수행하였다.

[0054]

검증 1단계 : 전체 데이터를 활용한 검증

[0055]

기준에 수집된 전체 샘플(151 개체)의 데이터를 활용하여 정확도 검증을 수행하였다. 이후 검증의 객관성을 높이기 위해 교차 검증을 수행하였다.

[0056] 검증 2단계 : 7:3 교차 검증

[0057] 객관성 있는 정확도 평가와 기준 설정 방식에 대한 검증이 수행되었다. 전체 데이터를 7:3 비율로 train set과 test set으로 구분하였다. 검증은 데이터 편중과 과소적합(under-fitting)을 피하기 위해, 각 종별 데이터에서 70%를 무작위 비복원 추출(sampling without replacement)하여 분류 기준을 만들고 나머지 30%를 정확도 검증에 사용하였다. 단, 1차 분류기준인 LBS 범위는 전체 151개체를 사용한 경우에서의 기준범위를 적용하였다.

[0058] 검증 3단계 : 자매종(*Sispter* sp.) 통합 후 7:3 교차 검증

[0059] 수집된 검정파리과(Calliphoridae)의 전체 9종 중에서 자매종(*Sispter* sp.)에 해당되는 금파리(*Lucilia caesar*)(ca)와 연두금파리(*Lucilia illustris*)(il)를 한 종(ca+il)으로 묶고, 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*)(mg)와 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*)(pi)를 한 종(mg+pi)으로 묶은 후, 7:3 교차 검증을 수행하였다. 교차 검증 방법은 상기 검증 2단계와 동일하게 진행되었다. 단, 1차 분류기준인 LBS 범위는 전체 151개체를 사용한 경우에서의 ca+il 범위, mg+pi 범위를 각각 적용하였다.

[0060] 3. 분류 지표의 적합성 검증

[0061] 본 발명에 따른 검정파리과 파리를 동정하는 방법에서 사용되는 분류 지표가 적합한지 평가하기 위해 통계학적 검증을 수행하였다. 검증을 위해 사육 실험을 통해 확보된 검정금파리(*Phormia regina*)들 중에서 무작위로 채집된 성숙한 3령 유충 454 개체를 분석하였다. 분석은 통계 프로그램 R (ver. 4.2.3)을 통해 수행되었으며, 개별 분류 지표와 몸길이 사이의 상관관계를 분석하여 유충의 성장(몸길이 증가)에 따른 개별 분류 지표의 연관성을 분석하였다.

[0062] 실시예 1. 분류지표의 기초데이터 분석

[0063] 검정파리과 파리 9종에서 분류지표를 측정하여, ABS_1-3(°, angle), DBS(ratio), LBS(mm)에 대해 종별로 정리하였다. 종별로 12개에서 25개체의 샘플이 활용되었고 분류지표에 대한 종별 통계데이터를 기반으로 개별 분류 지표에 해당된 Boxplots 그래프를 작성하였다. 도 2에 나타난 바와 같이, 5종의 분류지표(ABS_1, ABS_2, ABS_3, LBS, 및 DBS)들은 검정파리과 파리의 종에 따라 각각의 분류지표에 대한 일정한 범위가 존재하는 것을 확인하였다. ABS_1, ABS_2, 및 ABS_3의 경우에는 동일한 아과(subfamily)에 속하는 종은 유사한 패턴으로 나타났다. 구체적으로 Calliphorinae 아과(subfamily)에 속하는 큰검정파리(*Calliphora lata*)(la), 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*)(vi), 및 두꼬리검정파리(*Triceratopyga calliphoroides*)(cl)가 유사한 패턴으로 나타났고, Luciliinae 아과(subfamily)에 속하는 연두금파리(*Lucilia illustris*)(il), 금파리(*Lucilia caesar*)(ca) 및 구리금파리(*Lucilia sericata*)(se)가 유사한 패턴으로 나타났고, Chrysomyinae 아과(subfamily)에 속하는 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*)(mg), 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*)(pi), 및 검정금파리(*Phormia regina*)(re)가 유사한 패턴으로 나타났다. LBS 지표는 전체 대상 종을 범위에 따라 4개의 그룹으로 분리할 수 있었으나 다른 지표에 비해 표준편차의 범위가 작기 때문에, 1차 분류 단계에서 검정파리과(Calliphoridae) 9종을 분류할 수 있는 가장 적합한 분류지표임이 확인되었다.

[0064] 실시예 2. 미지의 샘플의 적용

[0065] 본 발명에 따른 검정파리과 파리를 동정하는 방법에 미지의 샘플에 적용하여 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 종을 동정하였다. 상기 미지의 샘플은 별도로 채집된 샘플(앞선 실험예와 무관한 개체, 도3의 개체)을 사용하였으며, 미지의 샘플로부터 5종의 분류지표(ABS_1, ABS_2, ABS_3, LBS, 및 DBS)에 대한 측정값을 하기 표 9와 같이 수록하였다.

표 9

[0066]

Unknown sample	
ABS_1	71.70°
ABS_2	97.56°
ABS_3	129.55°
LBS (R)	0.1853 μm
LBS (L)	0.1912 μm
LBS (average)	0.1883 μm
Distance	0.4331 μm
LBS	0.1883 μm

DBS	2.3001
-----	--------

[0067] 상기 측정된 미지의 샘플의 분류지표의 측정값을 이용하여 본 발명에 따른 검정파리과(Calliphoridae) 파리의 종 동정 방법에 따라 파리 종을 동정하였다. 1차 분류 단계에서 상기 미지의 샘플의 LBS 측정값은 0.18295 μm 로 확인되며, 상기 미지의 샘플의 LBS 측정값이 속하는 LBS 기준 범위에 해당되는 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*)(vi)(0.1475 mm 초과하거나 0.19 mm 이하), 연두금파리(*Lucilia illustris*)(il)(0.17 mm 초과하거나 0.20 mm 이하), 금파리(*Lucilia caesar*)(ca)(0.18 mm 초과하거나 0.22 mm 이하), 및 구리금파리(*Lucilia sericata*)(se)(0.17 mm 초과하거나 0.21 mm 이하)를 1차 분류 기준 종으로 선별하였다. 2차 분류 단계에서 상기 4종에 대한 분류지표의 기준값에 대한 미지의 샘플의 분류지표 오차율을 계산하여 합산한 결과 하기 표 10에 나타난 바와 같이, 붉은뺨검정파리(*Calliphora vicina*)(vi)에 대해서는 오차율 합산이 0.9007, 연두금파리(*Lucilia illustris*)(il)에 대해서는 오차율 합산이 0.8917, 금파리(*Lucilia caesar*)(ca)에 대해서는 오차율 합산이 1.1571, 구리금파리(*Lucilia sericata*)(se)에 대해서는 오차율 합산이 0.3014로 확인되었다. 최종적으로 미지의 샘플은 오차율 합산이 가장 낮은 구리금파리(*Lucilia sericata*)(se)로 동정하였다.

표 10

[0068]

구분	la	vi	cl	il	ca	se	mg	pi	re
LBS 범위	0.22<	0.1475<	0.12<	0.17<	0.18<	0.17<	0.28<	0.27<	0.23<
	≤ 0.26	≤ 0.19	≤ 0.1475	≤ 0.20	≤ 0.22	≤ 0.21	≤ 0.37	≤ 0.36	≤ 0.27
ABS_1 오차율		0.3226		0.0863	0.0087	0.0562			
ABS_2 오차율		0.2393		0.1094	0.0787	0.0195			
ABS_3 오차율		0.1998		0.1152	0.1132	0.0424			
DBS 오차율		0.0227		0.5782	0.8768	0.1646			
LBS 오차율		0.1164		0.0028	0.0797	0.0187			
오차율 합산		0.9007		0.8917	1.1571	0.3014			

[0069]

실시예 3. 분류 방법의 정확도 검증 결과

[0070]

실시예 3-1. 전체 데이터를 활용한 검증

[0071]

상기 검증은 기준에 수집된 전체 샘플(151개체)을 그대로 사용하였으며, 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 진행되었다. 상기 실험 예에서 사전에 종이 확인된 151개체에 대한 분류지표를 측정하여 본 발명의 정확도를 측정하였다. 하기 표 11에 나타난 바와 같이, 전체 151 개체에 대한 종 동정 결과, 92.7%(140/151)의 정확도를 나타내었다. 전체 9종 중에서 서로 자매종인 금파리(*Lucilia caesar*)(ca)와 연두금파리(*Lucilia illustris*)(il)의 일부가 서로 엇갈려 동정되어 86.8%(33/38)의 정확도를 나타냈다. 서로 자매종인 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*)(mg)와 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*)(pi)의 일부가 서로 엇갈려 동정되어 82.8%(29/35)의 정확도를 나타냈다. 나머지 5종은 100% 정확도를 나타냈다.

표 11

[0072]

동정 결과	실제 종(Species)								
	La	vi	cl	il	ca	se	mg	pi	re
la	21	-	-	-	-	-	-	-	-
vi	-	18	-	-	-	-	-	-	-
cl	-	-	14	-	-	-	-	-	-
il	-	-	-	22	2	-	-	-	-
ca	-	-	-	3	11	-	-	-	-

se	-	-	-	-	-	13	-	-	-
mg	-	-	-	-	-	-	14	3	-
pi	-	-	-	-	-	-	3	15	-
re	-	-	-	-	-	-	-	-	12

[0073] 실시예 3-2. 7:3 교차 검증

[0074] 상기 실험에 151 개체에서 각 종별로 무작위 비복원 추출된 70%의 데이터를 활용하여 분류 지표의 기준값을 설정하고, 나머지 30%의 데이터를 활용하여 정확도를 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 정확도를 측정하였다. 전체 과정을 1000회 반복 분석하여 진행한 결과, 평균 91.0%의 정확도를 나타냈다.

[0075] 실시예 3-3. 자매종 통합 후 7:3 교차 검증

[0076] 자매종(*Sispter* sp.)에 해당되는 금파리(*Lucilia caesar*)(ca)와 연두금파리(*Lucilia illustris*)(il)를 한 종(ca+il)으로 묶고, 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala*)(mg)와 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis*)(pi)를 한 종(mg+pi)으로 묶은 후, 상기 실시예 3-2와 동일한 방법으로 7:3 교차 검증을 수행하였다. 전체 1000회 반복 분석이 진행되었으며 평균 99.27%의 정확도를 나타냈다.

[0077] 실시예 4. 분류 지표의 상관관계 분석

[0078] 통계 프로그램 R (ver. 4.2.3)을 통해 454개체의 검정금파리 (*Phormia regina*)의 몸길이(Length), ABS_2, DBS, LBS의 평균(mean), 표준편차(sd), 최솟값(min), 최댓값(max), 중간값(median)을 하기 표 12와 같이 조사하였다.

표 12

[0079]

P. regina	mean	sd	min	max	median
Length	14.46	1.16	12.21	17.21	14.43
ABS_2	82.78	8.90	56.40	103.00	82.72
DBS	1.67	0.18	1.11	2.19	1.67
LBS (pixel)	120.77	8.66	100.10	158.28	120.55

[0080] 각 지표들의 상관관계를 분석하기 위해 각각의 지표값의 상관 계수를 측정하여 Heatmap으로 작성하고, 몸길이(Length)에 대한 ABS_2, DBS, LBS의 분포 패턴을 Scatter plot으로 작성하였다. 도 4에 나타난 바와 같이, 몸길이(Length)에 대한 ABS_2의 상관 계수는 0.0936, DBS의 상관 계수는 0.2965, LBS의 상관 계수는 -0.0342로 나타났다. 특히 LBS는 0에 근접한 상관 계수로 나타나 몸 길이와 무관한 지표임을 확인하였다. ABS 및 DBS는 몸 길이와 낮은 양의 상관관계를 나타냈지만, 0.5 이하의 낮은 상관성을 나타내어 중 동정 지표로서 유효성을 확인하였다. Scatter plot에서는 몸길이(Length)에 대한 ABS_2, DBS, LBS의 분포 패턴을 확인한 결과 특정한 패턴 없이 산포되어 있는 것으로 나타났다. 상기 결과는 후기문의 형태학적 분류 지표가 파리의 성장 정도와 관련성이 낮다는 것을 입증하며, 본 발명에 따른 파리 분류방법은 성장 과정에 영향을 받지 않고 종을 동정할 수 있는 분류 방법이라는 것을 입증한다.

[0081] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 즉, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다.

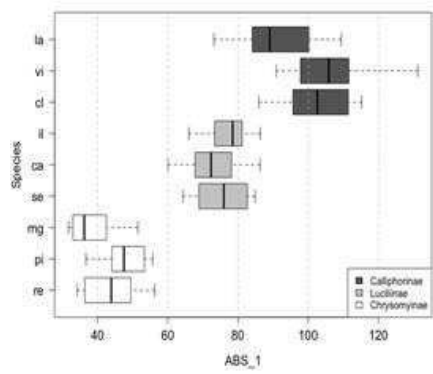
[0082] 수치 범위는 상기 범위에 정의된 수치를 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최대의 수치 제한은 낮은 수치 제한이 명확히 쓰여 있는 것처럼 모든 더 낮은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최소의 수치 제한은 더 높은 수치 제한이 명확히 쓰여 있는 것처럼 모든 더 높은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 수치 제한은 더 좁은 수치 제한이 명확히 쓰여 있는 것처럼, 더 넓은 수치 범위 내의 더 좋은 모든 수치 범위를 포함할 것이다.

도면

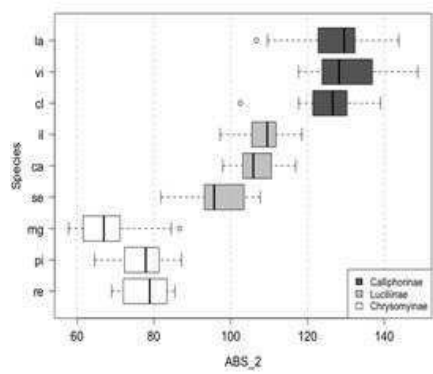
도면1



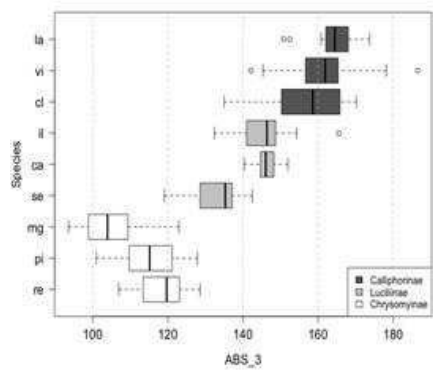
도면2a



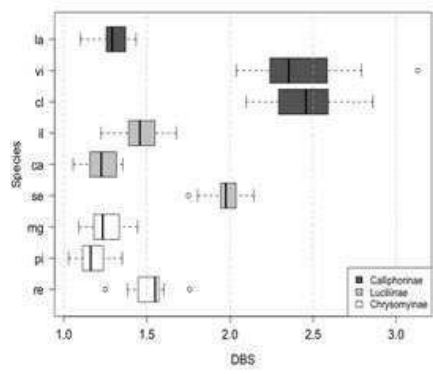
도면2b



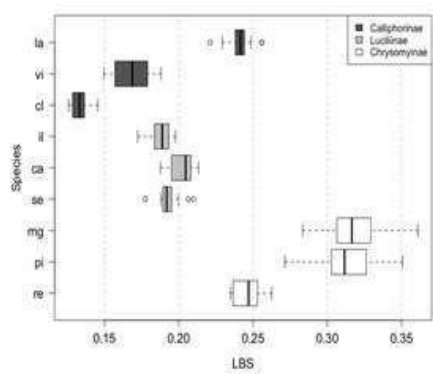
도면2c



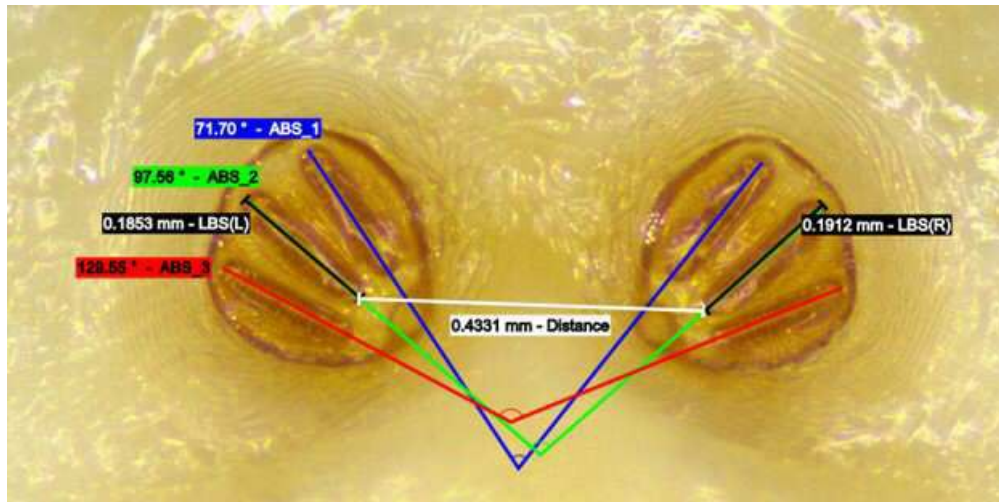
도면2d



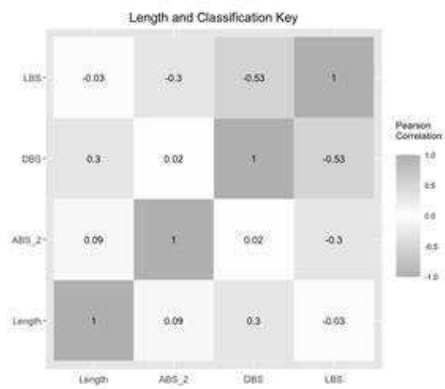
도면2e



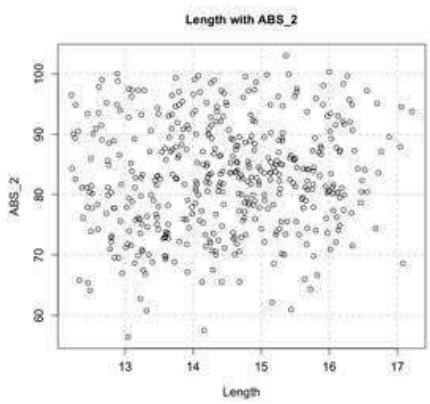
도면3



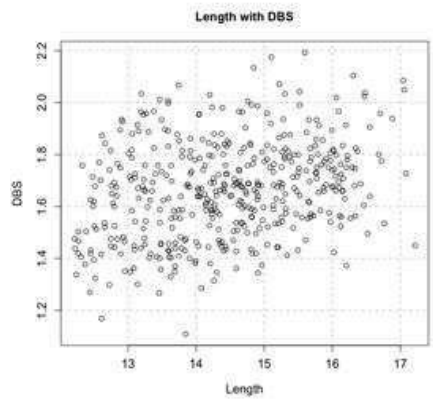
도면4a



도면4b



도면4c



도면4d

