



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년10월07일

(11) 등록번호 10-2162805

(24) 등록일자 2020년09월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12Q 1/6895 (2018.01)

(52) CPC특허분류

C12Q 1/6895 (2018.05)

(21) 출원번호 10-2019-0111364

(22) 출원일자 2019년09월09일

심사청구일자 2019년09월09일

(56) 선행기술조사문헌

CN106167798 A

(뒷면에 계속)

(73) 특허권자

충남대학교 산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

(72) 발명자

오상근

대전광역시 서구 관저로 83, 203동 1303호(관저동, 신선마을아파트)

장현아

대전광역시 서구 월평북로 11, 207동 402호(월평동, 주공아파트)

(74) 대리인

최규환

전체 청구항 수 : 총 5 항

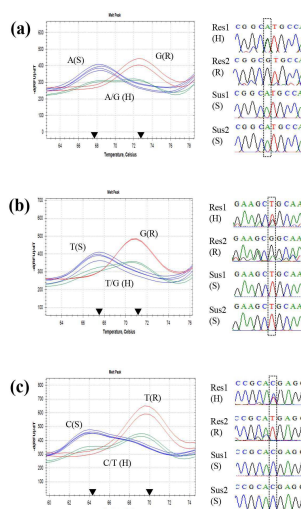
심사관 : 이재영

(54) 발명의 명칭 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종을 구별하기 위한 마커 조성물 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종을 구별하기 위한 마커 조성물, 상기 마커 조성물을 포함하는 키트 및 상기 마커 조성물을 이용한 탄저병 의심 시료로부터 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종을 구별하는 방법에 관한 것으로, 본 발명의 마커 조성물은 포도에서 발병되는 탄저병의 분자생물학적 진단 방법에 유용하게 이용될 수 있을 것이다.

대표도 - 도6



(56) 선행기술조사문헌

CN100402665 C

CN101054595 A

CN101691604 A

G. H. Kim et al., Plant Breeding, 127,
p.418-423, 2008.*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ013141012019

부처명 농촌진흥청

과제관리(전문)기관명 농촌진흥청

연구사업명 차세대바이오그린21

연구과제명 포도 핵심집단 GWAS를 통한 내병성 형질 연관 분지표지 개발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 충남대학교 산학협력단

연구기간 2019.01.01 ~ 2019.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 1 및 서열번호 2의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 19의 올리고뉴클레오타이드 프로브;
서열번호 3 및 서열번호 4의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 20의 올리고뉴클레오타이드 프로브;
서열번호 5 및 서열번호 6의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 21의 올리고뉴클레오타이드 프로브;
서열번호 7 및 서열번호 8의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 22의 올리고뉴클레오타이드 프로브;
서열번호 9 및 서열번호 10의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 23의 올리고뉴클레오타이드 프로브;
서열번호 11 및 서열번호 12의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 24의 올리고뉴클레오타이드 프로브;
서열번호 13 및 서열번호 14의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 25의 올리고뉴클레오타이드 프로브;
서열번호 15 및 서열번호 16의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 26의 올리고뉴클레오타이드 프로브;
및 서열번호 17 및 서열번호 18의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 27의 올리고뉴클레오타이드 프로브;를 포함하는 탄저병(anthraco) 저항성 또는 감수성 포도 품종을 구별하기 위한 마커 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항의 마커 조성물; 및 증폭 반응을 수행하기 위한 시약을 포함하는 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종을 구별하기 위한 키트.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 증폭 반응을 수행하기 위한 시약은 DNA 폴리머라제, dNTPs 및 버퍼를 포함하는 것인 키트.

청구항 5

탄저병(anthraco) 감염 의심 포도 시료에서 게놈 DNA를 분리하는 단계;

상기 분리된 게놈 DNA를 주형으로 하고, 제1항의 마커 조성물을 이용하여 증폭 반응을 수행하여 표적 서열을 증폭하는 단계; 및

상기 증폭 단계의 산물을 검출하는 단계를 포함하는 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종을 구별하는 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 증폭 산물의 검출은 HRM 분석, DNA 칩, 젤 전기영동, 방사성 측정, 형광 측정 또는 인광 측정을 통해 수행되는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종을 구별하기 위한 마커 조성물 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 포도(*Vitis vinifera*)는 살과 수분이 많고 안에 씨가 있는 장과(漿果)로, 레스베라트롤, 플라보노이드 및 폴리페놀계 화합물 등이 풍부하며 생으로 먹거나 포도주, 주스, 통조림, 건포도 등으로 가공하여 섭취할 수 있다. 우리나라 포도 산업은 2013년도 기준 5,046억원 규모로, 농업생산액의 1.1%, 과수 생산액의 14.5%를 차지하는 3대 과수 작물에 속하며 농업 생산 및 국민 건강 증진에 있어 매우 중요한 위치를 차지하고 있다. 이에 따라 양

질의 포도를 생산하기 위한 많은 유전-육종 연구가 이루어지고 있으나, 포도는 채소 등의 작물에 비해 육종 기간이 길고 이형접합(heterozygote)의 유전적 특성을 갖고 있어 유전 육종 연구를 수행하는데 많은 어려움이 있다. 따라서, 포도 육종의 효율성 증대를 위한 유전체 정보 및 분자표지 마커를 활용한 육종효율 증진 시스템 개발이 필요하다.

[0003] 포도나무 탄저병(Ripe rot, anthracnose)은 콜레토티리쿰 아쿠타툼(*Colletotrichum acutatum*)과 콜레토티리쿰 글로에오스포리오이데스(*C. gloeosporioides*)에 의해 발생하는 대표적인 곰팡이병으로, 특히 성숙기의 과실에 주로 발생하여 과실을 부패시키며 화수나 잎에 발병하기도 한다. 발병 초기에는 담갈색 또는 흑갈색의 작은 반점이 전면에 발생하고, 진전되면 과실의 표면에 분생포자층을 형성하여 과방 내 과립으로 침입하여 과방 전체를 썩게 한다. 이러한 포도 탄저병은 보통 우기가 시작되는 6월 말부터 8월까지 발생되어 다가올 수확기에 막대한 손실을 초래하므로 체계적인 방제 시스템이 필요하다. 실제 농가에서는 살균제 살포에 의한 화학적 방제가 주로 이루어지고 있으나, 재배기간 중 잦은 강우로 인해 약제 방제 시기를 선정하는데 어려움이 있거나 새로운 살균제 저항성 병원균의 출현 등의 이유로 인하여 방제 효과가 그리 높지 않은 것이 현실이다. 또한, 지속적인 약제 살포에 의한 화학적 방제의 경우 변종 병원균 발생 및 우점 병원균 변화로 인하여 그 실효성이 매우 의심되고 있다. 따라서 병 저항성 품종을 육성하여 재배하는 것이 환경 친화적이면서 경제적으로 효과적인 최선의 방제 대책이 될 수 있을 것이다.

[0004] 한편, 한국등록특허 제1266193호에는 '중간교잡을 통해 육성된 탄저병 저항성 고추 품종 및 이를 선별하기 위한 프라이머 세트'가 개시되어 있고, 한국등록특허 제1453403호에는 '중탄산 암모늄을 포함하는 포도 갈색무늬병 방제용 조성물 및 방제 방법'이 개시되어 있으나, 본 발명의 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종을 구별하기 위한 마커 조성물 및 이의 용도에 대해서는 기재된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자들은 국내 포도 속(*Vitis* spp.) 유전자원 350 품종을 이용한 탄저병 병원성 검정(표현형) 및 GBS(유전자형) 분석 결과를 통해 GWAS(genomewide association study) 연관 분석을 수행하여, 3번 염색체에서 NBS-LRR 타입의 *RPP*(Recognition of *Peronospora parasitica*) 유전자와 유사한 *RPP8*-like, *RPP13*-like 유전자를 확인하였다. 또한, 탄저병 저항성을 나타내는 대표 품종인 Muscat Bailey A 및 Bailey Alicante A와 감수성을 나타내는 대표 품종인 Emerald Seedless 및 Pinot Noir를 선별하고 상기 품종 내에 존재하는 *RPP8*-like 및 *RPP13*-like 유전자의 염기서열을 분석하여 *RPP8*-like 유전자로부터 3개, *RPP13*-like 유전자로부터 6개의 SNP 마커를 개발하였으며, 상기 SNP에 대한 프라이머 세트와 루나 프로브(luna probe)를 제작하여 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종의 게놈 DNA를 주형으로 real-time PCR을 수행한 결과, 본 발명의 SNP 마커에 대한 프라이머 세트 및 프로브가 탄저병 저항성 또는 감수성 품종을 효과적으로 구별할 수 있음을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0006] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 프로브로 이루어진 총 9개 조합으로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 프로브를 포함하는 탄저병(anthrachnose) 저항성 또는 감수성 포도 품종을 구별하기 위한 마커 조성물을 제공한다.

[0007] 또한, 본 발명은 상기 마커 조성물; 및 증폭 반응을 수행하기 위한 시약을 포함하는 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종을 구별하기 위한 키트를 제공한다.

[0008] 또한, 본 발명은 탄저병 감염 의심 포도 시료에서 게놈 DNA를 분리하는 단계; 상기 분리된 게놈 DNA를 주형으로 하고, 상기 마커 조성물을 이용하여 증폭 반응을 수행하여 표적 서열을 증폭하는 단계; 및 상기 증폭 단계의 산물을 검출하는 단계를 포함하는 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종을 구별하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0009] 본 발명의 프라이머 세트 및 프로브는 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종 간의 유전형 판별이 가능하므로, 탄저병에 저항성을 나타내는 포도 품종을 효율적으로 판별 및 육성할 수 있어 육종에 소요되는 시간, 비용 및 노력을 절감할 수 있으며, 본 발명의 방법으로 육성한 탄저병 저항성 포도 품종의 보급은 재배 농가 및 소비자

에게도 고품질의 포도 생산 및 공급을 가능하게 할 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0010]

도 1은 콜레토티리쿰 아쿠타툼(*Colletotrichum acutatum*) 및 콜레토티리쿰 글로에오스포리오이데스(*C. gloeosporioides*) 병원균에 대해 저항성 또는 감수성을 나타내는 탄저병 저항성(Resistant; Muscat Bailey A, Bailey Alicante A) 또는 감수성(Susceptible; Emerald Seedless, Pinot Noir) 포도 품종을 확인한 결과이다.

도 2 및 도 3은 탄저병 저항성 포도 품종(도 2; Muscat Bailey A, Bailey Alicante A)과 탄저병 감수성 포도 품종(도 3; Emerald Seedless, Pinot Noir)의 게놈 염기서열 중 *RRP8*(Recognition of *Peronospora parasitica* 8)-like 유전자 영역에 존재하는 SNP를 나타낸 그림이다.

도 4 및 도 5는 탄저병 저항성 포도 품종(도 4; Muscat Bailey A, Bailey Alicante A)과 탄저병 감수성 포도 품종(도 5; Emerald Seedless, Pinot Noir)의 게놈 염기서열 중 *RRP13*-like 유전자 영역에 존재하는 SNP를 나타낸 그림이다.

도 6은 본 발명의 VvCRP8-1의 프라이머 세트와 프로브(a), VvCRP8-2의 프라이머 세트와 프로브(b) 또는 VvCRP8-3의 프라이머 세트와 프로브(c)를 이용한 탄저병 저항성(R) 또는 탄저병 감수성(S) 포도 품종의 유전형 분석 결과이다. Res1(H), Bailey Alicante A(Heterozygote); Res2, Muscat Bailey A; Sus1, Emerald Seedless; Sus2, Pinot Noir.

도 7은 VvCRP13-1의 프라이머 세트와 프로브(a), VvCRP13-2의 프라이머 세트와 프로브(b), VvCRP13-3의 프라이머 세트와 프로브(c), VvCRP13-4의 프라이머 세트와 프로브(d), VvCRP13-5의 프라이머 세트와 프로브(e) 또는 VvCRP13-6의 프라이머 세트와 프로브(f)를 이용한 탄저병 저항성(R) 또는 탄저병 감수성(S) 포도 품종의 유전형 분석 결과이다. Res1(H), Bailey Alicante A(Heterozygote); Res2, Muscat Bailey A; Sus1, Emerald Seedless; Sus2, Pinot Noir.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011]

본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 서열번호 1 및 서열번호 2의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 19의 올리고뉴클레오타이드 프로브; 서열번호 3 및 서열번호 4의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 20의 올리고뉴클레오타이드 프로브; 서열번호 5 및 서열번호 6의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 21의 올리고뉴클레오타이드 프로브; 서열번호 7 및 서열번호 8의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 22의 올리고뉴클레오타이드 프로브; 서열번호 9 및 서열번호 10의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 23의 올리고뉴클레오타이드 프로브; 서열번호 11 및 서열번호 12의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 24의 올리고뉴클레오타이드 프로브; 서열번호 13 및 서열번호 14의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 25의 올리고뉴클레오타이드 프로브; 서열번호 15 및 서열번호 16의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 26의 올리고뉴클레오타이드 프로브; 및 서열번호 17 및 서열번호 18의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 서열번호 27의 올리고뉴클레오타이드 프로브;로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트와 프로브를 포함하는 탄저병(anthraco) 저항성 또는 감수성 포도 품종을 구별하기 위한 마커 조성물을 제공한다.

[0012]

본 발명의 마커 조성물은 바람직하게는 상기 9개의 올리고뉴클레오타이드 프라이머 세트 및 프로브 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상의 프라이머 세트 및 프로브 조합을 포함하며, 가장 바람직하게는 9개의 프라이머 세트와 프로브 조합을 모두 포함할 수 있다. 상기 9개의 프라이머 세트와 프로브 조합을 동시에 이용하면 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종을 더욱 효율적으로 판별할 수 있다.

[0013]

본 발명의 상기 마커 조성물은 탄저병 저항성 포도 품종과 탄저병 감수성 포도 품종의 게놈 DNA를 분석하여 찾은 9개의 SNP(single nucleotide polymorphism) 마커를 증폭할 수 있는 정방향 및 역방향 프라이머 세트와 상기 SNP 염기를 포함하는 프로브로 이루어져 있다. 상기 서열번호 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 및 17은 정방향 프라이머이며, 서열번호 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 및 18은 역방향 프라이머이며, 서열번호 19 내지 27은 프로브이다.

[0014]

본 발명의 상기 올리고뉴클레오타이드 프라이머는 각 프라이머 서열 길이에 따라 서열번호 1 내지 18의 서열 내의 22개 이상, 23개 이상, 24개 이상, 25개 이상, 26개 이상의 연속 뉴클레오타이드의 절편으로 이루어진 올리고뉴클

레오티드를 포함할 수 있다. 예를 들면, 서열번호 1의 프라이머(23개 올리고뉴클레오티드)는 서열번호 1의 서열 내의 18개 이상, 19개 이상, 20개 이상, 21개 이상, 22개 이상의 연속 뉴클레오티드의 절편으로 이루어진 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 또한, 상기 프라이머는 서열번호 1 내지 18의 염기서열 부가, 결실 또는 치환된 서열도 포함할 수 있다.

[0015] 본 명세서에 있어서, "프라이머"는 카피하려는 핵산 가닥에 상보적인 단일 가닥 올리고뉴클레오티드 서열을 말하며, 프라이머 연장 산물의 합성을 위한 개시점으로서 작용할 수 있다. 상기 프라이머의 길이 및 서열은 연장 산물의 합성을 시작하도록 허용해야 한다. 프라이머의 구체적인 길이 및 서열은 요구되는 DNA 또는 RNA 표적의 복잡도(complexity)뿐만 아니라 온도 및 이온 강도와 같은 프라이머 이용 조건에 의존할 것이다.

[0016] 본 명세서에 있어서, 프라이머로서 이용된 올리고뉴클레오티드는 또한 뉴클레오티드 유사체(analogue), 예를 들면, 포스포로티오에이트(phosphorothioate), 알킬포스포로티오에이트 또는 펩티드 핵산(peptide nucleic acid)을 포함할 수 있거나 또는 삽입 물질(intercalating agent)을 포함할 수 있다.

[0017] 본 발명에 있어서, 용어 "프로브(probe)"란 상보적인 단일가닥 표적서열과 혼성화하여 이중가닥 분자(혼성체)를 형성하는 단일가닥 핵산 서열을 말한다.

[0018] 본 발명의 일 구현 예에 따른 마커 조성물에 있어서, 상기 프로브는 3'이 블로킹된(blocked), 비표지된 올리고뉴클레오티드 루나 프로브(luna probe)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 본 발명의 프로브는 각 프로브의 서열 내에 포도 탄저병에 대한 저항성 또는 감수성 포도 품종을 구별할 수 있는 SNP 염기를 포함하여 제작된 것이다.

[0019] 본 발명은 또한, 상기 마커 조성물; 및 증폭 반응을 수행하기 위한 시약을 포함하는 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종을 구별하기 위한 키트를 제공한다.

[0020] 본 발명의 키트에서, 상기 증폭 반응을 수행하기 위한 시약은 DNA 폴리머라제, dNTPs, 버퍼 등을 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 키트는 최적의 반응 수행 조건을 기재한 사용자 안내서를 추가로 포함할 수 있다. 안내서는 키트 사용법, 예를 들면, PCR 완충액 제조 방법, 제시되는 반응 조건 등을 설명하는 인쇄물이다. 안내서는 팜플렛 또는 전단지 형태의 안내 책자, 키트에 부착된 라벨 및 키트를 포함하는 패키지의 표면에 설명을 포함한다. 또한, 안내서는 인터넷과 같이 전기 매체를 통해 공개되거나 제공되는 정보를 포함한다.

[0021] 본 발명은 또한,

[0022] 탄저병 감염 의심 포도 시료에서 게놈 DNA를 분리하는 단계;

[0023] 상기 분리된 게놈 DNA를 주형으로 하고, 본 발명의 마커 조성물을 이용하여 증폭 반응을 수행하여 표적 서열을 증폭하는 단계; 및

[0024] 상기 증폭 단계의 산물을 검출하는 단계를 포함하는 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종을 구별하는 방법을 제공한다.

[0025] 본 발명의 방법은 서열번호 1 및 서열번호 2의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트와 서열번호 19의 올리고뉴클레오티드 프로브; 서열번호 3 및 서열번호 4의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트와 서열번호 20의 올리고뉴클레오티드 프로브; 서열번호 5 및 서열번호 6의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트와 서열번호 21의 올리고뉴클레오티드 프로브; 서열번호 7 및 서열번호 8의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트와 서열번호 22의 올리고뉴클레오티드 프로브; 서열번호 9 및 서열번호 10의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트와 서열번호 23의 올리고뉴클레오티드 프로브; 서열번호 11 및 서열번호 12의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트와 서열번호 24의 올리고뉴클레오티드 프로브; 서열번호 13 및 서열번호 14의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트와 서열번호 25의 올리고뉴클레오티드 프로브; 서열번호 15 및 서열번호 16의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트와 서열번호 26의 올리고뉴클레오티드 프로브; 및 서열번호 17 및 서열번호 18의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트와 서열번호 27의 올리고뉴클레오티드 프로브;로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 올리고뉴클레오티드 프라이머 세트와 프로브를 포함하는 마커 조성물을 이용하여 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종을 효과적으로 구별할 수 있다.

[0026] 본 발명의 방법은 탄저병 감염 의심 포도 시료에서 게놈 DNA를 분리하는 단계를 포함한다. 상기 시료에서 게놈 DNA를 분리하는 방법은 당업계에 공지된 방법을 이용할 수 있으며, 예를 들면, CTAB 방법을 이용할 수도 있고, Wizard prep 키트(Promega 사)를 이용할 수도 있다. 상기 분리된 게놈 DNA를 주형으로 하고, 본 발명의 일 실시

예에 따른 프라이머 세트를 이용하여 증폭 반응을 수행하여 표적 서열을 증폭할 수 있다.

[0027] 본 발명의 일 구현 예에 있어서, 상기 증폭된 표적 서열은 검출가능한 표지 물질로 표지될 수 있다. 상기 표지 물질은 형광, 인광 또는 방사성을 발하는 물질일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 바람직하게는, 상기 표지 물질은 Cy-5 또는 Cy-3이다. 표적 서열의 증폭시 프라이머의 5'-말단에 Cy-5 또는 Cy-3를 표지하여 PCR을 수행하면 표적 서열이 검출가능한 형광 표지 물질로 표지될 수 있다. 또한, 방사성 물질을 이용한 표지는 PCR 수행시 ^{32}P 또는 ^{35}S 등과 같은 방사성 동위원소를 PCR 반응액에 첨가하면 증폭 산물이 합성되면서 방사성이 증폭 산물에 혼입되어 증폭 산물이 방사성으로 표지될 수 있다. 본 발명의 일 실시예에 따른 증폭된 표적서열은 루나 프로브와 PCR 반응 시약 혼합물 내에 포함된 형광 물질을 통해 표지될 수 있고, 루나 프로브는 상기에 기재된 바와 같다.

[0028] 본 발명의 일 구현 예에 있어서, 상기 증폭 산물의 검출은 DNA 칩, 겔 전기영동, 방사성 측정, 형광 측정 또는 인광 측정을 통해 수행될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 증폭 산물을 검출하는 방법 중의 하나로서, 모세관 전기영동을 수행할 수 있다. 모세관 전기영동은 예를 들면, ABI Sequencer를 이용할 수 있다. 또한, 겔 전기영동을 수행할 수 있으며, 겔 전기영동은 증폭 산물의 크기에 따라 아가로스 겔 전기영동 또는 아크릴아미드 겔 전기영동을 이용할 수 있다. 또한, 형광 측정 방법은 프라이머의 5'-말단에 Cy-5 또는 Cy-3를 표지하여 PCR을 수행하면 표적 서열이 검출가능한 형광 표지 물질로 표지되며, 이렇게 표지된 형광은 형광 측정기를 이용하여 측정할 수 있다. 또한, 방사성 측정 방법은 PCR 수행시 ^{32}P 또는 ^{35}S 등과 같은 방사성 동위원소를 PCR 반응액에 첨가하여 증폭 산물을 표지한 후, 방사성 측정기구, 예를 들면, 가이거 계수기(Geiger counter) 또는 액체섬광 계수기(liquid scintillation counter)를 이용하여 방사성을 측정할 수 있다.

[0029] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0030] 재료 및 방법

[0031] 1. 시료의 선별 및 고순도 DNA 분리

[0032] 국립원예특작과학원이 보유하고 있는 국내 포도 속 유전자원 350 품종의 유전체 정보 해독을 위해 5월 중순부터 6월 동안 자라나는 잎을 채취하여 게놈 DNA 추출에 사용하였다. 잎은 액화질소로 냉동시킨 다음 pestle을 이용하여 조직을 완전히 마쇄하였고, DNA의 순도를 높이기 위해 DNeasy Plant mini 키트(Qizgen, 미국)를 사용하여 매뉴얼에 따라 수행하였으며, RNase는 30분 동안 충분히 처리하여 RNA의 오염을 완전히 제거하였다.

[0033] 2. 후보 SNP(single nucleotide polymorphism)의 선별

[0034] 국립원예특작과학원이 보유하고 있는 국내 포도 속 유전자원 350 품종의 어린 잎을 채취하여 탄저병 병원성 검정(표현형) 및 GBS(유전자형) 분석을 수행하였다. 표현형은 포도 속 유전자원 350 품종에 콜레토티리쿰 아쿠타툼(*Colletotrichum acutatum*)과 콜레토티리쿰 글로에오스포리오이데스(*C. gloeosporioides*)를 접종(1×10^7 포자/mL, 10 μl)하여 나타나는 증상을 통해 분석하였고, 상기 두 균주에 대해 모두 저항성을 나타내는 품종(Muscat Bailey A 및 Bailey Alicante A)과 모두 감수성을 나타내는 품종(Emerald Seedless 및 Pinot Noir)을 선별하였다(도 1).

[0035] 표현형과 유전자형 결과를 이용하여 GWAS(genomewide associated study)를 통해 병 저항성 형질과 연관된 description을 나타내는 유전자를 기준으로 2 Mb 주변을 탐색하였으며, 최종적으로 3번 염색체에서 병 저항성 유전자로 잘 알려진 NBS-LRR(Nucleotide-Binding site and Leucine-Rich Repeats) 타입의 *RPP8*(Recognition of *Peronospora parasitica* 8)-like(LOC109122296), *RPP13*(LOC100260633) 유전자를 찾았으며, 전장 유전체의 서열 정보는 NCBI를 통해 얻었다. 상기 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종 내 존재하는 해당 유전자의 염기서열을 분석하여 *RPP8*-like 유전자로부터 3개, *RPP13*-like 유전자로부터 6개의 SNP를 확인하였다(도 2 내지 도 5).

[0036] 3. 프라이머 및 프로브 설계

[0037] 선별된 SNP를 검증하기 위해 Primer3 프로그램(<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>)을 이용하여 프라이머를 설계하였다. 프라이머는 AT 혹은 GC-rich를 피하고, GC 비율은 약 50%로 하였으며, 최종 PCR 산물의 크기는 후보 SNP를 포함하여 150 bp 내외가 되도록 설계하였다(표 1).

[0038] 또한, 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종 간에 차이를 보이는 SNP를 루나 프로브로 설계하였다. 대부분의 저항성 품종이 이형접합성을 보였기 때문에 저항성 품종의 대립형질을 포함하도록 하였고, 프라이머와 Tm 값이 비

슷한 수준으로 하였으며 3' 말단에 phosphate를 처리하여 특이성을 높였다(표 2).

표 1

본 발명에 사용된 프라이머 정보

No.	명칭	염기서열 (5'→3')		크기 (bp)
		정방향 (서열번호)	역방향 (서열번호)	
1	VvCRP8-1	GTGAGTTCTCAAACCTCCATTGC (1)	AGGTAAGTGTGGTATGCGTCC (2)	147
2	VvCRP8-2	GAAGAGACTGAGTTGGACTATGA (3)	GAATTACTTTGAGTCTAGGAAAGC (4)	142
3	VvCRP8-3	GCTTTCCTAGACTCAAAGTAATTC (5)	GTAATGACATCTACCTTCTGCAG (6)	170
4	VvCRP13-1	TGAAGGCGATCAACTGCTTCTTA (7)	CTCAGCCTTAAGGATGAACATGT (8)	140
5	VvCRP13-2	GGGAGTTTGAGGACTGTGTA (9)	TCAATCCGTAATGGCTTGTCATC (10)	173
6	VvCRP13-3	CACAAGTGACTTAACTAGCCTTC (11)	AGCAAAGAGCTCATGTCAAAGGA (12)	162
7	VvCRP13-4	ATGTGGTCATACCGTGGATGG (13)	AGTCCATAGATGTCCAAGACACT (14)	176
8	VvCRP13-5	ATGTGGTCATACCGTGGATGG (15)	AGTCCATAGATGTCCAAGACACT (16)	176
9	VvCRP13-6	ATGTGGTCATACCGTGGATGG (17)	AGTCCATAGATGTCCAAGACACT (18)	176

표 2

본 발명에 사용된 프로브 정보

No.	명칭	Allele	염기서열 (5'→3', 3'-phosphate) (서열번호)	길이
1	VvCRP8-1	A/G	CCC GGC GTG CCA TCC TTT GTC ATG AA (19)	26 mer
2	VvCRP8-2	T/G	GCA ATT TTG GAG AAG CGG CAA AAA TTG TTG AC (20)	32 mer
3	VvCRP8-3	C/T	TTG GGT TAA ACC GCA TGA GGA GGT TGA ATA T (21)	31 mer
4	VvCRP13-1	C/T	AGG AAG ACC CAA GAG TGT GTA ACT GG (22)	26 mer
5	VvCRP13-2	C/T	GTA TTT CTA AAG GAA TAC CAA CTA TGA TAG AG (23)	32 mer
6	VvCRP13-3	C/T	TGA CGC GAT AGT GGT TGA GTT TTC AAA CTC (24)	30 mer
7	VvCRP13-4	C/T	ATC CTT CAA CTT TCT GAC TTA TAT GGA CCG A (25)	31 mer
8	VvCRP13-5	C/T	GGA CCG ATG AAG TTG TTG ATT ATA GAG A (26)	28 mer
9	VvCRP13-6	T/A	GAA GGG TGG CAT GAC AAA CCT TAC TC (27)	26 mer

Allele : 탄저병 감수성 포도 품종(Emerald Seedless 및 Pinot Noir) / 탄저병 저항성 포도 품종(Muscat Bailey A 및 Bailey Alicante A)

4. Real-time PCR

상기 제작된 프라이머와 프로브를 이용하여 real-time PCR을 실시하였다. 반응 혼합물은 게노믹 DNA(25 ng/ μ l) 1 μ l, 정방향 프라이머(1 pmol) 1 μ l, 역방향 프라이머(10 pmole) 0.5 μ l, 5x Evagreen(HOT FIREPol[®] EvaGreen[®] qPCR Supermix, Solis Biodyne, Estonia) 4 μ l, 루나 프로브(10 pmole) 1 μ l 및 증류수 12.5 μ l을 넣어 총 20 μ l로 맞추고, 잘 섞어준 후 PCR을 수행하였다. Real-time PCR 조건은 다음과 같이 수행하였다: 초기 변성(denaturation) 95 $^{\circ}$ C, 5분 → 변성 95 $^{\circ}$ C, 20초; 어닐링(annealing) 60 $^{\circ}$ C, 20초; 및 신장(extension) 72 $^{\circ}$ C, 20초;의 과정을 40~45회 반복 → 최종 종결 반응 95 $^{\circ}$ C, 15초/ 40 $^{\circ}$ C, 30초. PCR 반응 종결물은 0.5 $^{\circ}$ C/초 상승 조건으로 50 $^{\circ}$ C에서 90 $^{\circ}$ C까지 온도를 증가시켜 용해(melting) 곡선 분석을 수행하였다. 모든 실험은 각 3회 반복하였으며, 결과는 평균값으로 나타내었다.

실시예 1. 유전형 분석

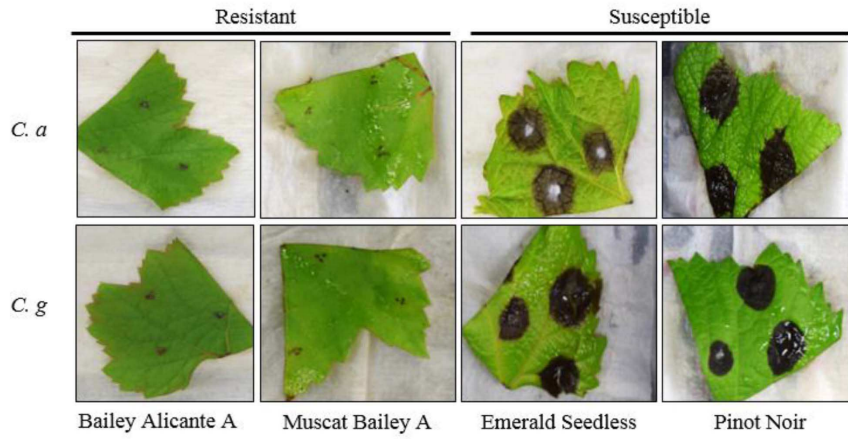
탄저병 감수성 포도 품종인 Emerald Seedless 및 Pinot Noir와 탄저병 저항성 포도 품종인 Muscat Bailey A 및 Bailey Alicante A 샘플에 대하여 표 1 및 표 2에 나타난 프라이머와 프로브 세트를 이용하여 Real-time PCR을 통해 유전형 분석(genotyping)을 수행하였다.

그 결과, 도 6 내지 7에 나타난 바와 같이, 탄저병 저항성 포도 품종(Res1(H), Bailey Alicante A(Heterozygote); Res2, Muscat Bailey A)과 감수성 포도 품종(Sus1, Emerald Seedless; Sus2, Pinot Noir) 샘플의 용해 곡선 피크가 명확히 구별되는 것이 확인되었다. 특이한 점은, Bailey Alicante A 품종의 경우 표현형은 포도 탄저병에 대해 저항성을 보였지만, 모든 SNP 위치에서 이형접합성을 보이는 것이 확인되었다. 상기

결과를 통해, 본 발명의 SNP 마커가 탄저병 저항성 또는 감수성 포도 품종을 정확하게 구별할 수 있는 신규의 분자 마커임을 알 수 있었다.

도면

도면1



도면3

>RPP8-like Sus10 (Emerald Seedless)

ATGCAACTTCTCTCTGAAGCAGAGAGTTGGAAGCTGTTTTGTAGAAGTGAATCCCCAATAATGTTATTGACAATCGTCTCTCC
AGAGTTAAAGGTATTGGGGAGAGAAGATGGTGAAGAAATGTGCTGGTTTGCCATTGGCCATTGCTGTATTGGGAGGCTTGTAT
CATCCAAAAGCAGTTGCCGACTGTGTGGGAACAGGTGCTCAACAAGCTCCAGGTGCCCTTCTCCGAAGGCAATGGTGTAGAT
GCAATATTGAGCTTAAGTTTTCATCGATTTGCCCCACAACCTTGAAATCATGCTTCTTTATCTAGGCCCTCTTCCAGAAGATTG
GGTCATCCCCAAGAGAGAATTACTCCTTTTATGGATTACAGAGGGTTTTATTCCACAACAAGATGAACAAAGAATGGAGGACA
CTGCTGAGGATTATTGAATGAGTTAATCAATAGAAATTTGATTCAAGTAGTAGCAGTGAGTATTAATGAGAGAAGTAAAAAA
TGTCCGGTTTCATGATCTAGTAAGGGATTTATGCATAAAGAAGGCAAAAAGCAAAAGCTGTTTGGATTCAAAAATAACATAGT
TCATGTTCCCTCATCTGTTCATCTCACCCTTCAACCAAAATGTGCTCGACAAGGTATCCATTTGGCTCGGGGGGTATGTTTC
AATCATATATCTTCGACCCCTTCACTCTTTCGACCCCAAAACTGACAATTTGATATTTATTCTCCACCTCATTTCGGTTATA
GGCATTTTAAATTCATAGTTGTTAAACTTGGAAAGGTATAGAGTTTCGCAATAGACTATCAAGTTCAGTTGGGAGACTAATTCA
TTTAACGTAAGTTGAGTATAAAGCTTCCATTACATTTCCGTGAGAGTAATTCGTTCTTTTCAAAGCTTCCAACCTCTTTAGGTA
ATTTAAGAGGTTGGCAAACTTTGGATATTGGTATTGTTATATTGGAAAAGCCAACTGTGATACAAAAATGAAAAATCTACGA
CATCTCTTCTCTCTTATCATAGTCAAGATGGCAAGCCATTGCTAATTGACACTTCTCCAACTCTGTCTAACATATGGGTCA
GTGATTGGCAACAAAATGATACAAAGTAAGTTAACTAGCCTTGGGAACTGAAAATTCAGGGAAATTTGACTTGGAAATGGTT
GAGTTCTCAAACTCCATTGGCAAACTGGGAAATCTTCGATCCTTGTATCTTGAGGCATATCCCCCGGCATGGCATCCTTTGT
CATGAACCTTTGGCTACATCTATCTAAGCTGCAAAATAAAGGGACGCATACCCAGTTACCTCATGCACGTGAGTTCCCAACCA
GTCTAACCAATTAACCTTGAAGAGACTGAGTTGGACTATGACCTATGGCAATTTTGAGAGAAGCGCAAAAAATTTGTTGACT
CTAAGATTAAGGAAGGACTCATATCTTGGAGAGGAAATGCAAGTATCTGCACATGGCTTTCCTAGACTCAAAGTAATTTCAACT
TTTTGGGTTAAACCGCAAGGAGGTTGAATATAGAAAAGGGTGGCATGCAAAAGCTTACTCAGTTGCAGGTTTTTGAAGCG
TCTTGGACATCAATGGACTTAGCAAGCTTACTTCTCGACAAGGTAGATGTCATTACTACATCTCTAGATCATCATCTTTGA
ATTTCCCTCTTGGCTTCTCGCTCCGACTGGCGTGATGTAAGAAGGTACTTGGCTCTTTTGTGCTTAATCTCATATTTTATCAC
TCATACATCTAGTATTACTCCAGGCAGAGTTCTTAAAAATGGGCCACAGAGCATTGTTTAAACCATTTTTTTCATTGTTCTTT
CTCCACGTACATATGACTGATATGATCAGCTTGTCTATATTATTCAATATTCAATTTATTTCTATTCATAATGCATTGAAATGA
AATCGATGTTAACTCTTGTACTCCATAATTTTTCATTTTCTATTAAATAAACTAGAGGGCATCATTTTCCCAATGAGGCTA
TCCAAACAAAATCAACTATAGCCTTACTCCCTCATCTCTTTTCTTTTTCCTTTTCTCCTTATCTAATAGGCTGTGCTGTGCTTG
ATTTTTCATCTCCATTTTCAGCAAGACAGGAAATGGTGACAGTATATGGCACTTATACCTGCTGATGATTGCTGGGGTTATAAGCA
GCAACACAAGAAGACTGGTTTCAGGTAA

: Probe1 1232, Probe2 1395, Probe3 1512 번째

>RPP8-like Sus12 (Pinot Noir)

ATGCAACTTCTCTCTGAAGCAGAGAGTTGGAAGCTGTTTTGTAGAAGTGAATCCCCAATAATGTTATTGACAATGTCTCTCC
AGAGTTAAAGGTATTGGGGAGAGAAGATGGTGAAGAAATGTGCTGGTTTGCCATTGGCCATTGTTGTATTGGGAGGCTTGTAT
CATCCAAAAGCAGTTGCCGACTGTGTGGGAACAGGTGCTCAACAAGCTCCAGGTGCCCTTCTCTGAAGGCAATGGTGTAGAT
GCAATATTGAGCTTAAGTTTTCATCGATTTGCCCCACAACCTTGAAATCATGCTTCTTTATCTAGGCCCTCTTCCAGAAGATTG
GGTCATCCCCAAGAGAGAATTACTCCTTTTATGGATTACAGAGGGTTTTATTCCACAACAAGATGAACAAAGAATGGAGGACA
CTGCTGAGGATTATTGAATGAGTTAATCAATAGAAATTTGATTCAAGTAGTAGCAGTGAGTATTAATGAGAGAAGTAAAAAA
TGTCCGGTTTCATGATCTAGTAAGGGATTTATGCATAAAGAAGGCAAAAAGCAAAAGCTGTTTGGATTCAAAAATAACATAGT
TCATGTTCCCTCATCTTGTTCATCTCACCCTTCAACCAAAATGTGCTCGACAAGGTATCCATTTGGCTCGGGGGGTATGTTTC
AACTACATACCTTCGACCCCTTCACTCTTTCGACCCAAAAACTGACAATTTGATATTTATTCTCCACCTCATTTCGGTTATA
GGCATTTTAAATTCATAGTTGTTAAACTTGGAAAGGTATAGAGTTTCGCAATAGACTATCAAGTTCAGTTGGGAGACTAATTCA
TTTAACGTAAGTTGAGTATAAAGCTTCCATTACATTTCCGTGAGAGTAATTCGTTCTTTTCAAAGCTTCCAACCTCTTTAGGTA
ATTTAAGGAGGTGGCAAACTTTGGATATTGGTATTGTTATATTGGAAAAGCCAACTGTGATACAAAAATGAAAAATCTACGA
CATCTCTTCTCTCTTATCATAGTCAAGATGGCAAGCCATTGCTAATTGACACTTCTCCAACTCTGTCTAACATATGGGTCA
GTGATTGGCAACAAAATGATACAAAGTAAGTTAACTAGCCTTGGGAACTGAAAATTCAGGGAAATTTGACTTGGAAATGGTT
GAGTTCTCAAACTCCATTGGCAAACTGGGAAATCTTCGATCCTTGTATCTTGAGGCATATCTCCCCCGCATGGCATCCTTTGT
CATGAACCTTTGGCTACATCTATCTAAGCTGCAAAATAAAGGGACGCATACCCAGTTACCTAATGCACGTCAGTTCCCAACCA
GTCTAACACAATTAACCTTAGAAGAGACTGAGTTGGACTATGACCCTATGGCAATTTTGAGAGAAGCGCAAAAAATTTGTTGACT
CTAAGATTAAGGAAGGACTCATATCTTGGAGAGGAAATGCAAGTATCTGCACATGGCTTTCCTAGACTCAAAGTAATTTCAACT
TTTTGGGTTAAACCGCAAGGAGGTTGAATATAGAAAAGGGTGGCATGCAAGCTTACTCAGTTGCAGGTTTTTGAAGCG
TCTTGGACATCAATGGACTTAGCAAGCTTACTTCTCGACAAGGTAGATGTCATTACTACATCTCTAGATCATCATCTTTGA
ATTTCCCTCTTGGCTGTTTCCGTCCGACTGGCGTGATGTAAGAAGGTACTTGGCTCTTTTGTGCTTAATCTCATATTTTATCAC
TCATACATCTAGTATTACTCCAGGCAGAGTTCTTAAAAATGGGCCACAGAGCATTGTTTAAACCATTTTTTTCATTGTTCTTT
CTCCACGTACATATGACTGATATGATCAGCTTGTCTATATTATTCAATATTCAATTTATTTCTATTCATAATGCATTGAAATGA
AATCGATGTTAACTCTTGTACTCCATAATTTTTCATTTTCTATTAAATAAACTAGAGGGCATCATTTTCCCAATGAGACTA
TCCAAACAAAATCAACTATAGCCTTACTCCCTCATCTCTTTTCTTTTTCCTTTATCTAATAGGCTGTGCTGTGCTTG
ATTTTTCATCTCCATTTTCAGCAAGACAGGAAATGGTGACAGTATATGGCACTTATACCTGCTGATGATTGCTGGGGTTATAAGCA
GCAACACAAGAAGACTGGTTTCAGGTAA

: Probe1 1232, Probe2 1395, Probe3 1512 번째

도면4

SRP13_Res01(Bailey Alicante A)
 ATGGAAAGGGCTGTAATCTCCCTTTGCTGTAACAGGATTGGTGACCAACTCATGGAAGAAGCAATTTTCTTGAAGGAGGTGCG
 CCCACGAATTGAGAGGCTGCATAGAGATCTGAAGGCGATCAACTGCTTCTTAGAAGCAGCAGATGCGAAGCAAGAGGAAGACC
 CAAGAGTGCTGAACCTGGGTTTGGGACATCCGAGATGTTGCTTATGATGCTGAGGACGTTGTGCACATGTTTCATCCTTAAGGCT
 GAGGCCCTGAGGAGAAAAATCTTTGTCAAGCGCATTTTCCAAAAGCCGTGTATCTGCATAATCTTGGCAAGAAAAATGATGA
 GATCCAAACCAACCTCCATGACATCTCAAGGAGGCGAGAAATCCTGGGAATAAAAAATATTGGAGTAGGAACAAGTACTTCAA
 GTCAGATGCTGCAGAACTAAGACGGACCACTCCTCGCGCGGAAAAACATGTCATTGTTGGGCTGAATGAAGAAGCAATAAG
 CTAGTGGAGCAGCTGACCACGGGGGACCCAGGCGCGCGTGGTTTCTATAGTAGGAATGGGCGGCATCGGCAAACTACTCT
 TGCCAAAGAAGTCTATAATCATAGCAGAGTTATGGATCATTTCAGTCTTGTCTGTCTGGGTTTATGTATCTGAAGATTGTA
 GACCCAGGAATATTTTTCAGCAATTTCAAACCAACTCTTCATACCCAAAGCAGATAGAGAAATTGAGGAGAACGAGTTG
 GAGGATTACTTTCACGAGCACATAGAGGAGAAAAATTTTGGTAGTTTGGATGACATATGGAAGAGTGACGATTGGAAGTG
 TCTTGCAGAGGTGTTCCAGAGGAGGATATGGCAGCAGATTACTTCTTCAACTCGAAATAAGGATGTTGCTTTGCAAGCAG
 ATGCTCGAAGTGTTCACATGACATGCGCTTCTCTCGGAAGAAGAGGTTGGAAGTTGTTTGTAGAACTGCAATCCCTGAC
 AATGTTACTCGAGGTTGCTCCTCAGAGTTGAAAGGAATTTGGGGAAAAATGTTGGAAGAAATGTCTGGTTTACCATTGGCTAT
 TGTGTATTGGGAGGCTTGTGTTCTTCCAAAAGCAGTTGCCGACTATGTGGGAAGAAGTGTCAACAACTCCGGGTGCACT
 TTGCCGACGCAATGGAGTAGATGCAATATTGAGCTTAAGCTACATCGATCTGCCCCCAACTTGAATCGTGCTTTCTTTAT
 CTAGGCTCTTTCCAGAGAGTCAAGTAATCTCCAAGAGAACATTACTGCTTCTATGGAATGGCTGAGGTTTGTTCACAGCA
 AGATGAACAAAGACTGGAGGACACTGCTGAGGATTATTGAAATGAGTTAATCAATAGAAACTTGGTTCAAGCGGTAGCAGTGA
 GTGTAAATGAGAGATTACAGAAATGCCGGATTCTGATCTAGTACGGGATTATGTCATAAAAAAGCCAGGAGCAAACTTT
 GTTGAGATTCAAAGGACATAGTTTCTCTCCCTCAACTACTTCATCTTTTCCCTTTCACCAAAATCCCGTGCAGTAGGTATTTA
 TTTGGACTTGGAGAGGTATGCTTCCAGAGAACATTCAACCCCATATATCGGCTCTCTCTCTTTTCTTCAACATAGTC
 CCCATAGTCGATATTATGGGATCTATCATGGTTAGATTTTATTACAAATATTACAAATTTACTTAGAGTTTAGACTTTGGGA
 AATGAAGAATCTATGAGCCACCAAAATTCATTGGGAACTAGTTTCTTAAAGTACTTGAGATTAAACAGCGCATAGGTATTTC
 AAATCTGCCACCTCTCTGTTTGGGAGTTTTCAGGAGCTGTGTAACTTTCCAACTCCTTAGATGAGCTAAGGAGTTTACAGA
 CTTTGGATATATGATTCTTAAAGGAAACCAACTATGATAGAGAAAAATGAAAAATCTACGACACCTTTTCTCTGATGAT
 AGAGAAGATGACAGGCTATTACGAGTTGACAACTTAAGAAATCTCCAACTCTGTCCGGAATATGTTTATGTTAGTTGGCAACA
 AATGACACAAAGTGATTAACTAGCCTTCGGAACCTGGAATAAAAAATGATGACGCGATAGTGGTGGAGTTTCAAACTCCA
 TTGCTAAGCTTGAGAATCTTCGCTCTTGTATCTTAAGGCATCACATTTCTCCGGGGTCCATCCTTTGACATGAGCTCTTTG
 CTGACTTATCTAAGCTGCATATGSAAGATCCATAGGGCAATTACAGGAGTTCCACCAAACTTAACAGCAGCTGACCTTAGA
 AGATACCTGAGCTAGACTATGAGCCATGGTATTTGGAGAAGCTGCCAAATTTGTTGACTTTAAGATTAAAGATGTGGTCAAT
 ACCGTGGATGGGAAATGCAAGTATCTCGAGATGGCTTCTCCTCAACTCAAAATCTCCTCACTTTCTGAGTTATAAGGACGAG
 AAGTTGTTGATATAGAGAAGGGTGGCATGCAAACTTACTCAGTACAGATTTTAGAAGTGCTCTTGGAGCTATATGGACT
 TGGTGAAGCTCTCAGATCTAAGAGAGATAGATGTCATTGATATATCTCCACATCTCTCACTGGTGGATTCTCTCTTACCTGTT
 CTCTGAATGGCAGATATAAGAGAGTCACTTAAACCTTTTGTCTCAAAATTTGATTGATGATCATCTATTAGGATTAC
 TCTAAGCAGAGAGTTCTTACAGAAAGGCGCTTAGAGATGGTTCTCTCTCAACACTCTGGTTTTTCTATGCTCATTTTCCGTA
 AATGATACCTCATGCTATATTATTTGAGATTCAATTATCTTATCTTGTACCGCATAAATTTGATTATTATATATAAA
 ACTAGAAAGCAGCCCTTTCTATAAAATTTCTATCCAAACAAATCAACTATAGCCCTACCCCTGACCTTCTATAAGCATCAAA
 CTGTAAGGATGCTCTTGGCTTTTCTCTCTTGTATCTATTAGGTTGTGTTGATTTCATCTCCATTTACGACAGAGCGAAGAA
 GGCAGGATATATGGCACTTATACCGCCAATGA

: Probe1 175, Probe2 1937, Probe3 2142, Probe4 2481, Probe5 2489, Probe6 2521 번째

SRP13_Res03 (Muscat Bailey A)
 ATGGAAAGGGCTGTAATCTCCCTTTGCTGTAACAGGATTGGTGACCAACTCATGGAAGAAGCAATTTTCTTGAAGGAGGTGCG
 CCCACGAATTGAGAGGCTGCATAGAGATCTGAAGGCGATCAACTGCTTCTTAGAAGCAGCAGATGCGAAGCAAGAGGAAGACC
 CAAGAGTGCTGAACCTGGGTTTGGGACATCCGAGATGTTGCTTATGATGCTGAGGACGTTGTGCACATGTTTCATCCTTAAGGCT
 GAGGCCCTGAGGAGAAAAATCTTTGTCAAGCGCATTTTCCAAAAGCCGTGTATCTGCATAATCTTGGCAAGAAAAATGATGA
 GATCCAAACCAACCTCCATGACATCTCAAGGAGGCGAGAAATCCTGGGAATAAAAAATATTGGAGTAGGAACAAGTACTTCAA
 GTCAGATGCTGCAGAACTTAAGACGGACCACTCCTCGCGCGGAAAAACATGTCATTGTTGGGCTGAATGAAGAAGCAATAAG
 CTAGTGGAGCAGCTGACCACGGGGGACCCAGGCGCGCGTGGTTTCTATAGTAGGAATGGGCGGCATCGGCAAACTACTCT
 TGCCAAAGAAGTCTATAATCTAAGCAGAGTTATGGATCATTTCAGTCTTGTCTGTCTGGGTTTATGTATCTGAAGATTGTA
 GACCCAGGAATATTTTTCAGCAATTTCAAACCAACTCTTCATACCCAAAGCAGATAGAGAAATTGCAAGGAGAACGAGTTG
 GAGGATTACTTTCACAGGACCTTAGAGGAGAAAAATTTTGGTAGTTTGGATGACATAGGAAGAGTGACGATTGGAAGTG
 TCTTGCAGAGGTGTTCCAGAGGAGGATATGGCAGCAGATTACTTCTTACAACTCGAAATAAGGATGTTGCTTTGCAAGCAG
 ATGCTCGAAGTGTTCACATGACTTTCAGCTTCTCTCGGAAGAAGAGGTTGGAAGTTGTTTGTAGAACTGCAATCCCTGAC
 AATGTTACTGAGGCTTGTCTTTCAGAGTTGAAGGAATTTGGGAAAAATGGTGAAGAAATGTGCTGGTTTACCATTGGCTAT
 TGTGTTATTGGGAGGCTTGTGTTCTTCCAAAAGCAGTTGCCGACTATGTTGGGAAGAAGTGTTCACCAAACTCCGGGTGCACT
 TTGCCGACGCAATGGAGTAGATGCAATATTGAGCTTAAGCTACATCGATCTGCCCCCAACTTGAATCGTGCTTTCTTTAT
 CTAGGCTCTTTCCAGAGATCAGGTAATCTCCAAGAGAACATTACTGCTTCTATGGAATGGCTGAGGTTTGTTCACAGCA
 AGATGAACAAAGACTGGAGGACACTGCTGAGGATTATTGAAATGAGTTAATCAATAGAACTTGGTTCAAGCGGTAGCAGTGA
 GTGTAAATGAGAGATTACAGAAATGCCGGATTCTGATCTAGTACGGGATTATGTCATAAAAAAGCCAGGAGCAAACTTT
 GTTGAGATTCAAAGGACATAGTTTCTCTCCCTCAACTACTTCATCTTTTCCCTTTCACCAAAATCCCGTGCAGTAGGTATTTA
 TTTGGACTTGGAGAGGTATGCTTCCAGAGAACATTCAACCCCATATATCGGCTCTCTCTTTTGTACTCCAAGTAGTC
 CCCATAGTCGATATTATGGGATCTATCATGGTTAGATTTTATTACAAATATTCAAATTTACTTAGAGTTTAGACTTTGGGA
 AATGAAGAATCTATAGCCACCAAAATTCATTGGGAACTAGTTTCTTAAAGTACTTGAGATTAAACGCGCATAGGTATTTC
 AAATCTGCCACCTCTCTGTTTGGGAGTTTTCAGGAGCTGTGTAACTTTCCAACTCCTTAGATGAGCTAAGGAGTTTACAGA
 CTTTGGATATATGATTCTTAAAGGAAACCAACTATGATAGAGAAAAATGAAAAATCTACGACACCTTTTCTCTGATGAT
 AGAGAAGATGACAGGCTATTACGAGTTGACAACTTAAGAAATCTCCAACTCTGTCCGGAATATGTTTATGTTAGTTGGCAACA
 AATGACACAAAGTGATTAACTAGCCTTCGGAACCTGGAATAAAAAATGATGACGCGATAGTGGTGGAGTTTCAAACTCCA
 TTGCTAAGCTTGAGAATCTTCGCTCTTGTATCTTAAGGCATCACATTTCTCCGGGTTCATCCTTTGACATGAGCTCTTTG
 CTGACTTATCTAAGCTGCATATGSAAGATCCATAGGGCAATTACATGAGTTCCACCAAACTTAACAGCAGCTGACCTTAGA
 AGATACCTGAGCTAGACTATGAGCCATGGTAAATTTGGAGAAGCTGCCAAATTTGTTGACTTTAAGATTAAAGATGTGGTCAAT
 ACCGTGGATGGGAAATGCAAGTATCTCAGATGGCTTCTCCTCAACTCAAAATCTTCAACTTTCTGACTTATAAGGACGAG
 AAGTTGTTGATATAGAGAAGGGTGGCATGCAAACTTACTCAGTACAGATTTTAGAAGTGCTCTTGGAGCTATATGGACT
 TGGTGAAGCTCTTACATCTGAAGAGGATAGATCTCATTGATATATCTCCACACTCTCATCGCTGGATTCTCTTTACCTGTT
 CTCTGAATGGCAAGATATAAGAGAGTAACTAAATCTTTGTTCTCAAAATTTGATTGATTACTCATCTATTAGGATTAC
 TCTAAGCAGAGAGTTCTTAAAGAAATGGCCTTAGAGCATGGTTCCTTCAAGACTCTGGTTTTTCTCATGGCTATTTCCGATA
 TGACTAAATGATCACTCATGCTTATATTATTGGAGATTCAATTATTCTATTATCATCTTGTACCGCATAAATTTGATTATTACT
 AACAAAACTAGAAAGCAGCCCTTCTATAAAATTTCTATCCAAAGCAAAATCAACTATAGCCCTACCCCTGACCTTCTATAAACA
 TCAAAACCTGTAAGGATGCTCTTTCTTCTCTTGTATCTAATAGGTTGTGCTTGATTTCATCTCATGCTGACGACGAGAGG
 GAGAGAGGCAAGGATATATGGCACTTATACCGCCAATGA

Probe1 175, Probe2 1937, Probe3 2142, Probe4 2481, Probe5 2489, Probe6 2521 번째

도면5

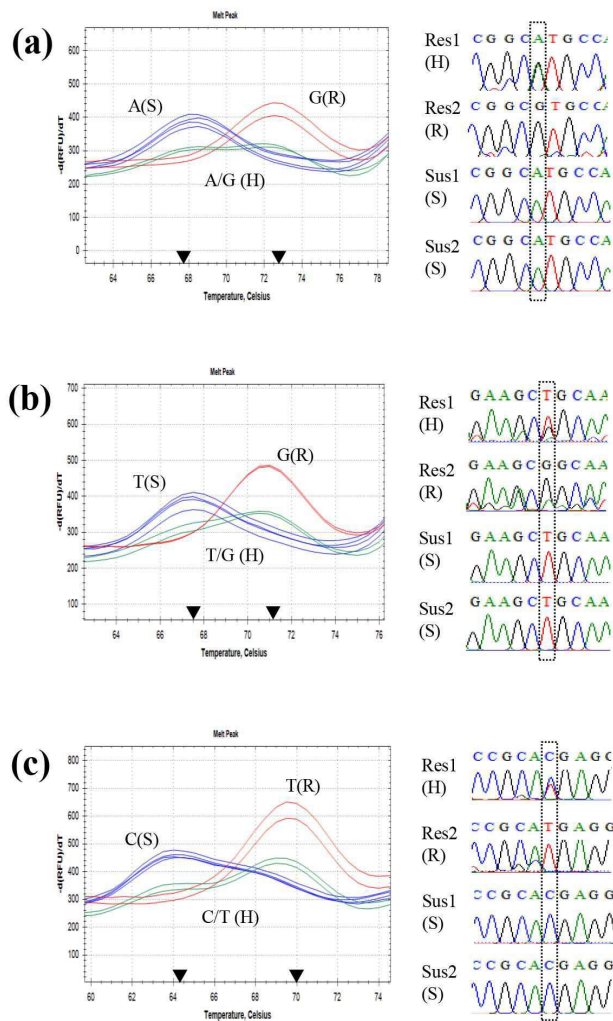
>RPPI3_Sus10 (Emerald Seedless)
 ATGGAAAGGGCTGTAATCTCCTTTGTCGTAACAGGATTGGTGACCAACTCATGGAAGAAGCAATTTTCTGAAGGAGGTGCG
 CCCACGAATTGAGAGGCTGATAGAGATCTGAAGGCGATCAACTGCTTCTTGAAGCAGCAGATGCGAAGCAAGAGGAAGACC
 CAAGAGTCTGTAAGTGGTTTCCGGACATCCGAGATGTTGCTTATGATGCTGAGGACGTTGTCGACATGTTTCATCCTTAAGGCT
 GAGGCCCTGAGGAGAAAATCTTTGTCAAGCGCATTTTCCAAAGCCCGTGATCTGCATAATCTTGGCAAGAAAATTGATGA
 GATCCAAACCACCTCCATGACATCTCAAGGAGGCGAGAAATCCTGGGAATAAAAAATTTGGAGTAGGAACAAAGTACTTCAA
 GTCAGATGCTCAGAAATCTAAGACGGACCACTCCTCGCGCCGAAAAACATGTCAATTGTGGGCGTGAATGAAGAAGCAAAATAG
 CTAGTGGAGCAGCTGACACCGGGGACCAAGGCGCCGCTGGTTTCTATAGTAGGAATGGGCGGCATCGGCAAAACTACTCT
 TGCCAGAAAGTCTATAATCATAGCAGAGTTATGGATCATTTTCAGTCTTGTGCTGTCTGGGTTTATGTATCCGAAGATTGTA
 GACCCAGGAATATTTTCAGCAAAATCTTAACCAACTCTTTCATAACCCAAAGCAGATAGAGAAAATTGACAGGAGAACGAGTTG
 GAGGATTTACTTTCACGAGCAGCTAGAGGAGAAAAGATTTTGGTAGTTTGGATGACATATGGAAAAGTGACGATTGGAAGTG
 TCTTGCAGGGGTGTTCCAGAGGAGAGTAATGCGAGCAGATTACTTCTTACAACTCGAAATGAAGATTTGCTTTGCAAGCAG
 ATGCTCGAAGTGTCCACATGACATGCAAGTCTCTCTCGGAAGAGAGGTTTGAAGTGTGTTTGTAGAACTGCAATTCCTGAC
 AATGTTACTGACGGTTGCTCTCCAGAGTTGAAGAAATTTGGGAAAAAATGGTGAAGAAATGTGCTGGTTTACCATTTGGCTAT
 TGTGTATTGGGAGGCTGTGTCTCTCCAAAGCAGTTGCCGACTATGTGGGAAGAGTCTTCAACAACTCCGGGTGCACT
 TTGCCGACGCAATGGAGTAGATGCAATATTGAGCTTAAGCTACATCGATCTGCCCCCAAACTTGAATCGTGCTTTCTTTAT
 CTAGGCTCTTTCAGAAAGATCAGGTAATCTCCAAGAGAACATTACTGCTTCTATGGATGGCTGAGGGTTTTGTTCCACAGCA
 AGATGAACAAAGACTGGAGGACACTGCTGAGGATTATTTGAATGAGTTAATCAATAGAACTTGGTTCAAGCGGTAGCAGTGA
 GTGTTAATGAGAGAGTTACAGAATGCCGGATTATGATCTAGTACGGGATTTATGCATAAAAAAGCCAAAGGAGCAAAACTTT
 GTTGAGATTCAAAGGACATAGTTTCTCTCCCTCAACTACTTCATCTTTTCTTCCAAATCCCGTCGACTAGGTATTTA
 TTTGGAATTTGAGAGGATGCTTCCAGAGAACATTCAACCCCATATATTGCGTCTCTCTCTTTTTTACTCCAACTAGGCC
 CCCATAGTCGATATTTATGGGATCTATCATGTTAGATTATTTTACAAATATTTCAAATTTACTTAGAGTGTAGACTTGGGA
 AATGTAAGATCTATGAGCCACCAATTCATTTTGGGAACTAGTTCATTTAAGGTACTTGAGATTACAGCGCATAGGTATTC
 AAAGTCTCCACCTTCTTGTTTGGGAGTTTGCAGGACTGTGTAACTTTCCAACTCCTTAGATGAGCTAAGGATTACAGA
 CTTTGGATATATGATTCTTAAGGAAACCAACTATGATAGAGAAAATGAAAAATCTACGACACCTTTTCTCTCGTATGAT
 AGAGAAGATGACAAAGCCATTACGGATTGACAATCTAAGAAATCTCCAACTCTGTCCGGAATATGGTTTAGTGATTGGCAACA
 AAATGACAAAGTGACCTTAACAGCCTTCCGAACTGAAATAAAAATGGATGAGCGCATAGTGGTGGAGTTTCAAACCTCCA
 TTGCTAAGCTTGAGAAATCTCGCTCCTTGTATCTTAAGGCATCACATTCTCGGGGTTCCATCCTTTGACATGAGCTCTTTG
 CTACATCTATCTAAGCTGCATATGAAAGATCCATAGGGCAATTACACGAGTTCACCACCAATCTAACACAGCTGACCTTAGA
 AGATCTGAGCTAGCATATAGCCCAATGGTGATTTTGGAGAAGCTGCCAAAATTTGTGACTTTAAGATTAAAGTATGGTGCAT
 ACCGTGGATGGGAAATGCAAGTATCTGCAGATGGCTTCCACAACCTCAAATCCTTCACTTTCTGACTTATAGGACCGACG
 AAGTTGTTGATTATAGAGAAGGGTGGCATGCAAACTTACTCAGTTACAGATTTTAGAAGTGCTTTGGACATCTATGGAAT
 TGGTGAGCTCTTACCTCTGAAGAGGATAGATGTCATTGATATCTCCAACTTCTCATCGCTGGATTCTCTTTACCCGTGT
 CTCTGTAATGGCAAGATATAAGAGGTACCTAAACTTTTGTCTCAAATTCATTTTGATTACTCATCTATTAAGGATTAC
 TCTAAGCAGAGAGTCTTAAGAAAAGGCGCTTAGAACATGGTTCCTCTCAACACTTCGTTTTTTCATTGCTCATTTTCGTA
 AAATGATCACTCATGCTATATATTGAGATTCATTATCTATTATCATCTGTACCGCATAAATTTGATTACTAATAAAA
 ACTAGAAGCAGCGCTTTCATAAAATCTATCCAAACAAATCAACTATAGCCCTACCCCTGACCTTCTATAAACATCAAAA
 CTGTAAGGATGCTCTGCTTTTCTCTCTTGTATCTATTAGTTGTGCTTGATTTTCATCTCCATTTCAGCAAGACGGAAGAA
 GGCAGGATATATGGCACTTATACCGCAATGA

Probe1 175, Probe2 1937, Probe3 2142, Probe4 2481, Probe5 2489, Probe6 2521 번째

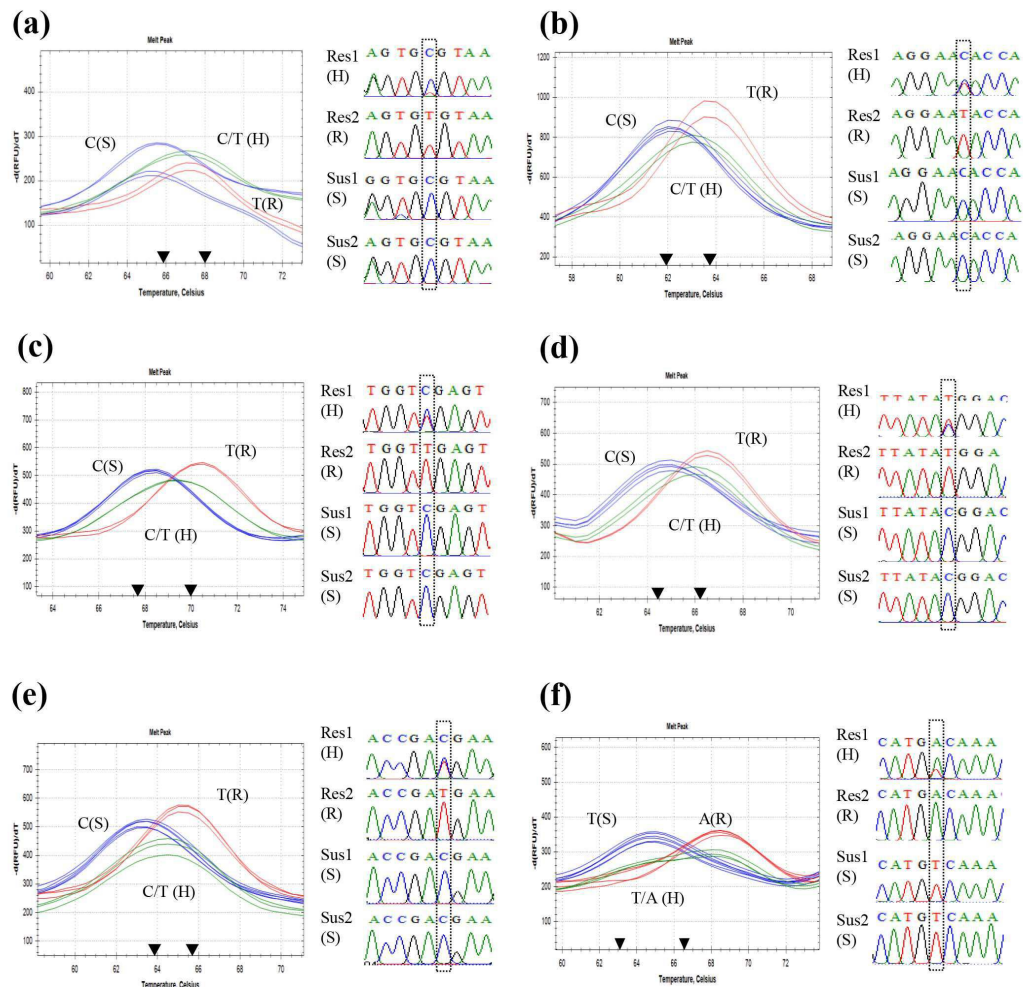
>RPPI3_Sus12 (Pinot Noir)
 ATGGAAAGGGCTGTAATCTCCTTTGTCGTAACAGGATTGGTGACCAACTCATGGAAGAAGCAATTTTCTGAAGGAGGTGCG
 CCCACGAATTGAGAGGCTGATAGAGATCTGAAGGCGATCAACTGCTTCTTGAAGCAGCAGATGCGAAGCAAGAGGAAGACC
 CAAGAGTCTGTAAGTGGTTTCCGGACATCCGAGATGTTGCTTATGATGCTGAGGACGTCGTCGACATGTTTCATCCTTAAGGCT
 GAGGCCCTGAGGAGAAAATCTTTGTCAAGCGCATTTTCCAAAGCCCGTGATCTGCATAATCTTGGCAAGAAAATTGATGA
 GATCCAAACCACCTCCATGACATCTCAAGGAGGCGAGAAATCCTGGGAATAAAAAATTTGGAGTAGGAACAAAGTACTTCAA
 GTCAGATGCTCAGAAATCTAAGACGGACCACTCCTCGCGCCGAAAAACATGTCAATTGTGGGCGTGAATGAAGAAGCAAAATAG
 CTAGTGGAGCAGCTGACACCGGGGACCCAAAGGCGCCGCTGGTTTCTATAGTAGGAATGGGCGGCATCGGCAAAACTACTCT
 TGCCAGAAAGTCTATAATCATAGCAGAGTTATGGATCATTTTCAGTCTTGTGCTGTCTGGGTTTATGTATCTGAAGATTGTA
 GACCCAGGAATATTTTCAGCAAAATCTTAACCAACTCTTTCATAACCCAAAGCAGATAGAGAAAATTGACAGGAGAACGAGTTG
 GAGGATTTACTTTCACGAGCAGCTAGAGGAGAAAAGATTTTGGTAGTTTGGATGACATATGGAAAAGTGACGATTGGAAGTG
 TCTTGCAGGGGTGTTCCAGAGGAGAGTAATGCGAGCAGATTACTTCTTACAACTCGAAATGAAGATTTGCTTTGCAAGCAG
 ATGCTCGAAGTGTCCACATGACATGCAAGTCTCTCTCGGAAGAGAGGTTTGAAGTGTGTTTGTAGAACTGCAATTCCTGAC
 AATGTTACTGACGGTTGCTCTCCAGAGTTGAAGAAATTTGGGAAAAAATGGTGAAGAAATGTGCTGGTTTACCATTTGGCTAT
 TGTGTATTGGGAGGCTGTGTCTCTCCAAAGCAGTTGCCGACTATGTGGGAAGAGTCTTCAACAACTCCGGGTGCACT
 TTGCCGACGCAATGGAGTAGATGCAATATTGAGCTTAAGCTACATCGATCTGCCCCCAAACTTGAATCGTGCTTTCTTTAT
 CTAGGCTCTTTCAGAAAGATCAGGTAATCTCCAAGAGAACATTACTGCTTCTATGGATGGCTGAGGGTTTTGTTCCACAGCA
 AGATGAACAAAGACTGGAGGACACTGCTGAGGATTATTTGAATGAGTTAATCAATAGAACTTGGTTCAAGCGGTAGCAGTGA
 GTGTTAATGAGAGAGTTACAGAATGCCGGATTATGATCTAGTACGGGATTTATGCATAAAAAAGCCAAAGGAGCAAACTTT
 GTTGAGATTCAAAGGACATAGTTTCTCTCCCTCAACTACTTCATCTTTTCTTCCAAATCCCGTCGACTAGGTATTTA
 TTTGGAATTTGAGAGGATATGCTTCCAGAGAACATTCAACCCCATATATTGCGTCTCTCTCTTTTTTACTCCAACTAGTGC
 CCCATAGTCGATATTTATGGGATCTATCATGTTAGATTATTTTACAAATATTTCAAATTTACTTAGAGTGTAGACTTGGGA
 AATGTAAGATCTATGAGCCACCAATTCATTTTGGGAACTAGTTCATTTAAGGTACTTGAGATTACAGCGCATAGGTATTC
 AAAGTCTCCACCTTCTTGTTTGGGAGTTTGCAGGACTGTGTAACTTTCCAACTCCTTAGATGAGCTAAGGATTACAGA
 CTTTGGATATATGATTCTTAAGGAAACCAACTATGATAGAGAAAATGAAAAATCTACGACACCTTTTCTCTCGTATGAT
 AGAGAAGATGACAAAGCCATTACGGATTGACAATCTAAGAAATCTCCAACTCTGTCCGGAATATGGTTTAGTGATTGGCAACA
 AAATGACAAAGTGACCTTAACAGCCTTCCGAACTGAAATAAAAATGGATGAGCGCATAGTGGTGGAGTTTCAAACCTCCA
 TTGCTAAGCTTGAGAAATCTCGCTCCTTGTATCTTAAGGCATCACATTCTCGGGGTTCCATCCTTTGACATGAGCTCTTTG
 CTACATCTATCTAAGCTGCATATGACCCCAATGGTGATTTTGGAGAAGCTGCCAAAATTTGTGACTTTAAGATTAAAGATGGTGCAT
 AGATCTGAGCTAGCATATGACCCCAATGGTGATTTTGGAGAAGCTGCCAAAATTTGTGACTTTAAGATTAAAGATGGTGCAT
 ACCGTGGATGGGAAATGCAAGTATCTGCAGATGGCTTCCCTCAACTCAAAATCCTTCACTTTCTGACTTATAGGACCGACG
 AAGTTGTTGATTATAGAGAAGGGTGGCATGCAAACTTACTCAGTTACAGATTTTAGAAGTGCTTTGGACATCTATGGAAT
 TGGTGAGCTCTTACCTCTGAAGAGGATAGATGTCATTGATATATCTCCAACTTCTCATCGCTGGATTCTCTTTACCCGTGT
 CTCTGTAATGGCAAGATATAAGAGGTACCTAAACTTTTGTCTCAAATTCATTTTGATTACTCATCTATTAAGGATTAC
 TCTAAGCAGAGAGTCTTAAGAAAAGGCGCTTAGAACATGGTTCCTCTCAACACTTCGTTTTTTCATTGCTCATTTTCGTA
 AAATGATCACTCATGCTATATATTGAGATTCATTATCTATTATCATCTGTACCGCATAAATTTGATTACTAATAAAA
 ACTAGAAGCAGCGCTTTCATAAAATCTATCCAAACAAATCAACTATAGCCCTACCCCTGACCTTCTATAAACATCAAAA
 CTGTAAGGATGCTCTGCTTTTCTCTCTTGTATCTATTAGTTGTGCTTGATTTTCATCTCCATTTCAGCAAGACGGAAGAA
 GGCAGGATATATGGCACTTATACCGCAATGA

Probe1 175, Probe2 1937, Probe3 2142, Probe4 2481, Probe5 2489, Probe6 2521 번째

도면6



도면7



서열 목록

<110> The Industry & Academic Cooperation in Chungnam National University (IAC)

<120> Marker composition for discriminating anthracnose-resistant or sensitive grape cultivar and uses thereof

<130> PN19170

<160> 27

<170> KoPatent In 3.0

<210> 1

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 1

gttgattct caaactccat tgc

<210> 2
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> primer
 <400> 2
 aggtaactgt ggtatgcgtc c 21
 <210> 3
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 3
 gaagagactg agttggacta tga 23
 <210> 4
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 4
 gaattacttt gagtctagga aagc 24
 <210> 5
 <211> 24

 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 5
 gctttcctag actcaaagta attc 24
 <210> 6
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer

<400>	6	
gtaatgacat ctaccttctg cag		23
<210>	7	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	7	
tgaagcgat caactgcttc tta		23
<210>	8	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	8	
ctcagcctta aggatgaaca tgt		23
<210>	9	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	9	
gggagtttgc aggactgtgt a		21
<210>	10	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	primer	
<400>	10	
tcaatccgta atggcttgatc atc		23
<210>	11	
<211>	23	
<212>	DNA	

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 11

cacaagtgac ttaactagcc ttc 23

<210> 12

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 12

agcaaagagc tcatgtcaaa gga 23

<210> 13

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 13

atgtgggtcat accgtggatg g 21

<210> 14

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 14

agtccataga tgtccaagac act 23

<210> 15

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 15

atgtgggtcat accgtggatg g 21

<210> 16

<211> 23

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 16
 agtccataga tgtccaagac act 23

<210> 17
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 17
 atgtgggtcat accgtggatg g 21

<210> 18
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 18
 agtccataga tgtccaagac act 23

<210> 19
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> probe
 <400> 19
 cccggcgtgc catcctttgt catgaa 26

<210> 20
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> probe
 <400> 20
 gcaatttttg agaagcggca aaaattgttg ac 32

<210> 21
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> probe
 <400> 21
 ttgggttaaa ccgcatgagg aggttgaata t 31
 <210> 22
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> probe
 <400> 22
 aggaagaccc aagagtgtgt aactgg 26
 <210> 23
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> probe
 <400> 23
 gtatttctaa aggaatacca actatgatag ag 32
 <210> 24
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> probe
 <400> 24
 tgacgcgata gtggttgagt tttcaaactc 30
 <210> 25
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> probe
 <400> 25

atccttcaac tttctgactt atatggaccg a 31

<210> 26

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> probe

<400> 26

ggaccgatga agttgttgat tatagaga 28

<210> 27

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> probe

<400> 27

gaagggtggc atgacaaacc ttactc 26