

[Ecology] Article

한국 수산시장에서 판매되는 뱀장어속(*Anguilla*) 어류의 진위판별법 개발 및 유통실태

장요순*

한국해양과학기술원 동해환경연구센터, 경북 울진군 36315, 대한민국

Development of the Method for Authentication of the Genus *Anguilla* Sold on the Korean Fish Market and Current Status of Distribution

Yo-Soon Jang*

East Sea Environment Research center, Korea Institute of Ocean Science & Technology, Gyeongbuk Uljin-gun, 36315, Republic of Korea

Received: 15 March 2022, revised: 30 March 2022, accepted: 30 March 2022

요약문 본 연구는 우리나라 수산시장에서 유통되는 뱀장어(Japanese eel, *Anguilla japonica*)의 허위정보 표시 실태를 파악하고, 뱀장어 선어 및 손질·가공품의 진위판별법을 개발하기 위하여 수행되었다. 2018년 1월부터 12월까지 서울지역의 장어 전문식당과 수산시장에서 조사샘플 31개를 수집하여 분석한 결과, 67.74%에 해당하는 21개 장어샘플이 허위정보 표시로 유통되고 있음을 확인하였다. 31개의 조사샘플을 분자동정한 결과, 극동산 뱀장어(*Anguilla japonica*) 10개, 유럽산 뱀장어(*Anguilla Anguilla*) 9개, 미국산 뱀장어(*Anguilla rostrate*) 2개, 무태장어(*Anguilla marmorata*) 1개, *Ophichthus remiger* 7개, *Brachysomophis crocodilinus* 1개, 붕장어(*Conger myriaster*) 1개로 확인되었다. 이와 같은 뱀장어 오폭시 유통 실태 조사결과를 근거로 본 연구에서는 선어 또는 손질·가공품으로 판매되는 뱀장어가 *Anguilla* 속 어류에 속하는지 여부를 빠르게 판별할 수 있는 *Nde*I PCR-RFLP 분석법을 개발하였다.

주요어: 뱀장어속, 오폭시 실태, 진위판별, *Nde*I -RFLP DNA 마커, 제한효소 절편길이 다형성

Abstract This study was carried out to identify the mislabeling of Japanese eel (*Anguilla japonica*) sold on the fish markets in Korea and to develop a method for determining the authenticity of fresh and trimmed eels. Between January and December 2018, 31 test samples were collected from restaurants and fish markets in Seoul, South Korea, and the collected samples were analyzed. The results showed that over two-thirds of the samples tested were mislabeled. Molecular identification of 31 test samples revealed that 10 *Anguilla japonica*, 9 *Anguilla Anguilla*, 2 *Anguilla rostrate*, 1 *Anguilla marmorata*, 7 *Ophichthus remiger*, 1 *Brachysomophis crocodilinus*, and 1 *Conger myriaster*. We have developed the *Nde*I PCR-RFLP assay for determining the authentication of fresh and trimmed eels sold on the fish markets in Korea, and this assay enables rapidly and accurately identify the genus *Anguilla*.

Keywords: Genus *Anguilla*, Mislabeling, Authentication, *Nde*I -RFLP DNA marker, PCR-RFLP assay

*Corresponding author: jangys@kiost.ac.kr

1. 서론

뱀장어는 뱀장어목(Anguilliformes) 뱀장어과(Anguillidae)에 속하는 어종으로 바다에서 태어나 강으로 올라가 성장하는 회유성 어류이며, 뱀장어속(*Anguilla*) 어류는 전세계에 18종(15종 그리고 3개 아종)이 있다(Kim et al., 2006). 우리나라에는 극동산 뱀장어(*Anguilla japonica*)와 무태장어(*Anguilla marmorata*)가 서식하고 있으며, 극동산 뱀장어는 우리나라에서 보양식으로 인기가 높은 주요 양식종으로, 한국, 중국, 일본, 대만에서 치어를 어획하여 양식 생산된다. 무태장어는 인도양·태평양의 넓은 범위에 걸쳐서 분포하고, 우리나라의 경우는 제주도의 남단에서만 분포하는 것으로 알려져 있다.

뱀장어속 어류는 척추골수의 개수, 등지느러미 기점거리, 뒷지느러미 기점거리 등의 계수형질을 이용하여 종구분이 가능하므로 형태동정법으로 *A. japonica*, *A. anguilla* 및 *A. rostrata*를 식별할 수 있다(Kang et al., 2000). 그리고 동남아산 실뱀장어의 주요산지인 필리핀에서 수입되어 이식하는 *A. marmorata*와 *A. bicolor pacifica* 두 종도 형태동정법으로 식별이 가능하다(Lee et al., 2015). Anders M. C. Silfvergrip(2009)이 작성한 민물장어 식별 가이드(CITES Identification Guide)에는 뱀장어속(*Anguilla*) 어류 15종에 대하여 형태특징을 기반으로 식별할 수 있는 프로토콜이 상세하게 기술되어 있다. 또한 이 가이드에서는 뱀장어속 어류의 종내 변이가 있으므로 종 분석 시 형태동정과 분자동정을 항상 병행하는 것을 추천하고 있으며, 가공된 뱀장어는 *A. Anguilla* 분석용으로 개발된 PCR 프라이머 세트를 사용한 분자동정 방법을 통해서만 정확하게 식별할 수 있다고 보고하였다. 이와 같이 뱀장어속 어류들은 외부 형태특징을 이용하여 종구분이 대체로 가능하지만, 선어 상태가 아닌 구이나 회초밥 등으로 가공된 뱀장어의 종 판별은 육안으로는 어려우며, 유전자 정보를 활용한 분자동정법으로만 가능하다.

자연환경 변화 및 남획 등으로 극동산 실뱀장어 어획량이 부족함에 따라, 국내 양식업계에서는 유럽산 및 미국산 실뱀장어를 이식하여 양식하는 것을 시도하였으나, 유럽연합 및 미국의 규제가 강화됨에 따라 최근에는 비교적 가격이 저렴하고 실뱀장어 구입이 용이한 동남아산 뱀장어(*Anguilla bicolor*) 종을 이식하여 양식하는 경우가 많다(Lee et al., 2015). 최근 FTA 확대에 따른 시장 개방으로 뱀장어 수입량도 급증하고 있으며, 극동산 뱀장어의 자원량이 감소함에 따라 외부 형태가 유사한 뱀장어속의 다른 종이 수입되고 있는 실정으로, 현재 국내에 서식하거나 유통되는 뱀장어속 어류는 극동산 뱀장어(*A. japonica*), 동남아산 뱀장어(*A. bicolor pacifica*), 무태장어(*A. marmorata*), 미국산 뱀장어(*A. rostrata*), 유럽산 뱀장어(*A. anguilla*) 등으로 알려져 있다. 정부에서는 유통되는 수산물에 대하여 원산지를 의무적으로 표시하도록 하고 있으나, 수산물의 종(species) 표시와 같은 세부사항에 대해서는 강제하지 않아, 뱀장어는 '민물장어', '풍천장어', '국내산 장어' 등으로 표시하여 판매되고 있다. 게다가 국내에서 양식되는 극동산 뱀장어의 수급부족과 가격상승으로 인하여 값싼 수입 뱀장어를 국내산으로 둔갑시켜 유통하고, 뱀장어속 어류가 아닌 기타 장어류를 국내산 뱀장어로 표시하여 판매되는 사례도 보도된 바 있다. 따라서 본 연구에서는 국내산으로 판매되는 뱀장어의 허위정보 표시 실태를 파악하였고, 뱀장어속 어류 종(species)인지를 구분할 수 있는 유전자 마커를 개발하여, 선어(생물 및 냉동)를 비롯한 구이나 초밥 등의 형태로 가공된 수산물이 뱀장어속 어류에 해당하는지 진위판별을 할 수 있는 유전자 분석방법을 제시하였다.

2. 연구재료 및 방법

2.1. 실험재료

뱀장어 오표시 유통 실태를 파악하기 위한 조사샘플은 2018년 1월부터 12월 사이에 서울지역의 장어 전문식당 26곳, 수산시장 4곳 및 대형마트 1곳에서 각각 1개씩 샘플링하여 예탄올에 보관하였다. 뱀장어 조사샘플의 수집지역과 장소, 가공형태(선어, 가공) 등 수집정보는 Table 1과 같다.

Table 1. General Information on the collected samples inside the Seoul, South Korea

Code	Date	Locality	Retailer	Labeled (as Korean)	Product type
Eel-001	1/11/2018	Donggyo-ro, Mapo-gu	Restaurant	민물장어, 국내산, 양식	Fillet
Eel-002	1/18/2018	Yangjae-daero, Songpa-gu	Fish market	장어, 국내산(고창)	Fresh fish
Eel-003	1/18/2018	Yangjae-daero, Songpa-gu	Fish market	장어, 국내산, 양식	Fresh fish
Eel-004	2/08/2018	Donggyo-ro, Mapo-gu	Restaurant	장어, 국내산	Fillet
Eel-005	2/22/2018	Yeonhuimat-ro, Seodaemun-gu	Restaurant	장어, 국내산	Sashimi
Eel-006	2/23/2018	Insadong-gil, Jongno-gu	Restaurant	장어, 국내산	Sushi
Eel-007	3/19/2018	Sinchon-ro, Seodaemun-gu	Restaurant	장어, 국내산	Fillet
Eel-008	3/27/2018	Nodeul-ro, Dongjak-gu	Restaurant	장어, 국내산, 자연산	Sashimi
Eel-009	3/31/2018	Seocho-daero, Seocho-gu	Restaurant	장어, 국내산	Sushi
Eel-010	4/9/2018	Balsan-ro, Gangseo-gu	Restaurant	장어, 국내산, 자연산	Fresh fish
Eel-011	5/4/2018	Seongsui-ro, Seongdong-gu	Restaurant	장어, 국내산, 자연산	Sushi
Eel-012	5/10/2018	Dangsan-ro, Yeongdeungpo-gu	Restaurant	장어, 국내산, 자연산	Sushi
Eel-013	5/11/2018	World Cup-ro, Mapo-gu	Fish market	장어, 국내산, 자연산	Fresh fish
Eel-014	5/11/2018	Sinwon-ro, Gwanak-gu	Restaurant	장어, 국내산, 자연산	Sushi
Eel-015	5/15/2018	Myeongdong-gil, Jung-gu	Restaurant	장어, 국내산, 자연산	Grilled
Eel-016	6/5/2018	Seongsuil-ro, Seongdong-gu	Restaurant	장어, 국내산	Sushi
Eel-017	6/6/2018	Teheran-ro, Gangnam-gu	Restaurant	장어, 국내산	Sushi
Eel-018	7/12/2018	Nambusunhwan-ro, Gwanak-gu	Restaurant	장어, 국내산	Fillet
Eel-019	7/30/2018	Samcheong-ro, Jongno-gu	Restaurant	장어, 국내산	Sushi
Eel-020	8/3/2018	Bongcheon-ro, Gwanak-gu	Restaurant	장어, 국내산	Sushi
Eel-021	8/21/2018	Gangnam-daero, Seocho-gu	Restaurant	장어, 국내산	Stew
Eel-022	8/23/2018	Ttukseom-ro, Seongdong-gu	supermarket	장어, 국내산	Fillet
Eel-023	9/4/2018	Heukseok-ro, Dongjak-gu	Restaurant	장어, 국내산	Sushi
Eel-024	9/7/2018	Tongil-ro, Seodaemun-gu	Restaurant	장어, 국내산	Sushi

Eel-025	9/10/2018	Kyungheedae-ro, Dongdaemun-gu	Restaurant	장어, 국내산	Grilled
Eel-026	9/18/2018	Sinbanpo-ro, Seocho-gu	Restaurant	장어, 국내산	Sashimi
Eel-027	9/19/2018	Baekbeom-ro, Mapo-gu	Restaurant	장어, 국내산	Grilled
Eel-028	10/8/2018	Jahamun-ro, Jongno-gu	Restaurant	장어, 국내산	Sushi
Eel-029	10/13/2018	Sinchon-ro, Mapo-gu	Restaurant	장어, 국내산, 자연산	Fillet
Eel-030	10/24/2018	Supyo-ro, Jongno-gu,	Fish market	장어, 국내산	Grilled
Eel-031	10/27/2018	Jong-ro, Jongno-gu	Restaurant	장어, 국내산, 자연산	Sushi

2.2. 분석방법

수집한 조사샘플의 종 분석은 유전자를 이용한 분자동정법으로 진행하였다. 에탄올에 보관한 조사샘플의 조직 시료 약 20 mg을 lysis buffer[10 mM Tris-HCl pH7.5, 125 mM NaCl, 10 mM EDTA, 0.5% SDS, 5 M Urea, 0.1 mg/ml proteinase K]로 충분히 용해한 후, binding buffer와 isopropanol을 사용하여 genomic DNA를 분리하였다. 분리된 genomic DNA는 Accuprep® Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer Co., Korea)의 column으로 정제하여 전기영동법으로 확인하였고, NanoDrop® ND-2000 Spectrophotometer (NanoDrop Technologies, USA)으로 농도를 측정 한 후, 유전자 분석실험에 사용하였다.

분자동정을 위한 미토콘드리아 DNA의 COI 유전자 영역 증폭 반응은 genomic DNA 25 ng과 PCR primer (Table 2) 0.5 µM을 AccuPower® PCR PreMix (Bioneer Co., KOREA)에 첨가하여 94 °C에서 5분간 변성시킨 후, 94 °C에서 30초, 51 °C에서 30초, 72 °C에서 1분간 처리를 35회 반복 실시하였으며, 72 °C에서 10분간 신장반응 시켰다. 증폭반응이 끝난 PCR 산물은 DNA purification Kit (TIANGEN, China)으로 정제하여 전기영동법으로 확인하였고, 정제된 유전자 단편을 BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA)로 반응시켜 ABI 3730xL DNA Analyzer (Applied Biosystem, Foster City, USA)로 sequencing 하였다. 조사샘플의 COI 유전자 염기서열을 BOLDSYSTEMS (<http://www.boldsystems.org>) 및 BLAST (<http://www.blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 검색으로 유전자 정보 일치도를 확인하여 종(species)을 분석한 결과를 근거로 국내에서 유통되는 뱀장어의 오폭시 상태를 파악하였다.

Table 2. PCR primer sequences used for molecular identification of collected eel samples

Primer name	Sequence (5' - 3')
FishCOI-Jang_01F	GTGGCCATCACACGTTGATT
FishCOI-Jang_190F	GTAATGATTTTCTTTATAGT
FishCOI-Jang_908R	GCACGTGTGTCTACGTCCAT
FishCOI-Jang_1133R	TGGAAGTGGGCTACTACAT
LCO1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG
HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA
mICOIntF	GGWACWGGWTGAACWGTWTAYCCYCC

우리나라에서 유통되는 뱀장어속 어류의 진위판별은 미토콘드리아 DNA의 COI 유전자 증폭산물을 제한효소로 절단하는 PCR-RFLP 분석법으로 진행하였다. COI 유전자 증폭반응액은 AccuPower® PCR PreMix (Bioneer Co., KOREA)에 분석대상 시료의 genomic DNA 25 ng과 PCR primer (FishCOI-Jang_190F, FishCOI-Jang_1133R) 0.5 μM 및 멸균수를 첨가하여 최종 부피가 20 μl가 되도록 혼합하여 준비하였다. 유전자 증폭반응 조성액은 94 °C에서 5분간 변성시킨 후, 94 °C에서 30초, 51 °C에서 30초, 72 °C에서 1분간 처리를 35회 반복 실시하고 72 °C에서 10분간 신장반응 시켰다. 제한효소 처리는 COI 유전자 증폭산물 3 μl와 10x Rn buffer 1 μl 및 NdeI 0.3U을 혼합하여 37 °C에서 1시간 반응시키는 방법으로 진행하였고, 1.5% 아가로스젤 전기영동법으로 유전자 단편의 절단 여부 및 절단된 DNA 단편의 크기를 확인하였다.

뱀장어속 어류의 진위판별 과정은 다음과 같다. ① 선어 또는 손질·가공품 조직에서 genomic DNA 분리 및 정제, ② 분석대상 제품의 COI 유전자 영역 증폭, ③ 제한효소 NdeI (5'...CA▼TATG...3')으로 COI 유전자 증폭산물 절단, ④ NdeI 절단 반응산물을 아가로스젤 전기영동, ⑤ COI 유전자 PCR 증폭산물이 637 bp 및 307 bp 크기의 2개의 단편으로 절단되면 뱀장어속 어류로 판정한다.

3. 결과 및 토의

2018년 1월부터 12월 사이에 서울지역의 식당과 수산시장 및 대형마트에서 수집한 뱀장어 샘플의 종을 COI 유전자 염기서열을 분석하여 동정한 결과, 31개의 조사샘플에는 극동산 뱀장어(*A. japonica*) 10개, 유럽산 뱀장어(*A. Anguilla*) 9개, 미국산 뱀장어(*A. rostrate*) 2개 및 무태장어(*A. marmorata*) 1개가 있었고, 뱀장어속 어류가 아닌 *Ophichthus remiger* 7개 및 *Brachysomophis crocodilinus* 1개와 붕장어(*Conger myriaster*) 1개도 포함되어 있었다 (Table 3). 조사샘플 31개 중 21개 샘플은 허위정보 표시로 유통되어 오표시 비율은 67.74%에 해당하였다. 조사샘플의 손질 또는 가공형태에 따른 오표시 비율을 조사한 결과, 회 형태로 가공해서 초밥이나 덮밥 등으로 제공하는 샘플에서 오표시 비율이 높았다(Fig. 1).

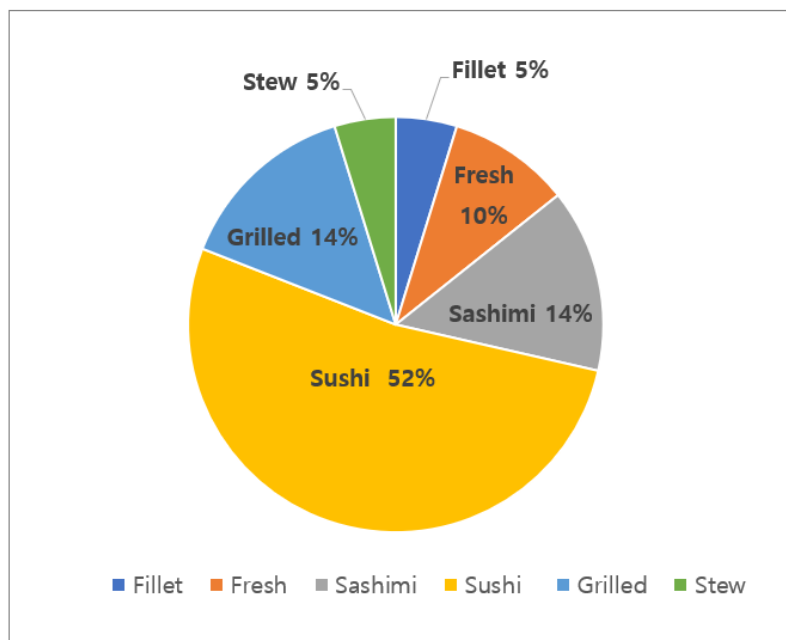


Figure 1. Percentage of mislabeling based on product types of the collected eel samples.

본 연구에서는 선어(생물 및 냉동) 또는 가공품으로 유통되는 뱀장어 제품이 *Anguilla* 속 어류인지에 대한 진위 여부를 빠르고 정확하게 판별할 수 있는 *Nde*I PCR-RFLP 분석법을 개발하였고, 뱀장어 오표시 유통실태 파악을 위한 조사샘플에 적용하여 진위판별을 실시하였다. COI 유전자 영역 증폭산물을 제한효소 *Nde*I 처리 후 절단여부 및 단편의 크기를 확인한 결과, 극동산 뱀장어(*A. japonica*), 유럽산 뱀장어(*A. anguila*), 미국산 뱀장어(*A. rostrate*) 및 무태장어(*A. marmorata*)는 2개의 단편으로 절단되었고, *Anguilla* 속 어류가 아닌 *Ophichthus remiger* (Eel-005, Eel-006, Eel-009, Eel-012, Eel-015, Eel-023, Eel-024) 및 *Brachysomophis crocodilinus* (Eel-027)은 절단되지 않았다(Fig. 2). 본 연구를 통하여 개발한 *Nde*I PCR-RFLP 분석법은 선어뿐만 아니라, 손질·가공된 뱀장어상품 판별에도 적용이 가능하였으며, *Anguilla* 속으로 확인된 샘플에 대하여 제한효소 *Hsp* 92II와 *Nci*I 를 이용한 추가 분석을 진행하면 *A. japonica*, *A. anguila*, *A. rostrate* 및 *A. marmorata*도 종 수준으로 식별할 수 있었다.

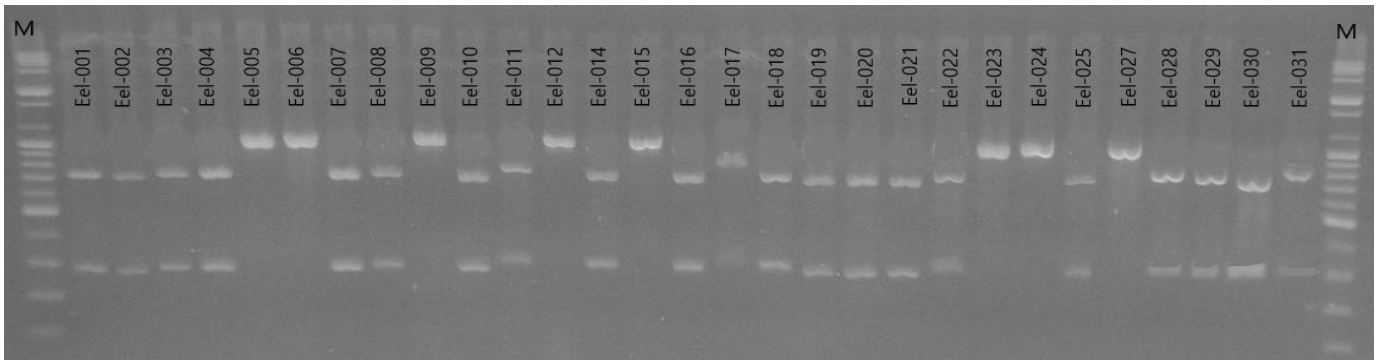


Figure 2. PCR-RFLP patterns of the collected eel samples. The amplified mitochondrial CO I (cytochromeoxidase subunit I) gene fragment (944bp) by PCR was digested with *Nde*I restriction enzyme. M: 100 bp Plus DNA ladder (Bioneer Co., Korea)

Table 3. Species identification results of the 31 samples collected from restaurants and fish markets on Seoul, Korea

Code	Labeled or declared as (Korean/ Scientific name)	Molecular identification			Misabeled	
		PCR primer set	Sequence length (bp)	BLAST search		
Eel-001	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_01F / FishCOI-Jang_1133R	1045	<i>Anguilla japonica</i> [1044/1045(99.90%)]	<i>Anguilla japonica</i>	NO
Eel-002	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_01F / FishCOI-Jang_1133R	1049	<i>Anguilla japonica</i> [1046/1049(99.71%)]	<i>Anguilla japonica</i>	NO
Eel-003	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_01F / FishCOI-Jang_1133R	1049	<i>Anguilla japonica</i> [1048/1049(99.90%)]	<i>Anguilla japonica</i>	NO
Eel-004	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_01F / FishCOI-Jang_1133R	1071	<i>Anguilla japonica</i> [1069/1071(99.81%)]	<i>Anguilla japonica</i>	NO
Eel-005	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_01F / FishCOI-Jang_1133R	616	<i>Ophichthus remiger</i> [615/616(99.84%)]	<i>Ophichthus remiger</i>	YES
Eel-006	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_01F / FishCOI-Jang_1133R	638	<i>Ophichthus remiger</i> [637/638(99.84%)]	<i>Ophichthus remiger</i>	YES
Eel-007	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_01F / FishCOI-Jang_1133R	1065	<i>Anguilla japonica</i> [1064/1065(99.91%)]	<i>Anguilla japonica</i>	NO
Eel-008	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_01F / FishCOI-Jang_1133R	837	<i>Anguilla anguilla</i> [836/837(99.88%)]	<i>Anguilla anguilla</i>	YES
Eel-009	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	mICOLintF / FishCOI-Jang_1133R	638	<i>Ophichthus remiger</i> [637/638(99.84%)]	<i>Ophichthus remiger</i>	YES
Eel-010	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	mICOLintF / FishCOI-Jang_1133R	704	<i>Anguilla anguilla</i> [704/704(100%)]	<i>Anguilla anguilla</i>	YES
Eel-011	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	mICOLintF / FishCOI-Jang_1133R	704	<i>Anguilla rostrata</i> [703/704(99.86%)]	<i>Anguilla rostrata</i>	YES
Eel-012	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	mICOLintF / HCO2198	271	<i>Ophichthus remiger</i> [270/271(99.63%)]	<i>Ophichthus remiger</i>	YES
Eel-013	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	mICOLintF / FishCOI-Jang_1133R	561	<i>Conger myriaster</i> [561/561(100%)]	<i>Conger myriaster</i>	YES
Eel-014	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	mICOLintF / FishCOI-Jang_1133R	714	<i>Anguilla anguilla</i> [714/714(100%)]	<i>Anguilla anguilla</i>	YES

Eel-015	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_190F / HCO2198	484	<i>Ophichthus remiger</i> [484/484(100%)]	<i>Ophichthus remiger</i>	YES
Eel-016	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_190F / HCO2198	483	<i>Anguilla anguilla</i> [483/483(100%)]	<i>Anguilla anguilla</i>	YES
Eel-017	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_190F / FishCOI-Jang_1133R	720	<i>Anguilla anguilla</i> [719/720(99.86%)]	<i>Anguilla anguilla</i>	YES
Eel-018	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_190F / HCO2198	497	<i>Anguilla japonica</i> [496/497(99%)]	<i>Anguilla japonica</i>	NO
Eel-019	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	mICOIntF / FishCOI-Jang_1133R	704	<i>Anguilla anguilla</i> [704/704(100%)]	<i>Anguilla anguilla</i>	YES
Eel-020	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	mICOIntF / FishCOI-Jang_1133R	704	<i>Anguilla japonica</i> [703/704(99.86%)]	<i>Anguilla japonica</i>	NO
Eel-021	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	mICOIntF / FishCOI-Jang_1133R	704	<i>Anguilla rostrata</i> [703/704(99.86%)]	<i>Anguilla rostrata</i>	YES
Eel-022	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	mICOIntF / FishCOI-Jang_1133R	704	<i>Anguilla marmorata</i> [702/704(99.72%)]	<i>Anguilla marmorata</i>	YES
Eel-023	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_190F / HCO2198	445	<i>Ophichthus remiger</i> [445/445(100%)]	<i>Ophichthus remiger</i>	YES
Eel-024	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	mICOIntF / FishCOI-Jang_1133R	307	<i>Ophichthus remiger</i> [307/307(100%)]	<i>Ophichthus remiger</i>	YES
Eel-025	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	mICOIntF / FishCOI-Jang_1133R	704	<i>Anguilla anguilla</i> [704/704(100%)]	<i>Anguilla anguilla</i>	YES
Eel-026	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_01F / FishCOI-Jang_1133R	1049	<i>Anguilla anguilla</i> [1049/1049(100%)]	<i>Anguilla anguilla</i>	YES
Eel-027	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	mICOIntF / FishCOI-Jang_1133R	317	<i>Brachysomophis crocodilinus</i> [317/317(100%)]	<i>Brachysomophis crocodilinus</i>	YES
Eel-028	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	mICOIntF / FishCOI-Jang_1133R	713	<i>Anguilla japonica</i> [711/713(99.72%)]	<i>Anguilla japonica</i>	NO
Eel-029	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	mICOIntF / FishCOI-Jang_1133R	713	<i>Anguilla japonica</i> [710/713(99.58%)]	<i>Anguilla japonica</i>	NO
Eel-030	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_01F / FishCOI-Jang_1133R	961	<i>Anguilla japonica</i> [960/961(99.90%)]	<i>Anguilla japonica</i>	NO
Eel-031	뱀장어/ <i>A. japonica</i>	FishCOI-Jang_01F / FishCOI-Jang_1133R	1019	<i>Anguilla anguilla</i> [1019/1019(100%)]	<i>Anguilla anguilla</i>	YES

극동산 뱀장어(*A. japonica*)는 우리나라의 수산시장을 비롯한 관련 업계에서 최고상급품으로 평가받는 민물장어로 맛이 좋고 식감이 부드러워 한국인들이 가장 선호하는 종이며, 가격이 대체로 비싼 편이다. 본 연구에서는 값싼 수입산 뱀장어를 국내산 뱀장어로 허위표시하여 판매하고 있을 뿐만 아니라 뱀장어속 어류가 아닌 봉장어, *Ophichthus remiger* (구두점 뱀장어) 및 *Brachysomophis crocodilinus* (악어 뱀장어)를 국내산 뱀장어로 둔갑시켜 유통하는 사실을 확인하였으며, 국내에 서식하거나 수입되어 선어 및 손질가공품 등으로 유통되는 뱀장어속 어류를 PCR-RFLP 분석법을 이용하여 식별할 수 있는 *Nde*I-RFLP DNA 마커를 개발하였다.

PCR-RFLP 분석법은 제한효소 인식부위를 마커로 활용하여 절단된 DNA 단편의 크기를 확인하는 방법으로, 유전자 염기서열을 분석하여 비교하는 DNA 바코딩법보다 분석비용이 저렴하면서도 신속하고 간편하게 대상생물의 종을 정확하게 판별할 수 있다. 뱀장어속 어류의 종을 PCR-RFLP 방법을 적용하여 분석한 연구가 보고된 바 있으나, 국내에 유통되는 주요종인 극동산 뱀장어가 분석대상 종에 포함되어 있지 않거나, 증폭된 유전자 산물 및 제한효소 처리로 생성된 DNA 단편의 크기가 작아 고분리능의 특수한 gel 용액을 사용한 전기영동법으로만 구분할 수 있어 적용에 한계가 있다. Arai et al. (1999)는 뱀장어의 형태특징과 Aoyama(1998, 2000)가 제안한 PCR-RFLP 분석법[미토콘드리아 DNA의 16S rRNA 유전자(1427 bp)와 *cytb* 유전자(1140 bp) 영역 활용]에 따라 인도네시아 강으로 회유하는 열대종 뱀장어 3종(*A. celebesensis*, *A. marmorata* 및 *A. bicolor pacifica*)의 식별법을 보고하였으나, 극동산 뱀장어 종 분석 시 적용 가능한 마커인지는 알 수 없다. Keszka et al. (2009)는 폴란드 시장에서 판매되는 뱀장어 2종(*A. japonica* 및 *A. Anguilla*)을 mtDNA의 16S rRNA 유전자 일부(211 bp) 영역을 제한효소 *Apa* I 처리(135 bp +76 bp) 후 전기영동법으로 식별하는 방법을 보고하였다. Kim et al. (2009)는 뱀장어속 4종(*A. japonica*, *A. bicolor bicolor*, *A. rostrata* 및 *A. Anguilla*)을 식별하기 위하여 SCAR(sequence-characterized amplified region) 및 PCR-RFLP 마커를 개발하여 특허(10-2010-0138208 앵굴라 뱀장어 종들의 판별을 위한 DNA 마커)를 출원하고 등록하였다. 이 연구와 발명은 RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA) 분석으로 확보한 SCAR 프라이머 세트를 이용하여 3개의 유전자 단편을 확보한 후, 제한효소 *Taq* I, *Mae* I 및 *Tru* 9I 처리로 생성된 DNA 단편의 크기를 이용하여 뱀장어속 4종을 식별하였다. 그러나, SCAR 프라이머 세트의 증폭산물 단편의 크기가 303 bp, 290 bp 및 130 bp로 대체로 작았으며, 제한효소 처리로 생성된 DNA 단편의 크기도 작았다[*Taq* I 처리- 절단(171 bp, 132 bp), 비절단(303 bp, 290 bp) / *Mae* I 처리-절단(274 bp, 29 bp), 비절단(303 bp, 290 bp) / *Tru* 9I 처리- 절단(96 bp+34 bp, 71 bp+34bp+25 bp), 비절단(130 bp)]. 이와 같이 크기가 작은 DNA 단편은 고분리능을 갖는 특수한 gel 용액을 사용한 전기영동법으로만 확인할 수 있으므로 일반 아가로스젤을 사용하는 분석법보다 더 많은 분석비용이 든다.

본 연구에서 개발한 *Nde*I PCR-RFLP 분석법은 미토콘드리아 DNA의 COI 유전자 증폭산물을 제한효소 *Nde*I에 의한 절단여부 및 DNA 단편의 크기로 종을 식별하는 방법으로, PCR 증폭산물(944 bp) 및 절단되어 생성된 DNA 단편 2개(637 bp 및 307 bp)는 일반적인 아가로스젤 전기영동법으로 크기 차이를 간편하게 확인할 수 있는 장점이 있다. 또한 선어 시료를 비롯한 손질·가공된 조직시료 분석에도 사용이 가능하여, 국내의 수산시장과 장어 전문식당에서 판매·유통되는 뱀장어상품이 *Anguilla* 속 어류인지에 관한 진위판별에 적용할 수 있다.

국내에 서식하거나 수입되어 유통되는 뱀장어 주요 5종(*A. Anguilla*, *A. bicolor pacifica*, *A. japonica*, *A. marmorata*, *A. rostrate*)의 조직샘플을 직접 분석하여 대상 시료가 *Anguilla* 속 어류인지에 관한 진위판별에 *Nde*I-RFLP DNA 마커를 적용할 수 있음을 확인하였고, *Nde*I-RFLP DNA 마커를 뱀장어속 8종(*A. australis*, *A. celebesensis*, *A. dieffenbachia*, *A. luzonensis*, *A. malgumora*, *A. megastoma*, *A. obscura*, *A. reinhardtii*)에 대하여 *Anguilla* 속 어류인지에 관한 진위판별시 적용 가능 여부는 GenBank에 등록된 대상 뱀장어의 COI 유전자 염기서열 정보를 비교 분석하여 확인하였다. 그러나 나머지 뱀장어속 5종(*A. bengalensis*, *A. interioris*, *A. mossambica*, *A. nebulosa*, *A.*

labiata)의 진위판별에는 *Nde*I-RFLP DNA 마커를 적용할 수 없는 것으로 판단하였는데, GenBank에 등록된 COI 유전자 염기서열 정보에 따르면 이들 5종은 해당 영역에 *Nde*I 인식부위가 없기 때문이다. 따라서 뱀장어속 어류 18종 전체에 대한 *Anguilla* 속 진위판별에는 추가 마커가 필요한 것으로 판단하였으나, 식약의약품안전처 및 국립수산물품질관리원의 수산물 수입정보에 따르면 국내에 유통되는 뱀장어는 주로 *A. Anguilla*, *A. bicolor pacifica*, *A. japonica*, *A. marmorata*, *A. rostrata* 이므로 본 연구에서 개발한 *Nde*I PCR-RFLP 분석법을 뱀장어속 어류에 해당하는지에 관한 진위판별에 적용할 수 있다.

5. 사사

본 연구는 한국해양과학기술원 주요사업인 '한국 주변 해양생태계 변동 이해 및 대응 기반 연구(PEA0013)'의 지원을 받아 수행하였습니다. 본 연구에 필요한 조사샘플을 서울지역의 장어 전문식당과 수산시장에서 수집하여 제공해 주신 김한민 선생님께 감사드립니다.

6. 참고문헌

- Aoyama J (1998) Molecular phylogeny and evolution of the freshwater eels, genus *Anguilla*. PhD thesis, The University of Tokyo
- Aoyama J (2000) Discrimination of catadromous eel species, genus *Anguilla*, using PCR-RFLP analysis of the mitochondrial 16rRNA domain. *Trans Am Fish Soc* 129: 873-878
- Arai T et al. (1999) Species composition and inshore migration of the tropical eels *Anguilla* spp. recruiting to the estuary of the Poigar River, Sulawesi Island. *Marine Ecology Progress Series*, 188:299-303
- Hidalgo A et al. (2019) A PCR-RFLP assay for discrimination of *Echinococcus granulosus sensu stricto* and *Taenia* spp. in dogs stool. *Experimental Parasitology* 200:42-47 <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.03.015>
- Kang EJ et al. (2000) Species Identification of Japanese, American, and European Eel Elvers, and Changes in Morphometric Characters According to Growth. *Korean J. Ichthyol.* 12(4):244-249
- Keszka S, Panicz R, Kempter J (2009) Eel species identification by polymerase chain reaction followed by restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). *Medycyna Wet.* 65(5):315-318
- Kim DJ et al. (2006) Plasma sex steroid hormone profiles in artificially maturing wild eel, *Anguilla japonica*. *J of Aquaculture* 19(4):267-274
- Kim WJ et al. (2009) Development of RAPD-SCAR and RAPD-generated PCR-RFLP markers for identification of four *Anguilla* eel species. *Animal cells and systems* 13(2):179-186
- Lee NS et al. (2015) Morphological and Molecular Identification of a Tropical Glass eels *Anguilla marmorata* and *A. bicolor pacifica* from Philippines Coast. *JFMSE* 27(4):1109-1117 <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2015.27.4.1109>
- Silfvergrip A M C (2009) CITES identification guide to the Freshwater eels (Anguillidae). *Naturvårdsverket, Stockholm*

7. 데이터셋에 대한 메타데이터

Sort	Field	Subcategory#1	Subcategory#2
Essential	*Title	Mislabeled of <i>Anguilla japonica</i>	Authentication of the Genus <i>Anguilla</i>
	*DOI name	10.22761/DATA2022.4.1.001	
	*Category	Biota	
	Abstract	A Method for Authentication of the Genus <i>Anguilla</i> Sold on the Korean Seafood Market	Development of <i>Nde</i> I PCR-RFLP assay for authentication of the Genus <i>Anguilla</i>
	*Temporal Coverage	12 months	From January to December 2018
	*Spatial Coverage	Address	Seoul, South Korea
		WGS84 Coordinates	37° 33' 16" N / 126° 54' 33" E 37° 30' 0" N / 126° 55' 60" E 37° 30' 8" N / 127° 6' 40" E 37° 34' 41" N / 126° 56' 6" E 37° 34' 22" N / 126° 58' 45" E 37° 28' 23" N / 126° 57' 11" E 37° 29' 40" N / 127° 0' 39" E 37° 33' 44" N / 126° 48' 58" E 37° 32' 52" N / 127° 1' 29" E 37° 31' 34" N / 126° 54' 11" E 37° 33' 35" N / 126° 59' 38" E 37° 31' 0" N / 127° 1' 60" E
	*Personnel	Name	Yo-Soon Jang
		Affiliation	Korea Institute of Ocean Science Technology (KIOST)
		E-mail	jangys@kiost.ac.kr
*CC License	CC BY-NC		
Optional	*Project	A base study to understand and counteract marine ecosystem change in Korean waters	
	*Instrument		