

## Analysis of Microsatellite Patterns in the Genome of Red Sea Cucumber

Tae Wook Lee<sup>1†</sup>, Sam Woong Kim<sup>2†</sup>, Jung Sun Kim<sup>3</sup>, Won-Jae Chi<sup>4</sup>, Woo Young Bang<sup>5</sup>,  
Jang Hyeon Kim<sup>6</sup>, Chul Woong Yang<sup>6</sup>, Kyu Ho Bang<sup>1</sup> and Sang Wan Gal<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmaceutical Engineering, Gyeongsang National University, Jinju 52725, Korea

<sup>2</sup>Agri-Food Bio Convergence Institute, Gyeongsang National University, Jinju 52725, Korea

<sup>3</sup>Bios Co., 55 Dongjinro, Jinju, Gyeongnam 52725, Korea

<sup>4</sup>Microorganism Resources Division, National Institute of Biological Resources (NIBR), Environmental Research Complex, Incheon 22689, Korea

<sup>5</sup>Biological and Genetic Resources Utilization Division, National Institute of Biological Resources (NIBR), Environmental Research Complex, Incheon 22689, Korea

<sup>6</sup>Lab of Aquatic Animal Diseases, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

Received July 8, 2022 / Revised August 1, 2022 / Accepted August 4, 2022

This study was conducted to analyze genome of red sea cucumber and to use it as basic data for the development of genetic markers for red sea cucumber. Microsatellite marker analysis of Ulleungdo\_ normal and Ulleungdo\_native red sea cucumbers revealed that dinucleotide simple sequence repeats (SSRs) had the highest ratio, at 81.3~81.4%, and the number of the detected SSRs tended to decrease as the number of repeating sequence units in SSRs increased. In general, microsatellites with between 5 and 10 iterations were most common. As the size of the SSR repeating sequence units increased, the SSR iterations gradually decreased. The di-, tri-, and tetra-nucleotides in SSRs were detected in the highest numbers as (AT)<sub>5</sub>, (AAT)<sub>5</sub>, and (AAAT)<sub>5</sub>, respectively. (CG) and (CCG) had very low frequencies compared to the numbers of other repeating SSR units. The numbers of di- and tri-nucleotide repeats were up to 35 and 32, respectively, and then increased discontinuously up to 44 and 43 repeats, respectively. Tetra-, penta-, and hexa-nucleotides in SSRs occurred in numbers up to 25, 21 and 14, respectively. This analysis of red sea cucumber indicated that it maintains its own repetition sequence and repetition number; therefore, we suggest that using it as basic data for molecular marker will be possible in future research.

**Key words :** Genomics, microsatellite, red sea cucumber, repeat number, repeat unit

### 서 론

해삼은 연근해에 서식하는 해양 무척추동물 중의 하나로서 한국, 중국, 일본 등에서 많이 소비되고 있으며[6], 콜라겐 및 뮤코다당류가 많이 포함되어 건강기능성 식품으로 각광받고 있다[4, 12]. 국내에서 최근래 각 지자체에서 수행하고 있는 해삼씨뿌림 사업으로 고갈되어 가던 해삼을 개체수를 점차 확장 시켜오고 있다. 국내에서 식용으로 사용하는 해삼은 청해삼, 흑해삼, 홍해삼 등으로 분류되며, 국내에서 씨뿌림사업으로 종자 생산을 수행하는 것은 청해삼과 홍해삼이 진행되고 있다. 시중에서 해

삼의 가격은 청해삼, 흑해삼, 홍해삼 순서로 나타나고 있다. 국내에서 수산자원 중에 해삼 무척추동물에 대한 연구는 매우 미흡하고, 대부분의 연구는 어류에 대해 집중적으로 되어 오고 있다.

해삼은 세계적으로 약 1,400종이 분포하며[17, 23], 이 중에서 식품으로 활용이 가능한 것은 40종 이상으로 분류되어 있다[21]. 해삼 중 중에서 상업적으로 중요한 것은 11종으로 알려져 있다[14, 16]. 해삼은 중국 및 말레이시아에서 고혈압, 천식, 류마티스, 배인 상처, 화상, 발기부전, 변비 등의 전통적 치료제로써 사용되어져 오고 있다[19, 22]. 영양적으로 해삼은 비타민 B1 (티아민), 비타민 B2 (리보플라빈), 비타민 B3 (니아신), 미네랄 등이 많이 함유되어 있다[1, 20].

청해삼, 흑해삼, 홍해삼 등은 해삼의 표면 색상에 의해 분류된 것이지만, 분류학적으로 같은 종에 포함되는 것이다[9]. 청해삼은 국내에서 생산되는 해삼의 주류를 형성하며, 어릴 때는 내만의 해조류 서식장, 암초지대 등 홍해삼과 유사한 영역에서 서식하지만, 성장함에 따라 보다 외양으로 이동한다. 홍해삼보다 넓게 분포하는 특성이 있으며,

<sup>†</sup>Authors contributed equally.

\*Corresponding author

Tel : +82-55-772-3393 Fax : +82-55-751-3399

E-mail : [sangal@gnu.ac.kr](mailto:sangal@gnu.ac.kr)

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

조류 소통이 좋고 용존산소가 풍부한 해역에 많이 서식한다[3, 15]. 홍해삼은 제주지역의 특산품으로 강원도, 울릉도 등 일부 지역에서만 서식하며, 생산량이 매우 적다. 홍해삼은 청해삼보다 칼슘, 인, 마그네슘 등이 많고, 크기도 큰 경우가 많아 청해삼보다 비싸게 거래된다[9, 10].

초위성체를 이용하는 유전자 마커는 법의학, 암진단 및 생물계통발생 등의 확인을 위해 최근래 다양한 생물 종에서 개발되고 있다[8]. 척추동물이나 식물의 경우에는 유전자 마커 개발이 비교적 활발하게 진행되고 있다[8]. 청해삼은 해삼 씨뿌림 사업을 수행하기 위해 유전자 마커가 개발되어 유전자분석을 실시하고 있다. 그러나 다른 생물 종에 비교하여 해양무척추동물에 대한 전세계적인 연구가 아직 미흡한 관계로 완전한 청해삼 유전체 서열에 대해 알려진 바가 없고, 단지 부분적 유전체 분석이 진행되어 있는 현황이다. 홍해삼은 최근래 제주도를 비롯하여 다양한 지역에서 씨뿌림 사업을 진행하여 그 영역을 확장해 오고 있다. 청해삼과 홍해삼은 같은 종내에 포함되어 동일한 유전자 마커로서 유전자 분석을 실시할 수 있을 것으로 예상되었다. 그러나 홍해삼은 청해삼 유전자 마커로 실시할 경우에는 유전자 증폭이 대부분이 발생되지 않아 청해삼 마커로써 분석을 실시하는 것이 불가능한 것으로 나타났다. 이와 같은 이유에 기인하여 유전자 분석을 위한 마커 개발이 요구되고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 홍해삼의 microsatellite 부위를 분석하고 simple single repeats (SSRs)의 특성을 분석하여 향후 유전자 마커 개발을 위한 기초 자료로 활용하기 위해 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 홍해삼 시료에서 게놈 DNA 분리 및 서열 분석 준비

홍해삼 시료는 제주, 남해, 울주, 울진, 울릉도 양식(일반) 및 토착종 등을 포함하여 다양하게 포획하여 본 연구에 사용하였다.

홍해삼의 게놈 DNA 추출은 QuickGene DNA Whole Blood Kit S, (KURABO, Osaka, Japan)을 사용하여 분리하였고, 이 DNA를 DNA-Seq (DNA sequencing)에 사용하였다.

### DNA Library 구축 및 sequencing

분리된 DNA는 Covaris S2 ultra sonicator system을 이용하여 fragmentation 단계를 거친 후, Truseq Nano DNA sample prep kit (Illumina, Inc., San Diego, CA)을 이용하여 350 bp의 DNA 단편으로 구성된 라이브러리를 구축하였다. 이러한 최종 산물은 2100 BioAnalyzer를 이용하여 확인하였다. DNA 단편들은 blunt end로 제작되었고, 인산화한 후에, single “A” 뉴클레오티드가 single “T” overhang을 가지는 어댑터에 라이게이션을 위해 3'-말단에 추가되었다. 게

놈 DNA 단편의 양 말단에 어댑터 라이게이션은 게놈 단편에 각 가닥의 5'-와 3'-말단에 다른 서열을 제공했다. 라이브러리의 질은 capillary electrophoresis (Bioanalyzer, Agilent)에 의해 입증되었다.

구축된 라이브러리는 QX200 Droplet Digital PCR System (Bio-Rad)에 의해 정량 후에, Whole-genome sequencing을 Illumina NovaSeq 6000 system (Illumina)에 의해 수행하였다.

### 유전체 정보 확보를 위한 생물정보학 분석

확보된 sequence reads는 sickle (v1.33)와 BWA ver. 0.7.12.을 사용하여 고품질의 reads만 필터하여 얻었고, 이것은 홍해삼에 대해 mapping 및 genome assembly을 하는데 사용되었다. Mapping이후, local realignment는 GATK ver. 3.1-1을 사용하여 수행하였고, duplicates는 Picard ver. 1.98 (<http://picard.sourceforge.net>)을 사용하였다. 서열상의 변이들은 GATK ver 3.1-1을 통해 calling이 이루어졌으며, 변이에 대한 annotation은 SnpEff (v.4.1)에 의해서 수행되었다.

## 결과 및 고찰

### 게놈 추출 및 유전체분석결과

본 연구에서는 제주, 울릉도, 울진, 울주, 남해, 거제도 등 다양한 지역에서 홍해삼을 수거하였다. 그러나 울릉도\_일반, 울릉도\_토착, 제주, 울진, 울주 등의 영역을 제외하고, 나머지 영역에서는 유전체 추출이 효과적으로 수행되지 못했다(data not shown). 유전체 분리가 완전하지 못한 것은 홍해삼을 수거 운반하는 과정에서 보관이 잘못되었거나, 잘 알려지지 않은 원인에 기인하여 유전체 분리가 제대로 수행되지 못해서 나타나는 현상으로 추정된다. 울릉도\_일반을 포함하는 5 국내지역에서 분리된 홍해삼 유전체는 비교적 양호한 상태로 나타났지만, 울진 홍해삼 게놈 추출물에서 약간 낮은 정제도를 나타내는 것으로 관찰되었다(Table 1). 다른 한편으로 제주에서는 다른 지역에 비교하여 약간 낮은 게놈 농도 및 정제도(260/230)를 나타내었다. 유전체 분석결과 울릉도\_일반, 울릉도\_토착, 울주 등은 제주나 울진에 비교하여 각각 2.8배와 5.2배 이상의 read수가 차이가 나타났다(Table 2). 따라서 게놈의 정제도는 게놈 정량과 상관관계가 있는 것으로 추정되었다. 분석된 서열의 질적인 양상은 >Q30 bases가 93.58 이상으로 높게 형성되어 read가 효과적으로 진행된 것으로 나타났다. 다른 한편으로 SSRs의 분석 결과, 울릉도\_토착과 울주는 모든 SSRs가 일치하는 것으로 나타났기 때문에 동일한 유전체 서열을 가지는 것으로 추정되었다.

유전체 분석결과를 종합하면, 울릉도\_일반 및 토착을 제외하고 나머지는 대체적으로 전체 유전체 분석 수가

Table 1. Results of genomic DNA extraction

Sample ID	Nanodrop Conc. (ng/ml)	260/280	260/230	Qubit Conc. (ng/ml)	Vol. (ml)	Total (mg)
Ulleungdo_Normal	74.6	1.81	2.23	71.0	28	1.99
Ulleungdo_Native	86.0	1.81	2.20	85.2	29	2.47
Jeju	55.9	1.84	2.00	56.0	29	1.62
Uljin	72.9	1.79	1.77	70.2	29	2.04
Ulju	72.3	1.87	2.24	66.9	28	1.87

Table 2. Results of genomic analyses

Sample_ID	Yield (Bases)	Reads	% of >= Q30 Bases (PF)	Mean Quality Score (PF)
Ulleungdo_Normal	25,924,394,985	171,684,735	94.28	36.08
Ulleungdo_Native	25,106,869,811	166,270,661	93.86	36.01
Jeju	9,382,545,966	62,136,066	93.71	35.98
Uljin	5,020,448,151	33,248,001	93.59	35.97
Ulju	24,587,812,747	162,833,197	93.88	36.02

낮은 관계로 본 연구에서는 다른 지역의 유전체 정보를 제외하였고, 울주는 울릉도\_토착과 SSRs가 일치한 관계로 이후 연구에서 울릉도\_일반 및 토착 두 영역에 해당하는 것만을 추가 연구의 대상으로 하였다. 울릉도\_일반 및 토착 지역에 해당하는 SSRs의 분석 결과 di->tri->tetra->penta->hexa-nucleotide 반복 수의 개수로써 양쪽 지역의 SSRs의 특성이 유사한 양상을 나타내었다(Fig. 1). 본 연구에 사용된 울릉도\_일반에 포함된 SSRs에 대한 유전자 부위 조사에서 intergenic 영역과 intron이 각각 38%와 56%로 두 영역에 포함된 SSRs가 94% 이상인 것으로 나타났다(data not shown). Exon 및 유전자 발현과 연관된 영역은 낮은 빈도로 SSRs가 존재하였다. 이와 같은 결과는 이전에 연구된 결과에서도 유사하게 intron 부위에서 높게 탐색 되는 것으로 관찰되었다[5, 11].

**낮은 반복 단위 SSRs의 특성**

Di-와 tri-nucleotide SSRs은 일반적으로 stutter나 우선 증폭(preferential amplification)이 발생할 수 있기 때문에 법의학에서는 활용이 전혀 되지 않는다[2]. Di-와 tri-nucleotides SSRs은 전체 SSRs에 대해 96%를 차지하는 것으로 나타났으며, 특히 dinucleotides SSRs은 81.3% 이상의 높은 비율을 차지하는 것으로 나타났다(Fig. 2). 이와 같은 양상은 대부분의 유전체 분석에서 나타나는 일반적인 현상인 것으로 추정된다[7, 11, 13, 18].

Dinucleotide SSRs는 AC, AG, AT, CG 등으로 구성되며, 이 중에서 AT가 울릉도\_일반 및 토착에서 57.3%로 가장 높게 구성되어 있다. AC와 AG는 각각 22.7와 19.7%로 나타난 반면에 CG는 0.1(울릉도\_토착)과 0.3%(울릉도\_일반)로 관찰되었다. 이와 같은 결과는 *Acipenser dabryanus*의 전사체 분석결과에서 나타난 전체 SSRs에 대해 AC,

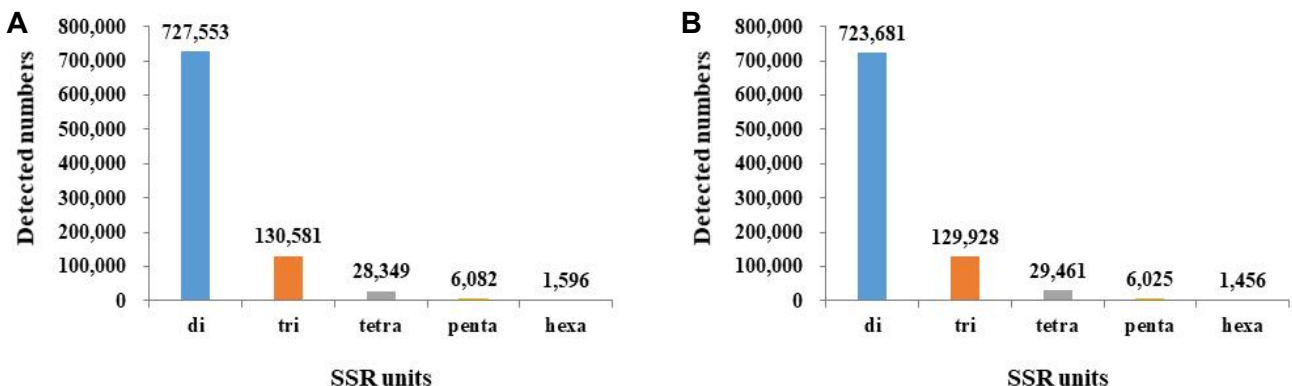


Fig. 1. Dispersion of SSRs in genomics of red sea cucumber. (A) Ulleungdo\_normal and (B) Ulleungdo\_native. The genomics were analyzed for red sea cucumbers, Ulleungdo\_normal and native. SSR units were evaluated from di-nucleotides to hexa-nucleotides. X- and Y-axes in Figures indicate SSR units and detected numbers in each SSR units, respectively.

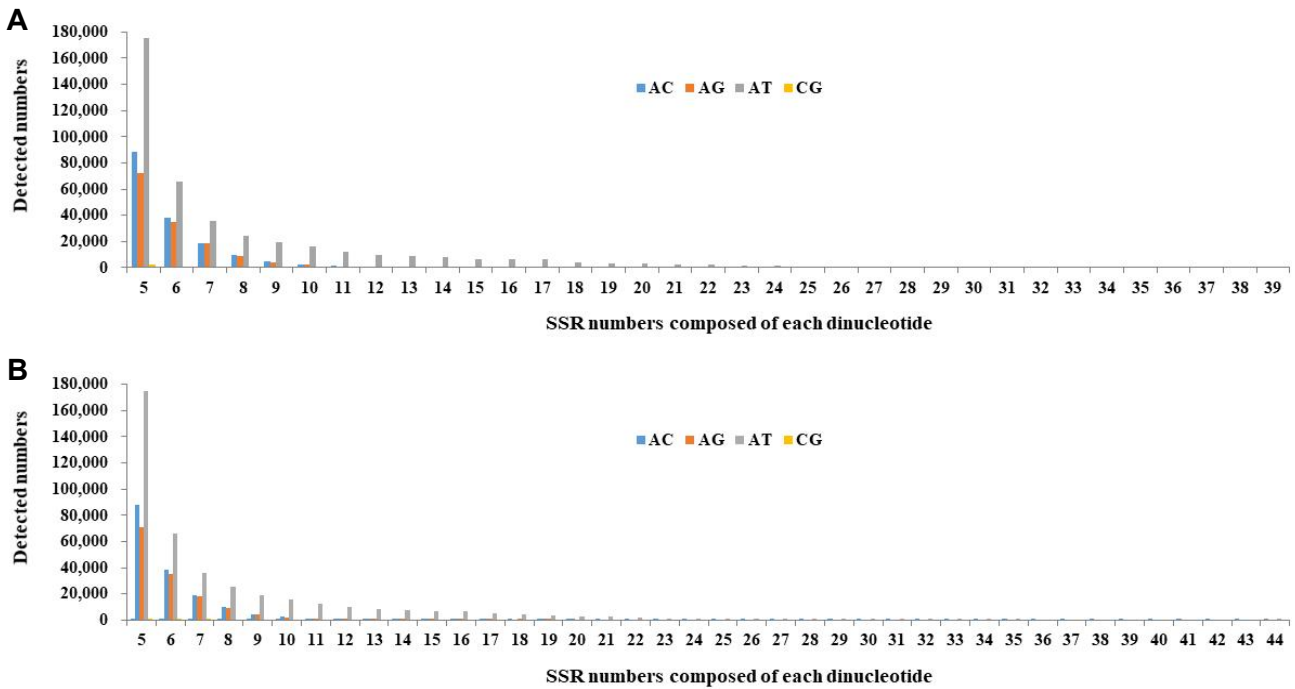


Fig. 2. Dispersion of SSRs composed of each di-nucleotide. (A) Ullengdo\_normal and (B) Ullengdo\_native. SSRs composed of di-nucleotides such as AC, AG, AT and CG were observed in ranges from 5 repeats to 44 repeats. X- and Y-axes in Figures mark numbers of each SSR and numbers of the detected each SSR among red sea cucumber genomics, respectively.

AT, AG에 대해 각각 25.7, 22.2, 17.3%로 나타난 것에 대해 다른 양상이었다[13]. 다른 한편으로, 14종 어류의 경우에는 exon 내부에 AC와 AG가 비교적 높게 관찰되었다[11]. 그러나 CG는 모두 낮게 조성되는 것으로 추정된다. 따라서 유전체 또는 전사체 등 분석 방법이나 존재하는 위치에 따라 SSRs의 패턴이 변경될 가능성이 높은 것으로 추정된다.

본 연구에서 4 종류의 di-nucleotide SSRs는 모두 5 반복수의 개수가 가장 높게 관찰되었고, 반복수의 증가에 따라 점차 관찰되는 개수가 감소되는 양상을 보였다(Fig. 2). 그러나 이전 연구의 Little millet의 경우에서 6 반복수가 가장 높게 나타났고, 다음에 8 반복수가 높은 것으로 나타났다[5]. 이와 같은 현상은 little millet에 나타나는 고유한 현상일 수도 있지만, 이 연구가 전사체 분석으로 나타난 SSRs에 기인하여 나타나는 패턴일 수도 있을 것으로 추정된다.

Tri-nucleotide SSRs는 10 종류가 존재했으며, 두 유전체의 SSRs 사이에는 동일한 SSRs 타입을 보유한 것으로 나타났다(Fig. 3). Tri-nucleotide SSRs 중에서 AAT가 41%로 울릉도 두 샘플에서 모두 가장 높은 것으로 관찰되었다. *Acipenser dabryanus*의 전사체 분석결과에서 AAT가 전체 SSRs에 대해 17.25%로 tri-nucleotide 중에서 가장 높은 것으로 평가된 것과 동일한 양상을 보였지만[13], 본 연구에서 AAT가 tri-nucleotide 중에서 보다 높은 빈도로 검출되

는 현상을 볼 수 있었다. 그 외에 tri-nucleotide SSRs의 빈도는 AAG>AAC>ATC 등의 순서로 나타났다. tri-nucleotide SSRs의 반복수는 5 반복수가 가장 높았고, 그 이후에는 점차적으로 감소되는 경향성을 보였다(Fig. 3). 그러나 이전 연구의 Little millet의 경우에서 8 반복수가 가장 높게 나타났고, 다음에 6 반복수가 높은 것으로 나타났다[5].

종합적으로 낮은 반복 단위 SSRs은 특정 서열의 SSRs이 분석 방법이나 염색체 위치에 따라 다양하게 나타날 가능성을 보였고, 낮은 반복수가 많이 존재하는 것으로 나타났다.

### 높은 반복 단위 SSRs의 특성

4~6 SSRs는 포렌식에 일반적으로 활용되어 오고 있지만, 취급 방법이나 보존된 상태에 따라 분해에 취약한 단점을 가지고 있다[2]. Tetra-nucleotides는 울릉도\_일반과 토착에서 각각 32와 31 SSR 타입들을 보유하고 있다. 울릉도\_일반에서 특이적으로 보유된 SSR 타입은 ACCG, CCGG인 반면에 울릉도\_토착에서는 AGCG가 특이적으로 존재했다. 낮은 반복 단위에 비교하여 대체적으로 각 SSR들은 낮은 빈도로 분포되어 있었으며, ATTT>ACAT>AGGG>AATG 등의 순서로 분포되어 있었다(Fig. 4). 이와 같은 결과는 *Acipenser dabryanus*의 전사체 분석결과에 ATTT가 가장 높게 나타났지만, ATTT>ACAG>AAAC 등의 순서와는 약간 상이한 것으로 관찰되었다[13]. Penta-

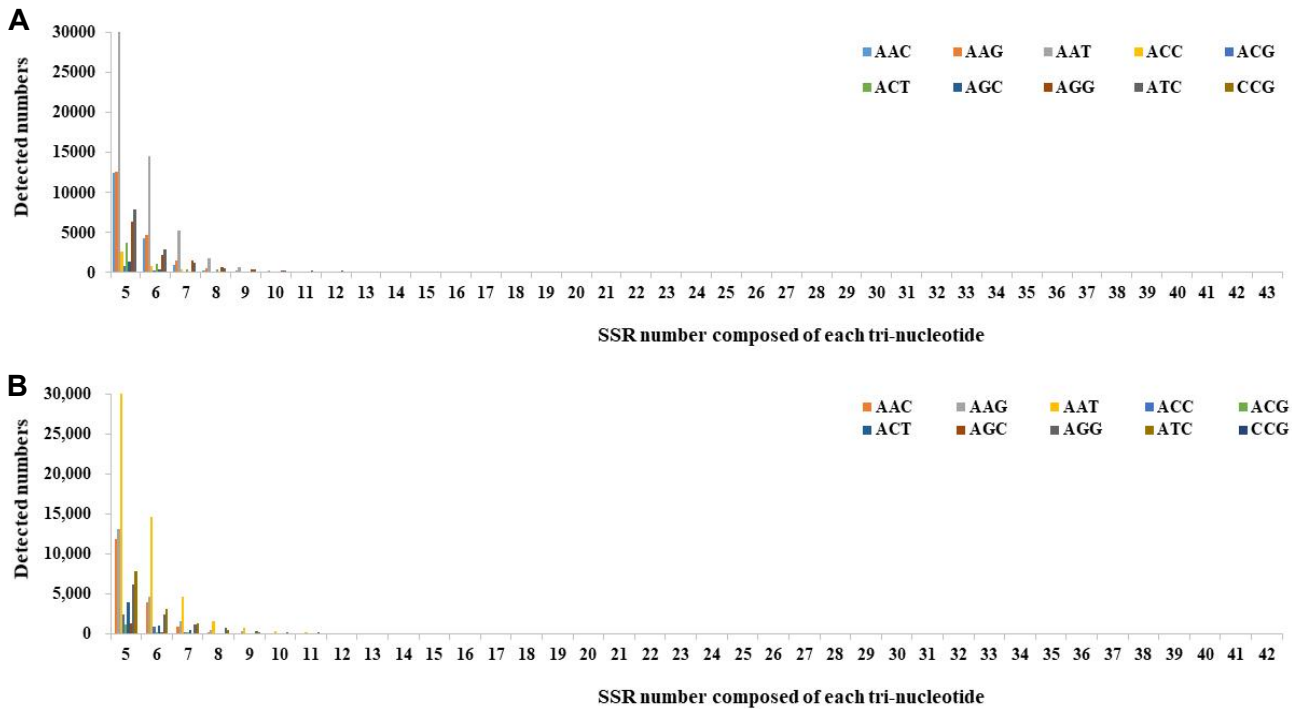


Fig. 3. Dispersion of SSRs composed of each tri-nucleotide. (A) Ullengdo\_normal and (B) Ullengdo\_native. SSRs composed of tri-nucleotides were exhibited in ranges from 5 repeats to 43 repeats. X- and Y-axes in Figures mark numbers of each SSR and numbers of the detected each SSR among red sea cucumber genomics, respectively.

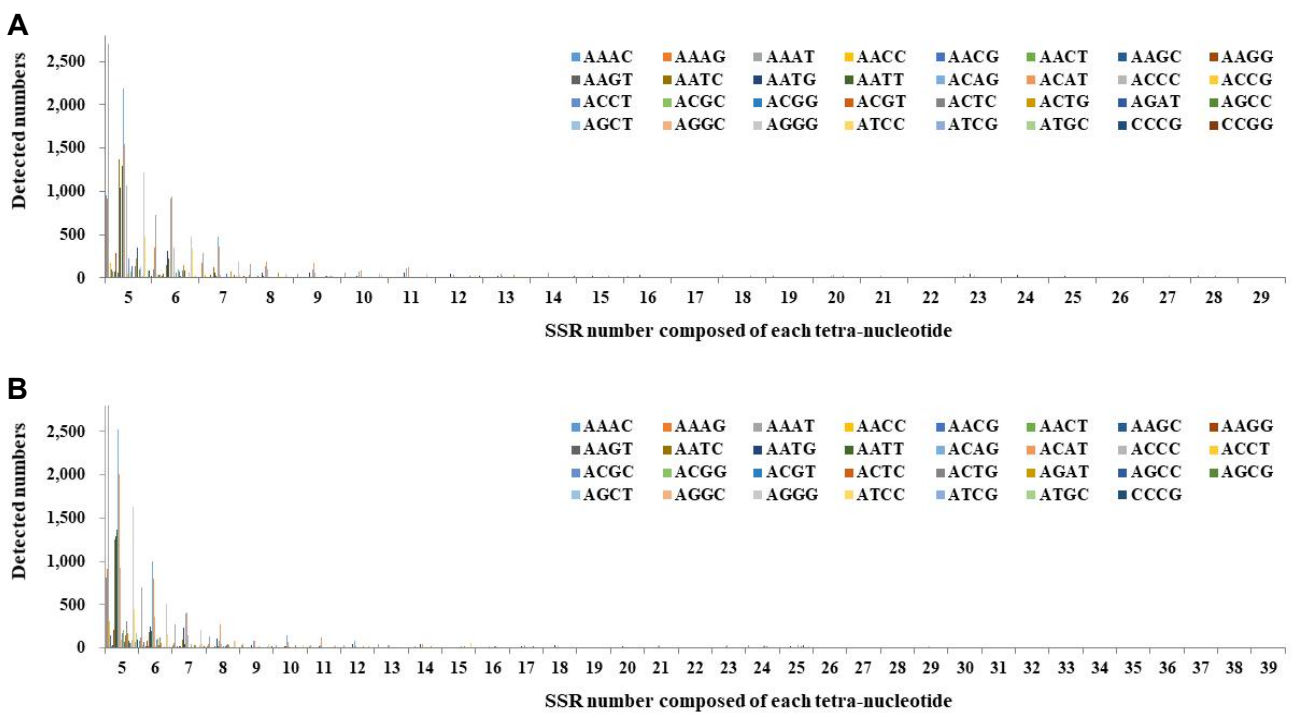


Fig. 4. Dispersion of SSRs composed of each tetra-nucleotide. (A) Ullengdo\_normal and (B) Ullengdo\_native. SSRs composed of tetra-nucleotides were showed in ranges from 5 repeats to 39 repeats. X- and Y-axes in Figures mark numbers of each SSR and numbers of the detected each SSR among red sea cucumber genomics, respectively.



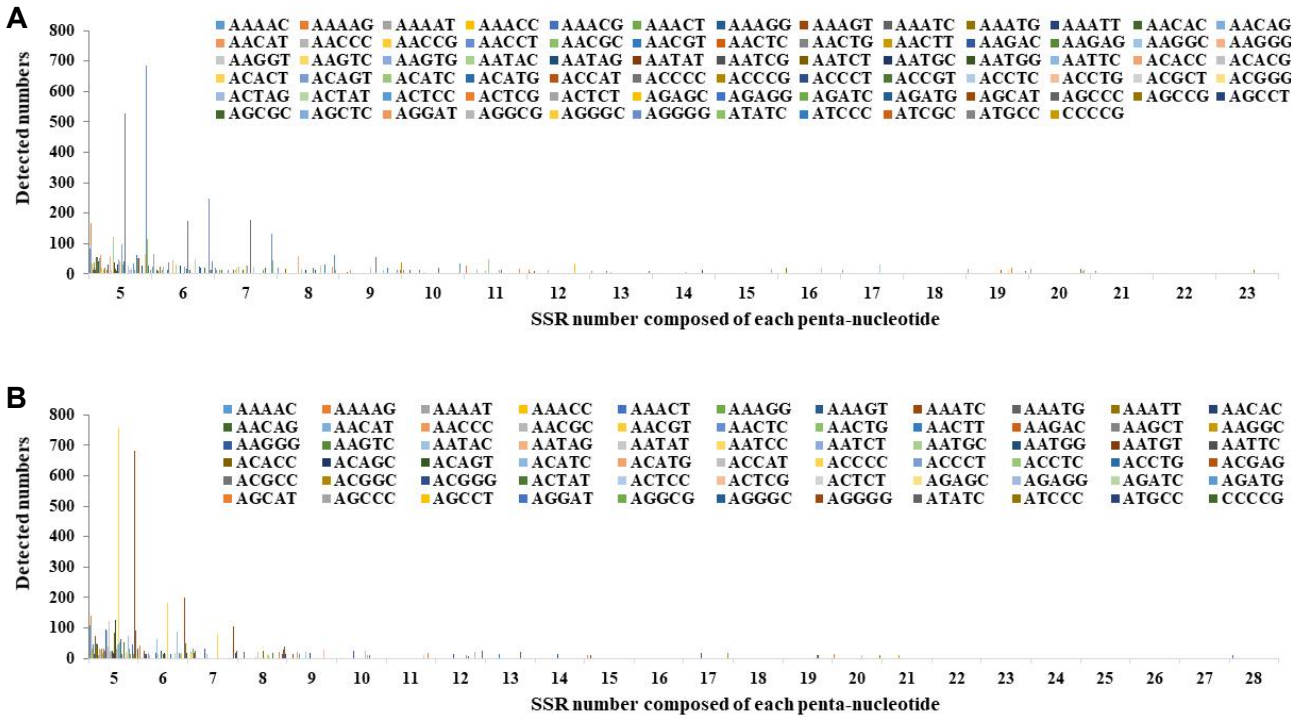


Fig. 5. Dispersion of SSRs composed of each penta-nucleotide. (A) Ullengdo\_normal and (B) Ullengdo\_native. SSRs composed of penta-nucleotides were observed in ranges from 5 repeats to 28 repeats. X- and Y-axes in Figures mark numbers of each SSR and numbers of the detected each SSR among red sea cucumber genomics, respectively.

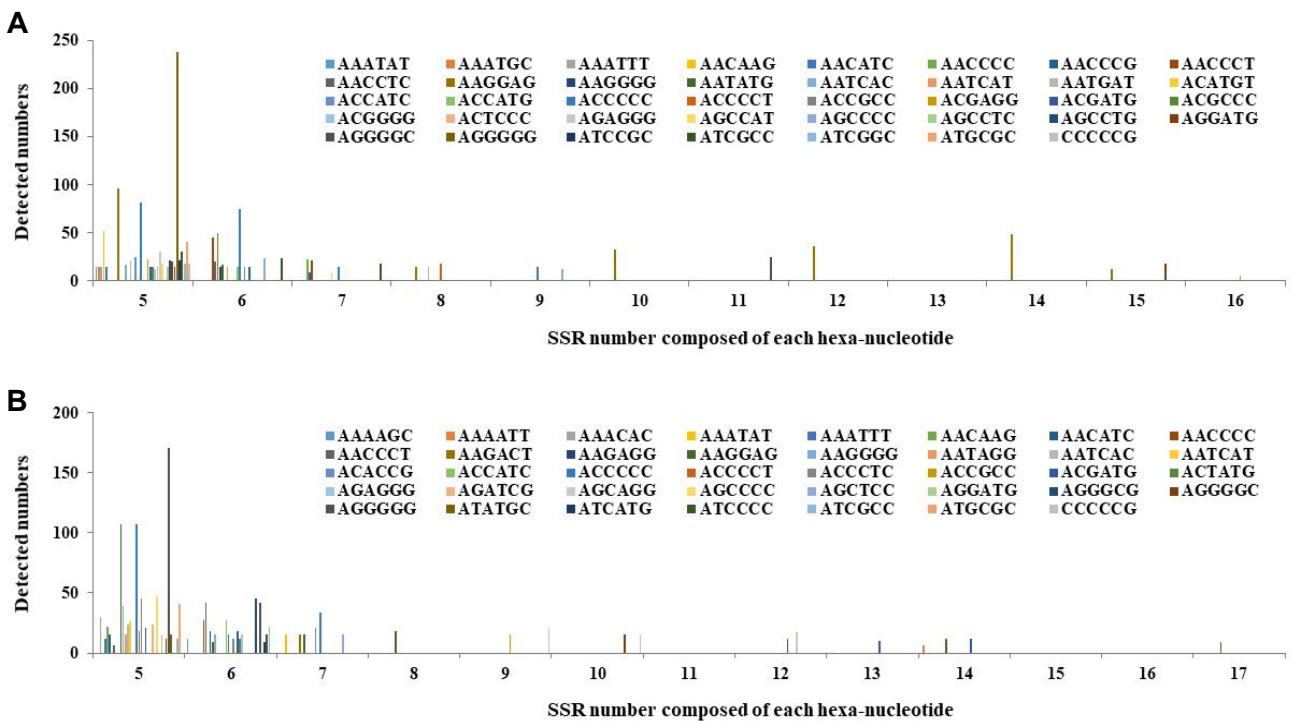


Fig. 6. Dispersion of SSRs composed of each hexa-nucleotide. (A) Ullengdo\_normal and (B) Ullengdo\_native. SSRs composed of hexa-nucleotides were exhibited in ranges from 5 repeats to 17 repeats. X- and Y-axes in Figures mark numbers of each SSR and numbers of the detected each SSR among red sea cucumber genomics, respectively.

및 hexa-nucleotide SSR은 모두 각각 5% 미만으로 존재하는 것으로 나타났다(Fig. 5, Fig. 6). Penta-nucleotide SSR은 울릉도\_일반과 토착에서 각각 76과 66개 타입으로 존재했다(Fig. 5). 울릉도\_일반에서는 AAACG, AACCG, AACCT, AAGAG, AAGGT, AAGTG, AATCG, ACACG, AACT, ACCCG, ACCGT, ACGCT, ACTAG, AGCCG, AGCGC, AGTC, ATCGC 등 17 SSRs가 특이적으로 존재했다. 반면에 울릉도\_토착에서는 AAGCT, AATGT, AATCC, ACAGC, ACGAG, ACGCC, ACGGC 등 7 SSR들이 특이적으로 존재하는 것으로 나타났다. Hexa-nucleotide SSR은 39개로 동일한 것으로 관찰되었지만, 실제로 구성된 SSR 타입은 매우 다양한 것으로 관찰되었다(Fig. 6). 울릉도\_일반에서는 AAATAT, AAATGC, AACCCG, AACCTC, AATATG, AATGAT, ACATGT, ACCATG, ACGAGG, ACGCCC, ACGGGG, ACTCCC, AGCCAT, AGCCTG, ATCCGC, ATCGGC 등 16 SSR들이 특이적으로 존재했다. 반면에 울릉도\_토착에서는 AAAAGC, AAAATT, AAACAC, AAATAT, AAGACT, AAGAGG, AATAGG, ACACCG, ACCTC, ACTATG, AGATCG, AGCAGG, AGGGCG, ATATGC, ATCATG, ATCCCC 등 16 SSR들이 특이적으로 나타났다. 높은 반복 단위 SSR들은 5~7 반복 단위에 집중적인 것으로 관찰되었다(Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6). 이런 결과는 *Acipenser dabryanus*의 전사체 분석결과에서 5~8 사이에 집중으로 나타나는 결과와 유사하였다[13]. 그러나 이전 연구에서는 높은 반복 단위 SSR들이 8 반복에서도 높게 검출되는 데 비교하여 본 연구에서는 8 반복이 낮게 관찰되는 것이 상이하였다.

### The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

### References

- Bordbar, S., Anwar, F. and Saari, N. 2011. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods—A review. *Mar. Drugs* **9**, 1761-1805.
- Carracedo, A. "DNA Profiling". Archived from the original on 2001-09-27. Retrieved 2010-09-20.
- Choe, S. and Ohshima, Y. 1961. On the morphological and ecological differences between two commercial forms, "Green" and "Red", of the Japanese common sea cucumber, *Stichopus japonicus* Selenka. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **27**, pp. 105-106.
- Cui, F. X., Xue, C. H., Li, Z. J. and Zhang, Y. Q. 2007. Characterization and subunit composition of collagen from the body wall of sea cucumber *Stichopus japonicus*. *Food Chem.* **100**, 1120-1125.
- Desai, H., Hamid, R., Ghorbanzadeh, Z., Bhut, N., Padhiyar, S. M., Kheni, J. and Tomar, R. S. 2021. Genic microsatellite marker characterization and development in little millet (*Panicum sumatrense*) using transcriptome sequencing. *Sci. Rep.* **11**, 20620.
- Duan, X., Zhang, M., Mujumdar, A. S., Huang, L. L. and Wang, H. A. 2010. Novel dielectric drying method of sea cucumber. *Int. J. Food Sci.* **45**, 2538-2545.
- Gutiérrez, E. G., Hernandez Canchola, G., Leon Paniagua, L. S., Martínez Mendez, N. and Ortega, J. 2017. Isolation and characterization of microsatellite markers for *Sturnira parvidens* and cross-species amplification in *Sturnira* species. *PeerJ.* **5**, e3367.
- <https://en.wikipedia.org/wiki/Microsatellite>.
- Kang, J. H., Yu, K. H., Park, J. Y., An, C. M., Jun, J. C. and Lee, S. J. 2011. Allele-specific PCR genotyping of the HSP70 gene polymorphism discriminating the green and red color variants sea cucumber (*Apostichopus japonicus*). *J. Genet. Genomics* **38**, 351-355.
- Kanno, M. and Kijima, A. 2003. Genetic differentiation among three color variants of Japanese sea cucumber *Stichopus japonicus*. *Fish. Sci.* **69**, 806-812.
- Lei, Y., Zhou, Y., Price, M. and Song, Z. 2021. Genome-wide characterization of microsatellite DNA in fishes: survey and analysis of their abundance and frequency in genome-specific regions. *BMC Genomics* **22**, 421.
- Liao, Y. L. 2001. Chinese sea cucumbers. *Bulletin of Biology*, **35**, 1-4. Mudgett, R. E. 1994. Electrical Properties of Foods. In: *Eng. Properties of Foods* (edited by M.A. Rao & S. S. H. Rizvi). pp. 389-455. New York: Marcel Dekker.
- Liu, Y., Chen, Y., Gong, Q., Lai, J., Du, J. and Deng, X. 2017. Paternity assignment in the polyploid *Acipenser dabryanus* based on a novel microsatellite marker system. *PLoS One* **12**, e0185280.
- Mondol, M. A. M., Shin, H. J., Rahman, M. A. and Islam, M. T. 2017. Sea cucumber glycosides: chemical structures, producing species and important biological properties. *Mar. Drugs* **15**, 317.
- Nishimura, S. 1995. *Guide to Seashore Animals of Japan with Color Pictures and Keys*. Vol. 2. Hoikusha Publishing Co. Ltd., Osaka, Japan.
- Purcell, S. W., Samyn, Y. and Conand, C. 2012. Commercially important sea cucumbers of the world. In *FAO Species Catalogue for Fishery Purposes*; FAO: Rome, Italy, Volume 6, p. 150.
- Shakouri, A., Nabavi, M. B., Kochanian, P., Savari, A., Safahieh, A. and Aminrad, T. 2009. New observation of two species of sea cucumbers from Chabahar Bay (Southeast Coasts of Iran). *Asian J. Anim. Sci.* **3**, 130-134.
- Song, X., Yang, T., Zhang, X., Yuan, Y., Yan, X., Wei, Y., Zhang, J. and Zhou, C. 2021. Comparison of the microsatellite distribution patterns in the genomes of *Euarchontoglires* at the taxonomic level. *Front Genet.* **12**, 622724.
- Weici, T. 1987. Chinese medicinal materials from the sea. *Abstr. Chin. Med.* **4**, 571-600.
- Wen, J., Hu, C. and Fan, S. 2010. Chemical composition and nutritional quality of sea cucumbers. *J. Sci. Food Agric.* **90**, 2469-2474.

21. Xu, J., Duan, J., Xue, C., Feng, T., Dong, P., Sugawara, T. and Hirata, T. 2011. Analysis and comparison of glucocerebroside species from three edible sea cucumbers using liquid chromatography-ion trap-time-of-flight mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **59**, 12246-53.
22. Yaacob, H. B., Kim, K. H., Shahimi, M., Aziz, N. S. and Sahil, S. M. 1997. Malaysian sea cucumber (Gamat): A prospect in health food and therapeutic. In Proceedings of the Asian Food Technology Seminar, Kuala Lumpur, Malaysia, 6-7, p. 6.
23. Zhao, Y. C., Xue, C. H., Zhang, T. T. and Wang, Y. M. 2018. Saponins from sea cucumber and their biological activities. *J. Agric. Food Chem.* **66**, 7222-7237.

### 초록 : 홍해삼 유전체 분석에 의한 microsatellite의 분포도 연구

이태욱<sup>1</sup> · 김삼웅<sup>2</sup> · 김정선<sup>3</sup> · 지원재<sup>4</sup> · 방우영<sup>5</sup> · 김장현<sup>6</sup> · 양철웅<sup>6</sup> · 방규호<sup>1</sup> · 갈상완<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>경상국립대학교 제약공학과, <sup>2</sup>경상국립대학교 농식품바이오융복합연구원, <sup>3</sup>주비오스, <sup>4</sup>국립생물자원관 미생물자원과, <sup>5</sup>국립생물자원관 유용자원활용과, <sup>6</sup>경상국립대학교 수의학과)

본 연구는 홍해삼의 유전체를 분석하여 홍해삼의 유전자 마커 개발을 위한 기초 자료로 활용하기 위해 수행되었다. 울릉도\_일반과 울릉도\_토착으로 microsatellite marker 분석을 실시하였다. 그 결과 dinucleotide repeat 서열이 81.3~81.4%로 가장 많이 차지 되었으며, 반복서열 개수가 증가될수록 감소되는 경향을 보였다. 일반적으로 microsatellite는 5~10 반복수 사이에 집중적으로 존재하였으며, 반복 서열의 크기가 클수록 반복수가 적어지는 양상을 보였다. Di, tri, tetra-nucleotides 반복에서 각각 (AT)<sub>5</sub>, (AAT)<sub>5</sub>, (AAAT)<sub>5</sub> 등이 가장 높은 것들로 나타났다. (CG), (CCG) 등은 동일 반복 단위의 다른 반복 단위에 비교하여 매우 낮게 관찰되었다. Di-와 tri-nucleotide는 반복수가 각각 35와 32까지 지속적으로 나타난 다음에 비연속적으로 44와 43 반복까지 계수 되었다. Tetra-, penta- 및 hexa-nucleotide는 각각 25, 21 및 14까지 연속적으로 나타났다. 본 분석결과에 따르면 microsatellite는 특이서열반복에 대해 편중되는 경향성을 보이는 것으로 나타났다. 따라서 홍해삼의 microsatellite 분석에서 고유의 반복 서열과 반복수를 유지하는 것으로 추정되므로 향후 연구를 위한 기초 자료로 활용하는 것이 가능할 것으로 판단된다.