

(옆면)

(앞면)

320044
-3

검역바이러스
정밀검사
효율
향상
기술
개발
최종보고서

2023

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개() 발간등록번호(O)
작물바이러스 및 병해충대응산업화기술개발사업 2022년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-004398-01

검역바이러스 정밀검사 효율 향상 기술 개발

2023.5.31

주관연구기관 / 농림축산검역본부
협동연구기관 / 서울여자대학교 산학협력단
철원플라즈마산업기술연구원
(주)셀세이프

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “검역바이러스 정밀검사 효율 향상 기술 개발”(개발기간 : 2020.4. ~ 2022.12.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2023. 5. 31.

주관연구기관명 : 농림축산검역본부 (대표자) 박봉균 (인)

협동연구기관명 : 서울여자대학교 산학협력단 (대표자) 강승선 (인)

철원플라스마산업기술연구원 (대표자) 황명근 (인)

(주)셀세이프 (대표자) 한재진 (인)

주관연구책임자 : 농림축산검역본부 농업연구관 이성진

협동연구책임자 : 서울여자대학교 교수 류기현

철원플라스마산업기술연구원 본부장 박미리

(주)셀세이프 소장 한재진

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의 합니다.

최종보고서										보안등급				
중앙행정기관명						사업명		사업명		일반[<input checked="" type="checkbox"/>], 보안[]				
전문기관명 (해당 시 작성)						사업명		내역사업명 (해당 시 작성)		작물바이러스 및 병해충 대응 산업화 기술개발사업				
공고번호						총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)								
						연구개발과제번호				320044-3				
기술 분류	국가과학기술 표준분류		작물보호 LB0304	100 %	2순위 소분류 코드명		%	3순위 소분류 코드명		%				
	농림식품과학기술분류		생산기술(채소및산나물) AAC2	100 %	2순위 소분류 코드명		%	3순위 소분류 코드명		%				
총괄연구개발명 (해당 시 작성)			국문											
			영문											
연구개발과제명			국문		검역바이러스 정밀 검사 효율 향상 기술 개발									
			영문		Study of improvement quarantine detection efficiency on the plant virus by development of quarantine measure									
주관연구개발기관			기관명		농림축산검역본부		사업자등록번호		123-83-00214					
			주소		(우.39660) 경북 김천시 혁신8로 177		법인등록번호		-					
연구책임자			성명		이성진		직위		농업연구관					
			연락처		직장전화		휴대전화		국가연구자번호					
			전자우편											
연구개발기간			전체		2020.04.29. - 2022.12.31. (2년9개월)									
			단계		1단계		2020.04.29. - 2021.12.31. (1년9개월)							
			(해당 시 작성)		2단계		2022.01.01. - 2022.12.31. (1년0개월)							
연구개발비 (단위: 천원)			정부지원		기관부담		그 외 기관 등의 지원금		합계		연구개발비 외			
			연구개발비		연구개발비		지방자치단체		기타()				지원금	
			현금		현금		현금		현금		현금			
총계			1,019,000		9,263		83,362		1,028,263		83,362			
1단계			1년차		278,000				278,000		278,000			
			2년차		370,500				370,500		370,500			
2단계			1년차		370,500		9,263		379,763		83,362			
					83,362				463,125					
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)			기관명		책임자		직위		휴대전화		전자우편			
			비고		역할		기관유형							
공동연구개발기관			서울여자대학교 산학협력단		류기현		교수				공동 대학			
			철원플라즈마 산업기술연구원		박미리		본부장				공동 지자체 출연연			
			㈜셀세이프		한재진		소장				공동 중소기업			
연구개발담당자 실무담당자			성명		임승모		직위		농업연구사					
			연락처		직장전화		휴대전화							
			전자우편				국가연구자번호							

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2023 년 2 월 3 일

연구책임자: 이 성 진

주관연구개발기관의 장: 농림축산검역본부

공동연구개발기관의 장: 서울여자대학교 산학협력단

공동연구개발기관의 장: (재)철원플라즈마산업기술연구원

공동연구개발기관의 장: ㈜셀세이프

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하



< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명		작물바이러스 및 병해충 대응 산업화 기술개발사업			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)		
내역사업명 (해당 시 작성)					연구개발과제번호		320044-3
기술 분류	국가과학기술 표준분류	작물보호 LB0304	100 %	2순위 소분류 코드명	%	3순위 소분류 코드명	%
	농림식품 과학기술분류	생산기술(채소및산나물) AAC2	100 %	2순위 소분류 코드명	%	3순위 소분류 코드명	%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명		검역바이러스 정밀 검사 효율 향상 기술 개발					
전체 연구개발기간		2020.04.29.~2022.12.31.(33개월)					
총 연구개발비		총 1,111,625천원 (정부지원연구개발비: 1,019,000천원, 기관부담연구개발비: 92,625천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 천원)					
연구개발단계		기초[] 응용[<input checked="" type="checkbox"/>] 개발[<input checked="" type="checkbox"/>] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준() 종료시점 목표()	
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							
연구개발 목표 및 내용		최종 목표		<ul style="list-style-type: none"> ○ 식물검역 바이러스 정밀검역 효율향상 기술 개발 및 국경검사 안정성 강화 <ul style="list-style-type: none"> - 정밀검사법 미구축된 검역바이러스 16종 검사법 개발 및 진단 키트 산업화 - 기 구축된 검역바이러스 정밀검사법에 대한 안정성 점검(검사법 18종) ○ 최근 수입된 아열대 작물의 유입우려 바이러스 발생조사 및 관리방안 모색(10작물 이상) 			
		전체 내용		<ul style="list-style-type: none"> ○ 정밀검사법 미구축된 검역바이러스 16종 검사법 개발 및 진단 키트 산업화 <ul style="list-style-type: none"> - 검역바이러스 16종에 대한 후보 프라이머 설계 및 최적 프라이머 선발 - 선발된 프라이머 현장 적용성 확인 및 양성시료(플라스미드 클론) 확보 - 국경검역 현장적용용 진단키트 시제품 제작 ○ 재식용 수입작물 품목별 검역바이러스(18종) 정밀검사법 안정성 검사 및 보완연구 <ul style="list-style-type: none"> - 기존 검사법(프라이머)에 대한 유전자 기반 적정성 검토 - 기존 검사법(프라이머)에 대한 검역대상 기주 식물 검정 적정성 분석 - 기존 검사법(프라이머)의 적정성 문제에 따른 개선 방안 연구 ○ 최근 수입된 아열대 작물의 유입우려 바이러스 발생조사 및 관리방안 모색 <ul style="list-style-type: none"> - 해외 아열대 작물의 유입우려 바이러스 조사 및 Data base 구축 (수입 품목, 교역국가, 수입량, 유입우려 바이러스 조사 및 분석 등 국내 실정에 맞게 데이터시트화) - 최근 10년간 수입되어 재배중인 아열대 작물의 유입우려 바이러스 발생 조사 - 국내 아열대 작물의 유입 우려 바이러스 관리방안 모색 ○ 본 연구를 통해 개발된 검사법의 진단키트 시제품 제작 (검역 현장 적용용 진단키트) 			
		1단계	목표	○ 주관연구기관(농림축산검역본부): 정밀검사법 미구축 식물검역			

	(해당 시 작성)		<p>바이러스 11종에 대한 시퀀스 정보 수집 및 후보 프라이머 설계·검증</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 제1협동연구기관(서울여대산학협력단): 검역바이러스 12종의 정밀검사법 29세트에 대한 안정성 점검 및 개선방안 연구 ○ 제2협동연구기관(철원플라즈마산업기술연구원): 최근 수입된 아열대 작물의 유입우려 바이러스 발생 조사 <hr/> <ul style="list-style-type: none"> ○ 주관연구기관(농림축산검역본부) <ol style="list-style-type: none"> 1. DB(NCBI GenBank) 검색을 통한 시퀀스 확보 <ol style="list-style-type: none"> 1) 식물검역 바이러스 염기서열 확보 <ul style="list-style-type: none"> - PCR검사법 미구축 식물검역바이러스의 종별 전체 또는 단편 시퀀스 확보 - 소프트웨어(CLC Main Workbench 등)를 활용한 대량 시퀀스 일괄 다운로드 2. PCR검사법 미구축 식물검역바이러스 11종에 대한 후보 프라이머의 설계 및 검증 <ol style="list-style-type: none"> 1) 식물바이러스 종 특이적 후보군 프라이머의 설계 <ul style="list-style-type: none"> - In silico 분석(CLC Main Workbench의 활용)에 의한 conserved region 탐색 및 후보군 프라이머 서열 추출 - Blast 분석을 통한 특이성 검증 - 후보 프라이머 서열의 조합 2) 식물바이러스 종 특이적 후보군 프라이머의 검증 <ul style="list-style-type: none"> - 양성 시료의 확보 및 반응성 정도 확인 - 유연관계에 있는 종의 반응성 여부 확인 - 검사대상 식물에서의 반응성 여부 확인 - 선발된 후보군 프라이머의 민감성 확인 3. 양성대조구 클론의 개발 <ol style="list-style-type: none"> 1) 일반 양성대조구 클론의 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 양성시료 확보의 어려움 해소 등 양성 샘플을 대체할 수 있는 클론의 제작(일명 ‘뮤음형 양성대조군 클론’) ○ 제1협동연구기관(서울여대산학협력단) <ol style="list-style-type: none"> 1. 기존 검사법(프라이머)에 대한 유전자 기반 적정성 검토 <ol style="list-style-type: none"> 1) 바이러스 12종에 대한 최신 유전자 정보 확보 <ul style="list-style-type: none"> - 바이러스 12종 : APMoV, CSNV, INSV, IYSV, PMTV, TNV, PPV, BRRSV, BIScV, CNRMV, LChV-1, LChV-2 - 유전자 정보 확보 : NCBI GenBank, ICTV, 국내외 논문 등 2) In silico 기반 분석을 통한 프라이머 적정성 점검 <ul style="list-style-type: none"> - 점검 프라이머 : 29세트 (바이러스 6종의 현행 검사용 프라이머) - 적정성 점검 : 검역바이러스 12종의 최신 유전자 정보 확보 및 In silico 기반 12종 바이러스들의 정밀검사법 적정성 분석 2. 기존 검사법(프라이머)에 대한 검역대상 기주식물 검정 적정성 분석 <ol style="list-style-type: none"> 1) 적용대상 기주식물 확보 <ul style="list-style-type: none"> - 적용대상 기주식물 : 고추, 토마토, 감자, 담배, 동부, 포도나무, 백합속 등 - 기주식물 확보 방법 : 농림축산검역본부(각 지역본부), 국내외 관련기관, 대학 등 2) 표준양성시료 확보 <ul style="list-style-type: none"> - 표준유전자원 확보: 식물바이러스은행, 국내유관기관, ATCC, DSMZ, 국외 대학 등 - 표준양성시료 확보: 12종 바이러스 유전자가 삽입된 클론 확보 3) 기주식물별 프라이머 적용 및 검사법의 적정성 검증 <ul style="list-style-type: none"> - 기주식물별 핵산분리: 유효성 검증된 핵산분리키트 사용 - 기주식물별 핵산확보: 정밀검사법 적용 유효성 핵산농도 분석 - 기주식물별 정밀진단법 수행: 권장된 PCR 조건 수행 - 안정성 확인 및 문제점 확인된 바이러스 검사법·품목 도출
--	-----------	--	---

		<p>3. 문제점 원인분석 및 개선방안 마련</p> <p>1) 문제점 원인분석</p> <ul style="list-style-type: none"> - 식물기주별 핵산분리키트에 따른 정밀진단법의 안정성 문제 분석 - 권장된 PCR 조건에 따른 정밀진단법의 안정성 문제 분석 - 기존 프라이머의 적정성 문제에 따른 정밀진단법의 안정성 문제 분석 <p>2) 개선방안 마련</p> <ul style="list-style-type: none"> - 식물기주별 맞춤 핵산분리키트 제시 - In silico 기반 프라이머 보완 및 제작 - 신규 프라이머 양성시료 확보 - 신규 프라이머 적정성 검증 및 최적 진단조건 확립 <p>○ 제2협동연구기관(철원플라즈마산업기술연구원)</p> <p>1.아열대작물의 유입우려 바이러스조사 및 Data Base 구축</p> <p>1)국내 수입 아열대작물 현황 조사(수입품목, 교역국가, 국내 수입량 조사)</p> <ul style="list-style-type: none"> -전세계 아열대 작물 대상 바이러스병 발생 자료 조사 -국내 주요 재배 아열대 작물에 대한 유입우려 바이러스 분석 <p>2.국내 재배 아열대 작물 품목 선정 및 유입우려 해외 주요 바이러스 조사</p> <p>1)국내에서 재배되는 주요 아열대 작물 품목 선정(7종 이상)</p> <ul style="list-style-type: none"> -과수류(패션프루트, 용과, 파파야 등), 채소류(여주, 양빈 등) <p>3.국내 아열대 작물 재배지의 유입우려 바이러스 발생 조사</p> <p>1)조사지역: 전국 9개 도(6개 특광역시 포함) 주요 시·군의 아열대작물 재배지</p> <p>2)발생조사를 위한 샘플 채집 : 시 주요 농가별 50주 이상</p> <p>4.채집 샘플의 바이러스 검출 및 국내 해외유입 바이러스 발생 데이터시트화</p> <p>1)바이러스 검출 및 분석</p> <ul style="list-style-type: none"> -작물별 NGS 분석을 통한 감염 바이러스 분석 -NGS 분석 결과를 토대로 국내 주요 아열대 작물 대상 유효한 주요 바이러스 선별 및 PCR 검정용 프라이머 제작 (10종 이상) -검출된 바이러스의 염기서열분석 -국내 아열대 과수작물의 바이러스 발생 지도 작성
	<p>2단계 (해당 시 작성)</p>	<p>○ 주관연구기관(농림축산검역본부): 정밀검사법 미구축 식물검역 바이러스 5종에 대한 시퀀스 정보 수집 및 후보 프라이머 설계·검증</p> <p>○ 제1협동연구기관(서울여대산학협력단): 검역 바이러스 6종의 정밀검사법 12세트에 대한 안정성 점검 및 개선방안 연구</p> <p>○ 제2협동연구기관(철원플라즈마산업기술연구원): 최근 수입된 아열대 작물(채소)의 검역대상 바이러스 발생여부 조사 및 관리 방안 모색</p> <p>○ 제3협동연구기관((주)셀세이프): 본 연구를 통해 개발된 검사법의 진단키트 시제품 제작 (검역현장 적용용 진단키트)</p> <p>○ 주관연구기관(농림축산검역본부)</p> <p>1. DB(NCBI GenBank) 검색을 통한 시퀀스 확보</p> <p>1) 식물검역 바이러스 염기서열 확보</p> <ul style="list-style-type: none"> - PCR검사법 미구축 식물검역바이러스의 종별 전체 또는 단편 시퀀스 확보 - 소프트웨어(CLC Main Workbench 등)를 활용한 대량 시퀀스 일괄 다운로드 <p>2. PCR검사법 미구축 식물검역바이러스 5종에 대한 후보 프라이머의 설계 및 검증</p> <p>1) 식물바이러스 종 특이적 후보군 프라이머의 설계</p> <ul style="list-style-type: none"> - In silico 분석(CLC Main Workbench의 활용)에 의한 conserved region 탐색 및 후보군 프라이머 서열 추출 - Blast 분석을 통한 특이성 검증 - 후보 프라이머 서열의 조합

		<p>2) 식물바이러스 중 특이적 후보군 프라이머의 검증</p> <ul style="list-style-type: none"> - 양성 시료의 확보 및 반응성 정도 확인 - 유연관계에 있는 종의 반응성 여부 확인 - 검사대상 식물에서의 반응성 여부 확인 - 선발된 후보군 프라이머의 민감성 확인 <p>3. 양성대조구 클론의 개발</p> <p>1) 일반 양성대조구 클론의 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> - 양성시료 확보의 어려움 해소 등 양성 샘플을 대체할 수 있는 클론의 제작(일명 ‘묶음형 양성대조군 클론’) <p>○ 제1협동연구기관(서울여대산학협력단)</p> <p>(다음 1. 2. 3.의 점검대상 바이러스, 프라이머, 기주식물, 4. 보완을 제외한 모든 수행방법과 절차, 조사내용은 1·2차년도와 동일)</p> <p>1. 적정성 검증 대상 바이러스 6종 : BBrMV, BBTV, CNFV, CDV, CCMV, ToCV</p> <p>2. 점검 대상 프라이머 : 바이러스 6종의 현행 검사용 프라이머 12 세트</p> <p>3. 적용대상 기주식물 : 대상 바이러스별 기주식물</p> <p>4. 정밀검사법 안정성 점검 대상 검사법 18종에 대한 보완 및 정책건의</p> <ul style="list-style-type: none"> - 대상: 본 세부과제에서 안정성 점검된 검사법 18종 및 대상 품목의 보완 대책 <p>○ 제2협동연구기관(철원플라즈마산업기술연구원)</p> <p>1. 채집 샘플의 바이러스 검출 및 국내 아열대 채소작물의 해외유입 바이러스 발생 데이터시트화</p> <p>1) 국내 아열대 채소작물의 바이러스 검출 및 전국 바이러스 발생 현황 분석 (채집방법 및 수행은 1단계와 동일)</p> <p>2) 주요 바이러스별 검정법 구축</p> <ul style="list-style-type: none"> - 검출 프라이머 및 작물별 검정 프로토콜 정립화 <p>2. 국내 아열대 작물 재배지의 바이러스 감염 의심 샘플 채집 (채집방법 및 수행은 1단계와 동일)</p> <p>3. 채집 샘플의 바이러스 검출 및 국내 해외유입 바이러스 발생 데이터시트화 (수행방법은 1단계와 동일)</p> <p>4. 국내 주요 아열대 작물(채소류, 과수류)의 바이러스병 발생 조사 및 유입우려 바이러스 관리방안 모색</p> <ul style="list-style-type: none"> - 전국 지역별 주요 아열대 작물의 바이러스병 발생 분포 분석 - 아열대 작물의 유입우려 바이러스 관리방안 모색(바이러스 위험도 분석을 통한 검역대상 바이러스 선정, Data sheet 작성, 검사방법 등 검역 관리방안) - 대상 바이러스별 검정법 체계화 <p>○ 제3협동연구기관(셀세이프)</p> <p>1. 현장진단에 적합한 PCR master mix 제조</p> <ul style="list-style-type: none"> - 동결건조 형태의 보관성 용이한 제품 제조 - 최적 PCR 시제품 제작(MgCl₂ 농도 및 반응 증강제 보존제 테스트 수행) - 유통 안정성 시험(급속노화시험 및 장기보존시험 수행) <p>2. 제조 후 시제품 품질 평가</p> <ul style="list-style-type: none"> - 민감도(sensitivity) 측정 - 특이성(specificity) 측정 - 완건성(robustness) 측정 <p>3. Validation 자료 준비</p> <ul style="list-style-type: none"> - 검역현장 수행 매뉴얼 작성
--	--	---

연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 특허 <ul style="list-style-type: none"> - 출원: 알스트로에메리아 모자이크 바이러스를 특이적으로 검출하기 위한 프라이머 세트 및 용도 등 15건 - 등록: 알스트로에메리아 모자이크 바이러스를 특이적으로 검출하기 위한 프라이머 세트 및 용도 등 10건 ○ 고용창출: 4건 ○ 논문 <ul style="list-style-type: none"> - SCIE: First report of cucumber mosaic virus infecting bitter melon (<i>Momordica charantia</i>) in Korea 등 3건 - 비SCIE: Development of an RT-PCR assay and its positive clone for plant quarantine inspection of American plum line pattern virus in Korea (KJOAS 49:821-831) 등 2건 ○ 학술발표 <ul style="list-style-type: none"> - Development of an RT-PCR assay to detect Chilli vein mottle virus for plant quarantine inspections in South Korea 등 12건 ○ 인력양성: 2건 ○ 정책활용 <ul style="list-style-type: none"> - 정책건의: Alstroemeria mosaic virus (AIMV)의 PCR 검사법 실험실정밀검역 활용 건의 등 11건 - 정책채택: Alstroemeria mosaic virus (AIMV)의 PCR 검사법 실험실정밀검역 활용 건의 등 11건 ○ 홍보: 지역 전문지 1건 ○ 수상: 지역 과학대상 1건
--------	--

연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<p><활용계획></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 개발된 PCR 정밀검사법 및 진단키트 검역현장 적용 및 산업화 ⇒ 정책건의 및 검역현장 활용 ○ 안정성 확인 및 보수된 검역바이러스 검사법 18종 ⇒ 정책건의 및 검역현장 활용 ○ 아열대 작물 유입우려바이러스 발생조사 결과 및 관리방안 ⇒ 바이러스 관리방안(적기 예찰방안, 검역매뉴얼 등) 검역정책 수립에 활용 <p><기대효과></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 검역바이러스 정밀검사법 개발 및 기존 검사법 안정성 점검·보수를 통한 국경검역 효율 향상. 검역 강화 ○ 수출입 식물에 대한 바이러스 정밀검역시스템의 과학화, 체계화, 안정화 달성 ○ 유입우려 바이러스의 조기 예찰 및 적기 방제 등 관련정책 적기 수립
---------------------	--

연구개발성과의 비공개여부 및 사유

연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문		특허	보고서 원문	연구 시설·장비	기술 요약 정보	소프트 웨어	표준	생명자원		화학물	신품종	
	생명 정보	생물 자원							정보	실물			
	5	25											
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호				
국문핵심어 (5개 이내)	검역		바이러스		검사법		아열대 작물		진단키트				
영문핵심어 (5개 이내)	Quarantine		Plant virus		Detection method		Subtropical plant		Diagnosis kit				

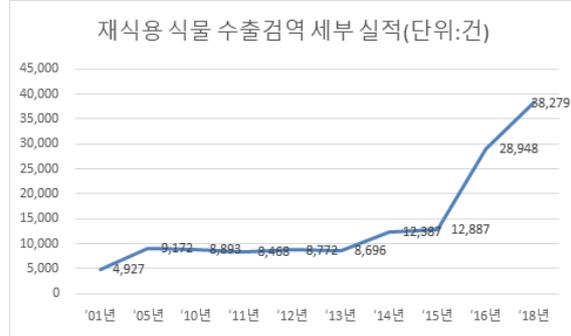
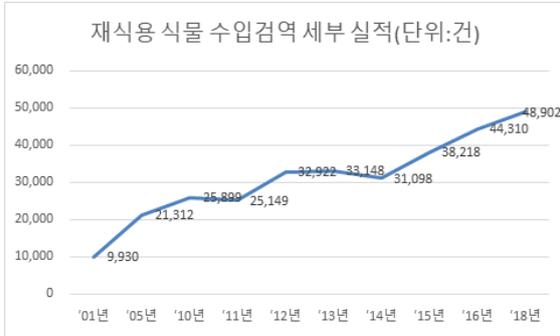
< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성)
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

별첨 자료

1. 연구개발과제의 개요

- 국내 연간 수입식물과 수출식물은 각각 4,851,654건(30382톤, 11천m³, 348천개), 58,707건(431톤, 31m³, 33천개)이며, 이 중 바이러스 정밀검사 대상은 재식용 식물인 종자류 및 식물류임. 재식용으로 수출·수입되는 종자류와 식물류의 연간 검역실적은 수입 48천건, 수출 38천건으로서 최근 가파른 상승세를 보이고 있음.



<그림> 연도별 재식용 식물 수입 및 수출검역 실적(단위: 건, '01-'18)

- 수입식물의 주요 국경검역대상 바이러스(금지, 관리)는 2020년 현재 99종(검역본부 고시 제 2020-5호, 2020.1.23.)이 지정되어 있음. 국경검역에서 이들 바이러스를 검사하는 검사방법은 2000년 이전에는 혈청학적 기반의 ELISA검사법이 주를 이루었으나, 분자생물학적 검사기술이 비약적으로 발달한 2000년 이후부터는 PCR 검사법이 검역의 주요 검사법으로 이용되고 있음. 현재 PCR 검사법 등 정밀검사법이 확보된 검역바이러스는 83종으로서 16종은 검사법이 미확보되어 있어 바이러스가 감염된 기주식물이 수입되어도 정밀검사가 어려워 국내 유입이 우려되는 상황임. 따라서 이들 중에 대해서는 검사법의 개발 및 검역활용이 시급하다 할 수 있음
- 수출식물의 경우, 수출상대국에서 무감염을 요구하는 바이러스가 있을 경우, 수출 전 검사를 통해 바이러스의 무감염 여부를 검사하여야 하므로 각 국에서 요구하는 바이러스에 대해 검사법 구축이 필요하나 해당 검사법이 충분히 갖추어지지 않은 상태임. 따라서 이들 바이러스에 대해서도 검사법을 구축하여 국내 농산물의 안정적인 수출을 도모할 필요가 있음
 - 수출상대국 무감염 요구 바이러스 : 치커리종자 Chicory yellow mottle virus, 국화 Chrysanthemum chlorotic mottle virus, 고추종자 Pepper mild mosaic virus, Tomato ringspot virus 등
- PCR 검사법이 이미 갖추어져 있는 검사법의 경우, 최근 수입 품목이 다변화되어 과거에 수입되지 않았던 품목의 수입이 증가하고 있음. 그러나 검사법 개발 당시에는 이들 품목에 대한 검증이 이루어지지 않았기에 현재 해당 품목에 대한 검사법의 안정성이 확인되지 않은 채로 검사가 수행되고 있는 실정임. 실제로 국경검역에서 수입식물 바이러스 검사 시 품목별로 비특이반응 등이 관찰되어 반복실험을 수행해야 하거나 결과 판정을 어렵게 하는 경우가 종종 있어 검역현장에서의 신속한 업무 수행에 장애를 초래하고 있는 것이 개선점으로 자주 지적되고 있음. 또한 구축된 검사법의 대부분이 과거 유전자정보가 충분하지 않던 2010년 초기에 개발되었기에, 병원체에 대한 유전자 정보가 비약적으로 축적된 현재의 정보를 반영하여 검사법 자체의 품질을 향상시킬 필요가 있음. 이러한 문제를 해결하기 위해서는 기존 구축된

검사법에 대해서는 in silico 분석기법 등 발달된 검사법 점검기법을 적용하여 검사법의 품질을 보수할 필요가 있으며, 다양한 수입품목에 대해서는 비특이반응 등 정밀검사의 품질을 저해하는 요인을 적극적으로 찾아내어 국경검역의 정밀검사 효율을 향상시켜야 함.

- PCR 검사법 미구축 주요 바이러스 : Abutilon mosaic virus, Bean golden mosaic virus, Blueberry shoestring virus, Maize streak virus 등 16종
 - 국경검역 과정 중 비특이반응 문제가 제기되고 있는 수입 품목 사례 : 종자류(토마토종자, 무종자 등), 묘목류(국화묘 등) 구근류(글라디올러스 등 구근화훼류)
- 한편, 최근 아열대 작물의 수입이 증가하고 국내 재배면적이 늘어나면서 국내에 분포하지 않던 유해한 바이러스의 유입·정착이 우려되는 점 또한, 간과할 수 없는 식물검역의 현안사항이라고 볼 수 있음.
- 최근 재배면적이 급격히 증가한 아열대 작물 : 패션프루트, 망고, 구아바, 용과, 여주, 삼채, 강황, 암빈, 차요테 등
 - 국내 재배 아열대 작물에서 발생한 해외 유입 바이러스 : Passionfruit woodiness virus, Euphorbia leaf curl virus 등
- 수출입 식물에 대한 바이러스 국경검역의 문제점을 요약해 보자면, 검사법이 미구축된 검역 바이러스가 존재하는 점, 수입품목 정밀검사 과정에 비특이반응 등 문제가 발생하여 검역현장의 애로사항으로 도출되고 있는 점, 최근 아열대 작물의 수입이 증가하여 국내에 분포하지 않던 유해한 바이러스의 유입·정착이 우려되는 점 등을 들 수 있으며, 실질적으로 이러한 문제들이 외국 병해충들의 국내유입을 국경검역에서 사전차단함으로써 국내 작물 생산기반과 식생을 보호하고자 하는 식물검역의 효율을 크게 저하시키고 있다는 점임.
- 본 사업에서는 이러한 문제점을 효과적으로 해결하고자 네 분야의 세부사업을 추진하고, 결과로서 도출된 연구성과를 검역현장에 적용함으로써, 정밀검사법 측면에서는 수입식물의 바이러스 검역검사법을 안정적으로 구축하고, 개발된 정밀검사법에 대해서는 산업화가 가능하도록 시제품을 제작함으로써 향후 안정적으로 검역현장에 공급될 수 있도록 하여 검역효율을 향상시키고자 하며, 유입우려 바이러스 측면에서는 최근 수입이 급증한 아열대작물을 대상으로 유입우려 바이러스 데이터시트 구축 및 바이러스 발생현황을 전국 조사하여 조기에 찰·방제 및 선제적인 관련정책 수립이 가능하도록 추진하고자 함.

<사업 구성>

- 제1세부 : 수출입식물 검사법 미구축 검역바이러스 정밀검사법 개발 및 진단키트 산업화
- 제2세부 : 기 구축된 재식용 수입식물 검역바이러스 정밀검사법의 안정성 점검 및 보수
- 제3세부 : 최근 수입된 아열대 작물의 유입우려 바이러스 발생조사 및 관리방안 수립
- 제4세부 : 개발된 검사법에 대한 진단키트 시제품 제작

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

- 2-1. 주관연구기관 연구 수행 과정 및 수행 내용 [농림축산검역본부]
- 2-2. 제1협동 연구 수행 과정 및 수행 내용 [서울여자대학교 산학협력단]
- 2-3. 제2협동 연구 수행 과정 및 수행 내용 [철원플라스마산업연구소]
- 2-4. 제3협동 연구 수행 과정 및 수행 내용 [셀세이프]

2-1. 주관연구기관 연구 수행 과정 및 수행 내용 [농림축산검역본부]

<1차년도 연구내용>

1) PCR 검사법 개발 개요

가) 대상 바이러스 : Alstroemeria mosaic virus, American plum line pattern virus, Chilli veinal mottle virus, Tobacco etch virus, Potato aucuba mosaic virus, Rice yellow mottle virus

나) 연구방법

- 활용 가능한 모든 시퀀스의 수집(NCBI GenBank) : AIMV 4, APLPV 33, ChiVMV 147, PAMV 20, RYMV 51, TEV 149
- 유전자분석용 소프트웨어(CLC Main Workbench)를 이용한 in silico 분석
 - 수집한 각각의 바이러스 시퀀스의 alignment
 - Conserved region의 확인 및 후보 프라이머의 설계

2) PCR 검사법 미구축 식물검역 바이러스 6종에 대한 후보 프라이머 설계

가) Alstroemeria mosaic virus (AIMV) 종 특이적인 프라이머의 설계

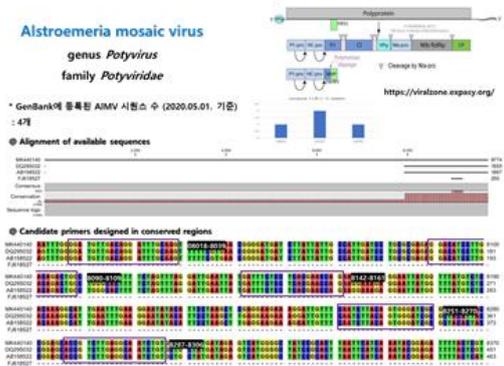
- 현재 NCBI GenBank에서 활용 가능한 4개의 AIMV 시퀀스(2020년 5월 기준)를 이용하여 후보 프라이머를 설계함

○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

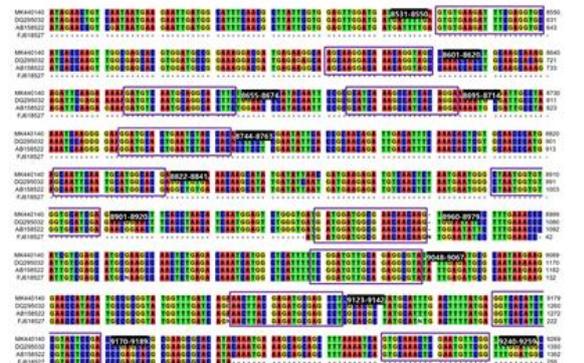
- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계

- 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
- 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(conserved region) 탐색
- In vitro 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석



- 후보 프라이머의 설계



- 후보 프라이머 세트의 조합

Combinations of candidate diagnostic primers

Strain	Primer 1	Primer 2	Primer 3	Primer 4	Primer 5
MW42140	A	A	A	A	A
DQ29932	B	B	B	B	B
AB15932	C	C	C	C	C
FJ61927	D	D	D	D	D
MW42140	E	E	E	E	E
DQ29932	F	F	F	F	F
AB15932	G	G	G	G	G
FJ61927	H	H	H	H	H
MW42140	I	I	I	I	I
DQ29932	J	J	J	J	J
AB15932	K	K	K	K	K
FJ61927	L	L	L	L	L
MW42140	M	M	M	M	M
DQ29932	N	N	N	N	N
AB15932	O	O	O	O	O
FJ61927	P	P	P	P	P
MW42140	Q	Q	Q	Q	Q
DQ29932	R	R	R	R	R
AB15932	S	S	S	S	S
FJ61927	T	T	T	T	T

- 설계된 후보 프라이머의 조합(PCR산물의 크기는 약 300-800bp 범위가 될 수 있도록 조합) 후 이를 검증하기 위해서는 균주(타겟 바이러스 및 근연종)에 대한 특이성 테스트 및 검사 품목에 대한 비특이적 산물 생성 여부 확인이 필요함

- 해당 바이러스 검사법에 적용될 균주 및 검사품목(종자 및 식물체; 식물체의 경우 종자로 확보될 경우 온실에서 재배) 시료 확보
 - 타겟 균주: Alstroemeria mosaic virus
 - 비교 균주: 4종 potyviruses (Banana bract mosaic virus, Bean common mosaic virus, Chilli veinal mottle virus, Tobacco etch virus)
 - 품목(식물체): 알스트로메리아

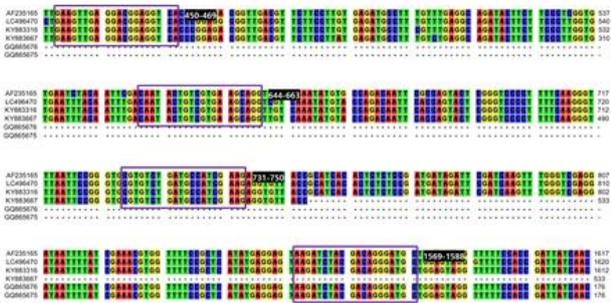
나) American plum line pattern virus (APLPV) 중 특이적인 프라이머의 설계

- 현재 NCBI GenBank에서 활용 가능한 33개의 APLPV 시퀀스(2020년 5월 기준; RNA1: 4개, RNA2: 6개, RNA3: 23개)를 이용하여 후보 프라이머를 설계함

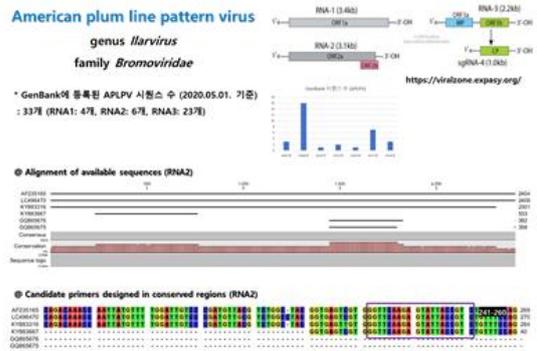
○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계
 - 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
 - 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(conserved region) 탐색
 - *In vitro* 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

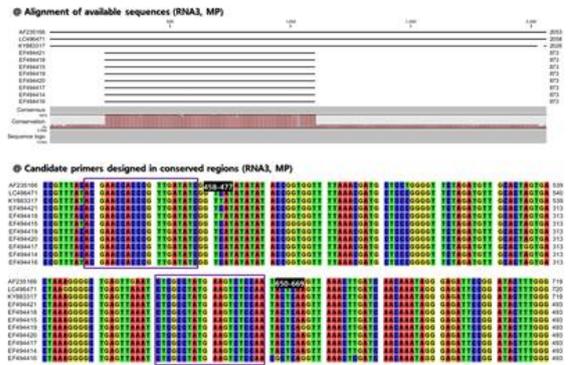
- 후보 프라이머의 설계



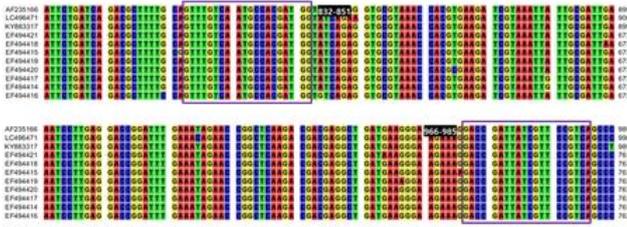
- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석



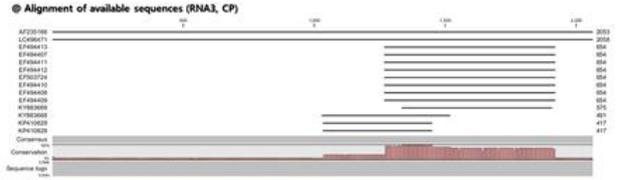
- 후보 프라이머의 설계(continued)



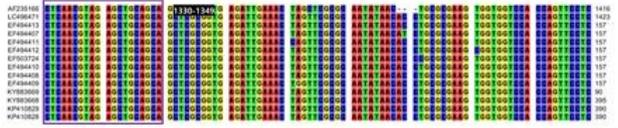
- 후보 프라이머의 설계(continued)



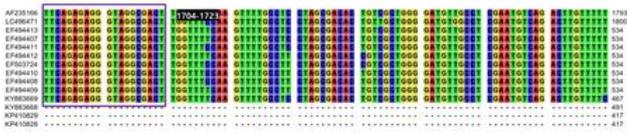
- 후보 프라이머의 설계(continued)



② Candidate primers designed in conserved regions (RNA3, CP)



- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머 세트의 조합

③ Combinations of candidate diagnostic primers

Set	Primer	Sequence (5'-3')	Location ^a	Size	bp
1	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	413
	R	CTG GTT TCA TGA CAG TAT TCG	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
2	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
3	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
4	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
5	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
6	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
7	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
8	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
9	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
10	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
11	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
12	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
13	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
14	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
15	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
16	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
17	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	514
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	
	F	GGT TTA ATA ATA TTA CCG TCC	241-260	20	
	R	CTG TGA TGA TTA CCG TCC	481-500	20	

- 설계된 후보 프라이머의 조합(PCR산물의 크기는 약 300-800 bp 범위가 될 수 있도록 조합) 후 이를 검증하기 위해서는 균주(타겟 바이러스 및 근연종)에 대한 특이성 테스트 및 검사 품목에 대한 비특이적 산물 생성 여부 확인이 필요함
- 해당 바이러스 검사법에 적용될 균주 및 검사품목(종자 및 식물체; 식물체의 경우 종자로 확보될 경우 온실에서 재배) 시료 확보
 - 타겟 균주: American plum line pattern virus
 - 비교 균주: 6종 Ilarviruses (Apple mosaic virus, Asparagus virus 2, Blueberry shock virus, Prune dwarf virus, Prunus necrotic ringspot virus, Tobacco streak virus)
 - 품목(식물체): 매실, 벚나무, 복숭아, 살구, 아몬드, 앵두, 양벚, 옥매, 자두, 자엽꽃나무

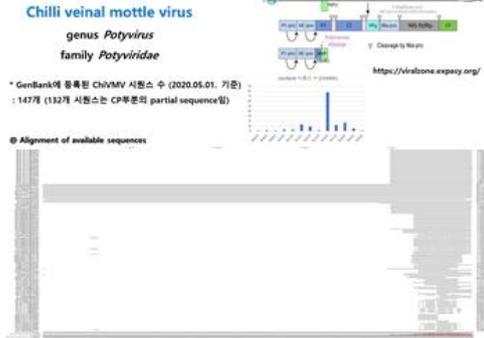
다) Chilli veinal mottle virus (ChiVMV) 종 특이적인 프라이머의 설계

- 현재 NCBI GenBank에서 활용가능한 147개의 ChiVMV 시퀀스(2020년 5월 기준)를 이용하여 후보 프라이머를 설계하였으나, 132개 시퀀스는 CP부분의 partial sequence로 활용도가 낮음

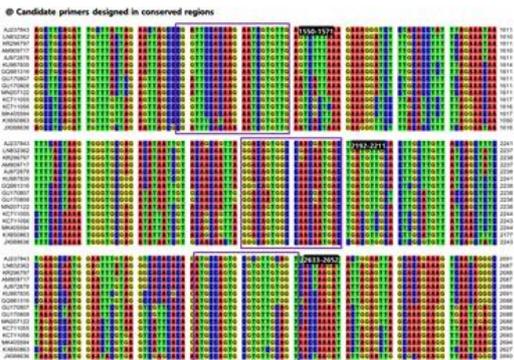
○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계
- 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
- 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(conserved region) 탐색
- *In vitro* 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

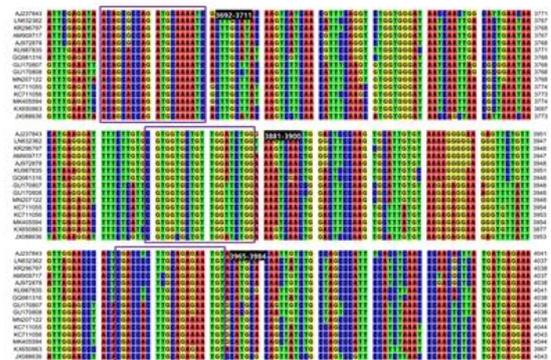
- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석



- 후보 프라이머의 설계



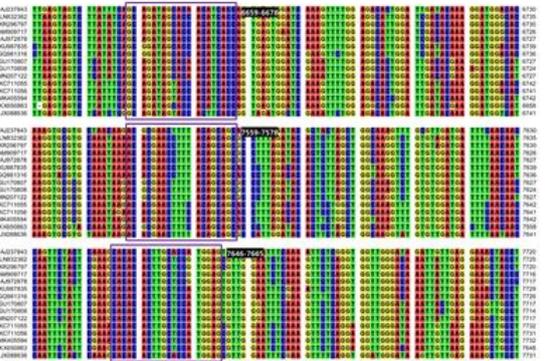
- 후보 프라이머의 설계(continued)



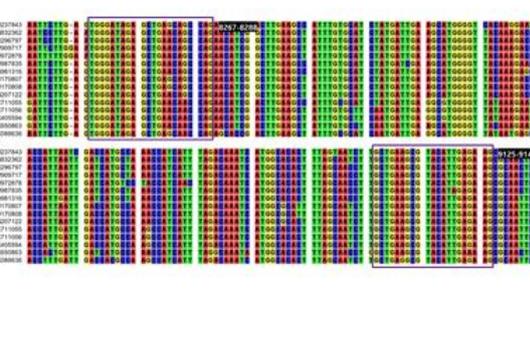
- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머 세트의 조합

② Combinations of candidate diagnostic primers

Set	Direction	Sequence (5'-3')	Location*	No.	bp
1	F	CGR TTY CAY AAR AAT COT GTT G	3580-3571	1F	682
	R	GTC ATY GTG GAC CAY TGY CC	3311-3302	2R	
2	F	GGR CAG TGG CGC ACC ATG AC	2180-2111	3F	681
	R	ACT GCR ACC CGC ACT GGC AT	2050-2033	3R	
3	F	ACA GGC CGA GAT GCA AAA TC	3880-3711	4F	656
	R	CCT GTC CCY TGY GCA TCG AC	4347-4338	7R	
4	F	CCT GAT GCT GTT GAT TCT GG	3881-3860	5F	687
	R	CCT GTC CCY TGY GCA TCG AC	4347-4338	7R	
5	F	GSA GCR CTT GCA SAB AAT GT	3880-3884	6F	383
	R	CCT GTC CCY TGY GCA TCG AC	4347-4338	7R	
6	F	GTX GAT GCR CAG GAT ACA GG	4339-4347	9F	557
	R	AGY GGC ATG GTD CGR GCT TG	4884-4885	8R	
7	F	GAR GGT GTG GAT CAG GAA CC	6383-6382	9F	438
	R	GAT GAT GTC GTC CTA TCG GC	6678-6669	10R	
8	F	ACR CSA ACT TTY ACA GCA CC	7539-7578	11F	730
	R	CYG GYT GYT CAG CTC TRT CCC A	8388-8387	13R	
9	F	CAC ACA CTT GCW CCG TGG AG	7646-7665	12F	643
	R	CYG GYT GYT CAG CTC TRT CCC A	8388-8387	13R	
10	F	TGG GAT AGA GAT GAT CAG CCG G	8267-8288	13F	878
	R	CTT TTT WAT GTA CAG TTC AAC	9143-9125	14R	

* Position of primers are based on the reference genome sequence (GenBank acc. no. NC_001776)

- 설계된 후보 프라이머의 조합(PCR산물의 크기는 약 300-800bp 범위가 될 수 있도록 조합) 후 이를 검증하기 위해서는 균주(타겟 바이러스 및 근연종)에 대한 특이성 테스트 및 검사

품목에 대한 비특이적 산물 생성 여부 확인이 필요함

- 해당 바이러스 검사법에 적용될 균주 및 검사품목(종자 및 식물체; 식물체의 경우 종자로 확보될 경우 온실에서 재배) 시료 확보
 - 타겟 균주: Chilli veinal mottle virus
 - 비교 균주: 4종 potyviruses (Alstroemeria mosaic virus, Banana bract mosaic virus, Bean common mosaic virus, Tobacco etch virus)
 - 품목(식물체): 고추, 담배

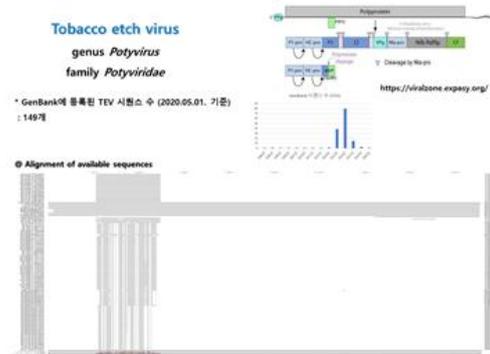
라) Tobacco etch virus (TEV) 종 특이적인 프라이머의 설계

- 현재 NCBI GenBank에서 활용가능한 149개의 TEV 시퀀스(2020년 5월 기준)를 이용하여 후보 프라이머를 설계함

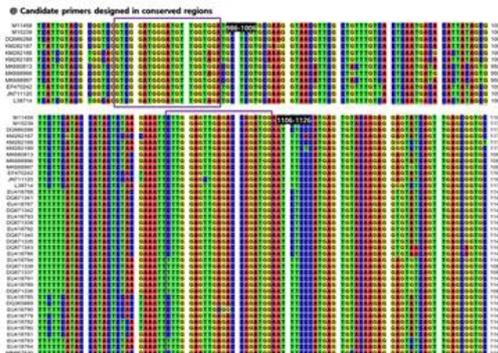
○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계
- 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
- 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(conserved region) 탐색
- *In vitro* 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

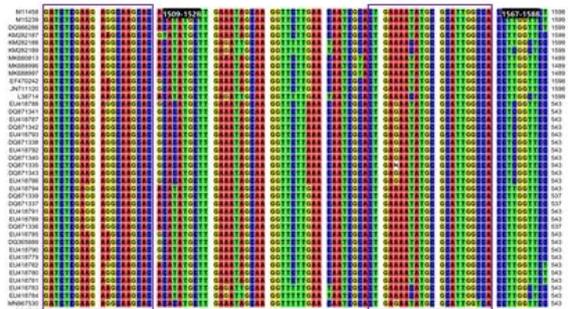
- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석



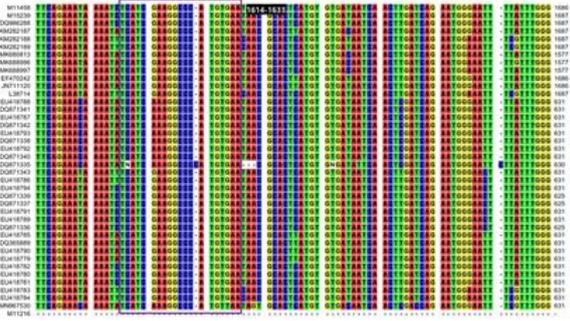
- 후보 프라이머의 설계



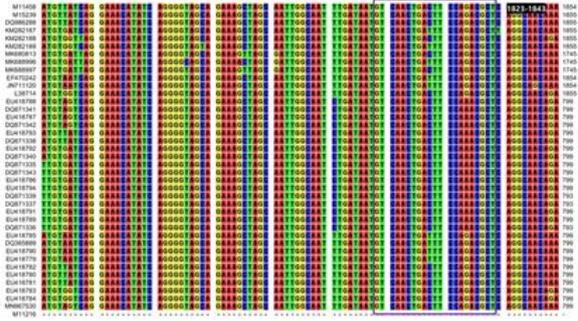
- 후보 프라이머의 설계(continued)



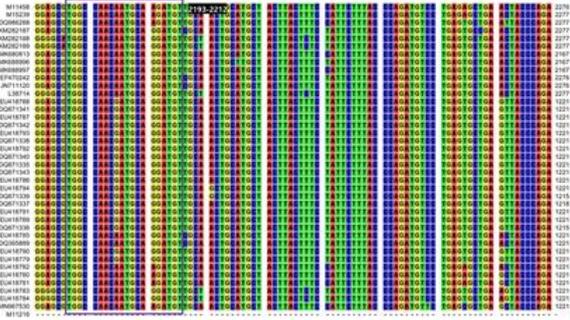
- 후보 프라이머의 설계(continued)



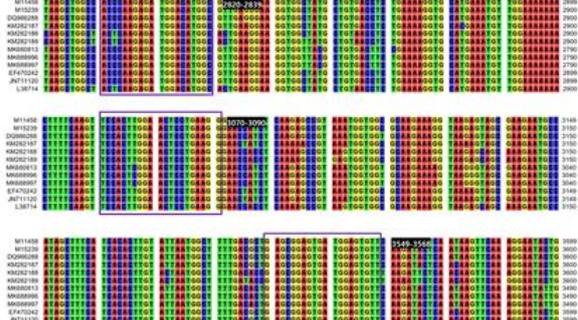
- 후보 프라이머의 설계(continued)



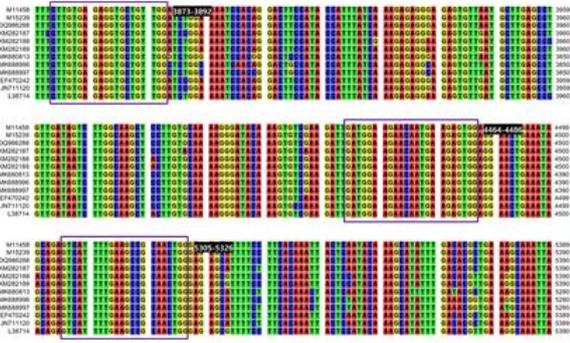
- 후보 프라이머의 설계(continued)



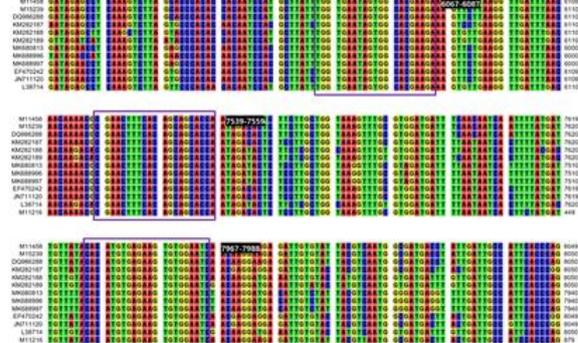
- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머 세트의 조합

④ Combinations of candidate diagnostic primers

Set	Temperature (°C)	Location*	No.	bp
1	F	OTC-GAG-TGG-GAT-GTT-GAT-BGA	989-1096	107
	R	GTG-TCT-TCC-TTT-TGG-AGA-TTC	1039-1096	58
2	F	OTC-GAG-TGG-GAT-GTT-GAT-BGA	996-1096	101
	R	TGG-TCA-ATG-TCC-ATG-TTY-TCA-TG	1049-1097	49
3	F	OTC-GAG-TGG-GAT-GTT-GAT-BGA	996-1096	101
	R	TTC-ACA-TGG-GCC-TTY-GAT-GA	1033-1034	12
4	F	CTT-GGA-GTT-GAG-ACC-AGA-TGG	1079-1126	47
	R	GTG-TCT-TCC-TTT-TGG-AGA-TTC	1039-1099	70
5	F	CTT-GGA-GTT-GAG-ACC-AGA-TGG	1079-1126	47
	R	TGG-TCA-ATG-TCC-ATG-TTY-TCA-TG	1049-1097	49
6	F	CTT-GGA-GTT-GAG-ACC-AGA-TGG	1079-1126	47
	R	TTC-ACA-TGG-GCC-TTY-GAT-GA	1033-1034	12
7	F	ACT-GGA-GTT-GAG-ACC-AGA-TGG	1079-1126	47
	R	ACT-GTT-TGG-AGC-TCA-TTT-GAC	1043-1093	50
8	F	GAT-TTC-SAG-SAG-SAG-ACC-ACC	1039-1038	10
	R	ACA-TTC-TGC-ATT-GTT-GGC-CA	1013-1013	1
9	F	ACA-TTC-TGC-ATT-GTT-GGC-CA	1013-1013	1
	R	ACA-TTC-TGC-ATT-GTT-GGC-CA	1013-1013	1
10	F	TCA-TCA-AGG-GCC-CAT-GTA-AG	1014-1013	10
	R	ACA-TTC-TGC-ATT-GTT-GGC-CA	1013-1013	1
11	F	TGG-CCA-ACC-ATG-CAG-GAT-GT	1019-1012	78
	R	GCC-ATG-TCC-ATC-TCT-TGG-AT	1019-1020	12
12	F	ACT-CAG-ATG-ATG-GAC-ATG-GC	1009-1019	10
	R	AGC-ACT-CGA-TCA-TTC-TTC-TG	1001-1008	78
13	F	TGC-ACT-TGG-AGC-TCC-TGA-AGG	1019-1018	10
	R	AGC-ACT-CGA-TCA-TTC-TTC-TG	1001-1008	78
14	F	CTC-TTC-AGA-GTC-GCT-GTT-GG	1013-1012	10
	R	GCA-TTC-TGC-ATT-GTT-GGC-CA	1013-1013	1
15	F	GTC-ATT-TTG-AGG-CGG-CAG-TGG	1001-1006	56
	R	TCC-TTC-TGC-TGC-TAT-TCA-TCA	1001-1007	68

* Position of primers are based on the NCBI GenBank accession no. NC_001819

- 설계된 후보 프라이머의 조합(PCR산물의 크기는 약 300-800bp 범위가 될 수 있도록 조합) 후 이를 검증하기 위해서는 균주(타겟 바이러스 및 근연종)에 대한 특이성 테스트 및 검사

품목에 대한 비특이적 산물 생성 여부 확인이 필요함

- 해당 바이러스 검사법에 적용될 균주 및 검사품목(종자 및 식물체); 식물체의 경우 종자로 확보될 경우 온실에서 재배) 시료 확보
 - 타겟 균주: Tobacco etch virus
 - 비교 균주: 4종 potyviruses (Alstroemeria mosaic virus, Banana bract mosaic virus, Bean common mosaic virus, Chilli veinal)
 - 품목(식물체): 결명자, 고추, 골든베리, 파리, 담배, 토마토

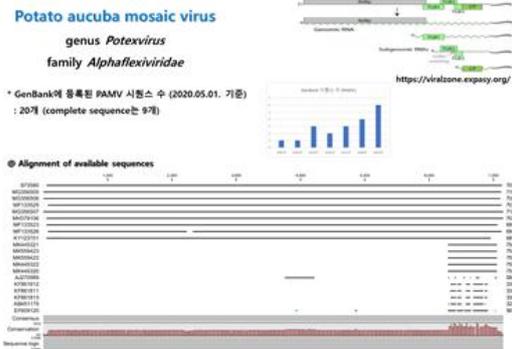
마) Potato aucuba mosaic virus (PAMV) 중 특이적인 프라이머 설계

- 현재 NCBI GenBank에서 활용가능한 20개의 PAMV 시퀀스(2020년 5월 기준)를 이용하여 후보 프라이머를 설계함

○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

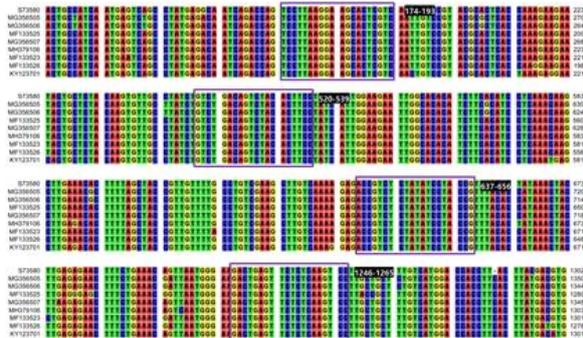
- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계
 - 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
 - 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(conserved region) 탐색
 - *In vitro* 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석

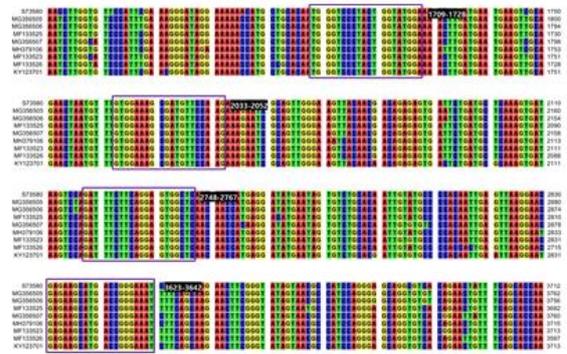


- 후보 프라이머의 설계

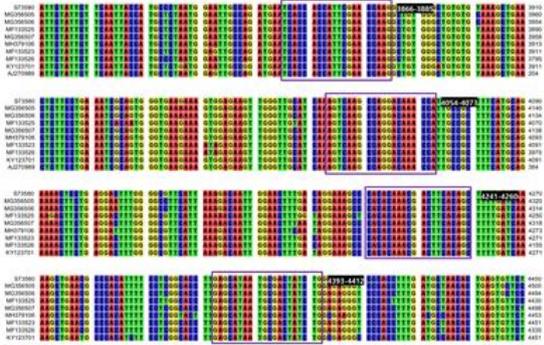
© Candidate primers designed in conserved regions



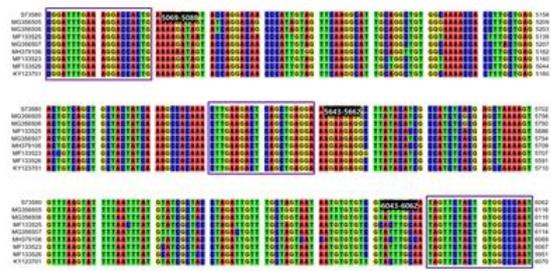
- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머 세트의 조합

© Combinations of candidate diagnostic primers

Set		Sequence(5'-3')	Location ^a	No.	bp
1	F	TGC TTA AGG AAG CAC CGG TC	124-182	1F	396
	R	GGA AGT GTA GAC TGT CAG AC	539-520	3R	
2	F	TGC TTA AGG AAG CAC CGG TC	174-192	1F	483
	R	CGG TAG GAT ATA GAG ACC GT	656-637	2R	
3	F	GTC TGA CAG TCT ACA CTT CC	520-539	3F	326
	R	GGG CTT GAG AGA ACT CAG TC	1280-1298	4R	
4	F	AGC TCT ATA TCC TAC CG	637-656	2F	629
	R	GGG CTT GAG AGA ACT CAG TC	1280-1298	4R	
5	F	GAC TGA GTT CTC TCA AGT CC	1246-1265	4F	483
	R	TTC ATA CCA ATA GGA ACC CA	1739-1708	3R	
6	F	GAC TGA GTT CTC TCA AGT CC	1246-1265	4F	607
	R	CTT GAA ACA TGG CTT TCC AC	2002-2019	6R	
7	F	GTG GAA GAC GAT GTT CCA AG	2020-2052	6F	735
	R	GAG CCA CTC CTG AAG AAA TC	2767-2749	7R	
8	F	GAG AAG CAT GAC CGG GAA AT	2627-2642	8F	481
	R	TTC TTT CTC CTG CTT CCA CT	4273-4254	10R	
9	F	GAG AAG CAT GAC CGG GAA AT	2627-2642	8F	636
	R	GGT GTG AAG TGG TTT GTG TG	4290-4281	11R	
10	F	GAG AAG CAT GAC CGG GAA AT	2627-2642	8F	791
	R	CCA GAT AGT CAC ATT ATG CTC	4413-4393	12R	
11	F	TCA CCA CCA TTC GAA CCA AG	2866-2885	9F	305
	R	GGT GTG AAG TGG TTT GTG TG	4290-4281	11R	
12	F	TCA CCA CCA TTC GAA CCA AG	2866-2885	9F	548
	R	CCA GAT AGT CAC ATT ATG CTC	4413-4393	12R	
13	F	GAG CAT AAT AGT AAT ATT TGG	4290-4211	13F	696
	R	CAG TGG TCC TTT GAA ATC CG	5086-5058	15R	
14	F	CGG ATT TGA AAG GAC CAC TG	5086-5088	13F	584
	R	TTC TCA GCT GAG TCT TCA AG	5962-5942	14R	
15	F	CTT GAA GAC TCA CTT GAG GA	5942-5962	14F	620
	R	ATT GGG CCA CAG TAG AAC TA	8082-8043	15R	

^a Positions of primers are based on the reference genome sequence (GenBank acc. no. NC_009442)

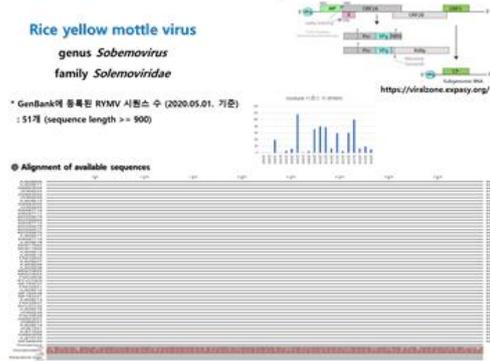
- 설계된 후보 프라이머의 조합(PCR산물의 크기는 약 300-800 bp 범위가 될 수 있도록 조합) 후 이를 검증하기 위해서는 균주(타겟 바이러스 및 근연종)에 대한 특이성 테스트 및 검사품목에 대한 비특이적 산물 생성 여부 확인이 필요함
- 해당 바이러스 검사법에 적용될 균주 및 검사품목(종자 및 식물체; 식물체의 경우 종자로 확보될 경우 온실에서 재배) 시료 확보
 - 타겟 균주: Potato aucuba mosaic virus
 - 비교 균주: 4종 potexviruses (Cymbidium mosaic virus, Potato virus X, White clover mosaic virus, Pepino mosaic virus)
 - 품목(식물체): 감자, 골든베리, 파리

- 바) Rice yellow mottle virus (RYMV) 중 특이적인 프라이머의 설계
- 현재 NCBI GenBank에서 활용가능한 51개(complete CDS)의 RYMV 시퀀스(2020년 5월 기준; 대략 700개 정도의 RYMV 시퀀스가 등록되어 있으나, 대부분이 CP region에서 확보된 partial sequence이기에 프라이머 설계에서 제외됨)를 이용하여 후보 프라이머를 설계함

○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

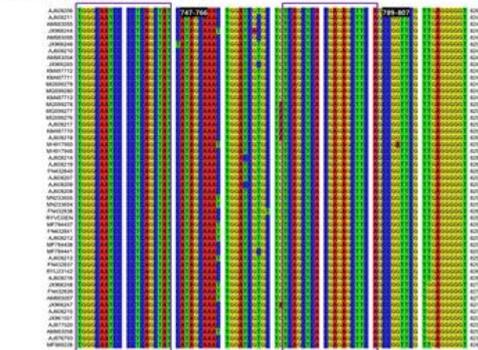
- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계
- 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
- 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(conserved region) 탐색
- *In vitro* 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석

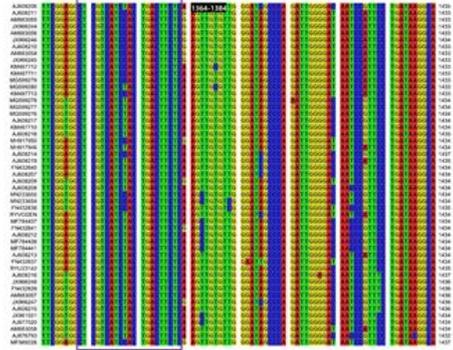


- 후보 프라이머의 설계

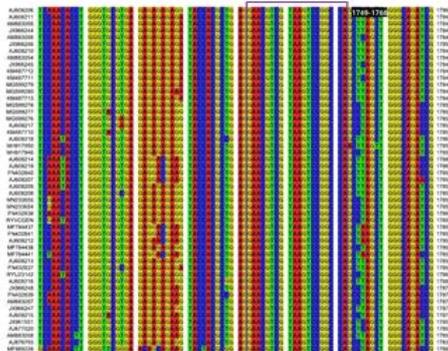
◎ Candidate primers designed in conserved regions



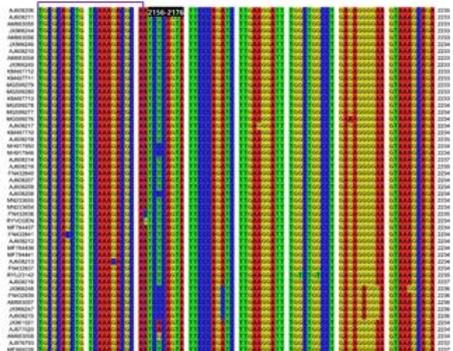
- 후보 프라이머의 설계(continued)



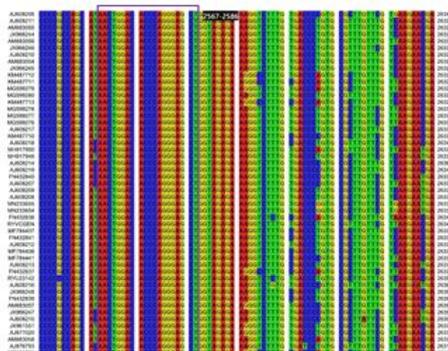
- 후보 프라이머의 설계(continued)



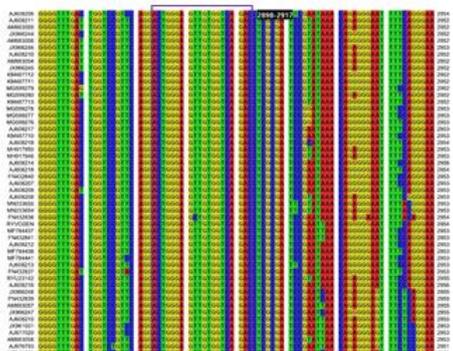
- 후보 프라이머의 설계(continued)



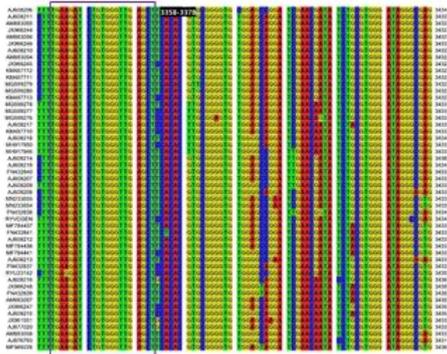
- 후보 프라이머의 설계(continued)



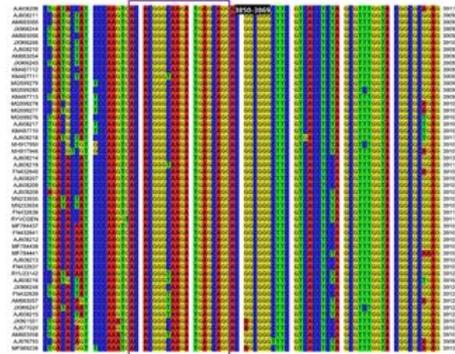
- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머 세트의 조합

Combinations of candidate diagnostic primers

Set	Strand	Sequence (5'→3')	Location*	No.	bp
1	F	TGGGCAATC CCC TCA GCT AT	151-164	1F	438
	R	GAAG TCA GTG GAT GAC GAG	1394-1384	1R	
2	F	TCA GCT CAC GAG AAG TTC A	199-207	2F	136
	R	GAAG TCA GTG GAT GAC GAG	1394-1384	2R	
3	F	CTC CTC ATT SAC TGA CTT CTC	1364-1384	3F	405
	R	TGG CGG GAT TTA CGA GGT TC	1389-1399	3R	
4	F	CTC CTC ATT SAC TGA CTT CTC	1364-1384	4F	413
	R	TGC GTG TTT GAC AGS TGC GCA	2136-2156	4R	
5	F	GAA COT COT AAG TCC GGC CA	1749-1768	5F	428
	R	TGC GTG TTT GAC AGS TGC GCA	2136-2156	5R	
6	F	GAA COT COT AAG TCC GGC CA	1749-1768	6F	438
	R	AAG TCC CTG GGT GTC CAG TT	2589-2587	6R	
7	F	TGC GCA SCT GTC AAA SAC GCA	2136-2136	7F	431
	R	AAG TCC CTG GGT GTC CAG TT	2589-2587	7R	
8	F	TGC GCA SCT GTC AAA SAC GCA	2136-2136	8F	392
	R	GTC TGA CCA CAB CTC CCA GT	2917-2898	8R	
9	F	AAC TGG ACA CCC AGG GAG CT	2587-2586	9F	384
	R	GTC TGA CCA CAB CTC CCA GT	2917-2898	9R	
10	F	AAC TGG ACA CCC AGG GAG CT	2587-2586	10F	412
	R	AAG TCA ACT CAC AAA TCT TCA	3373-3358	10R	
11	F	ACT GAG AGT TGT GGT CAG AC	2899-2917	11F	401
	R	AAG TCA ACC CAC AAA TCT TCA	3373-3358	11R	
12	F	TGA BGA TCT GTS GGT TGA GCT	3154-3378	12F	142
	R	GCT GCT CAT CTT BCC COT GT	3869-3850	12R	

* Location of primers are based on the reference genome sequence (GenBank accession no. NC_007676)

- 설계된 후보 프라이머의 조합(PCR산물의 크기는 약 300-800 bp 범위가 될 수 있도록 조합) 후 이를 검증하기 위해서는 균주(타겟 바이러스 및 근연종)에 대한 특이성 테스트 및 검사품목에 대한 비특이적 산물 생성 여부 확인이 필요함
- 해당 바이러스 검사법에 적용될 균주 및 검사품목(종자 및 식물체; 식물체의 경우 종자로 확보될 경우 온실에서 재배) 시료 확보
 - 타겟 균주: Rice yellow mottle virus
 - 비교 균주: 4종 sobemoviruses (Blueberry shoesting virus, Cocksfoot mottle virus, Southern bean mosaic virus, Sowbane mosaic virus)
 - 품목(종자): 벼

3) PCR 검사법 후보 프라이머의 검증 및 선발

가) Alstroemeria mosaic virus (AIMV) 후보 프라이머의 검증 및 선발

- AIMV 양성 및 음성 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증 : AIMV감염 시료를 이용하여 26개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 18개 (no. 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 20, 21, 23, 25) 프라이머세트가 선발되었음
- AIMV 근연종 바이러스를 이용한 후보 프라이머의 검증 : 4종 근연 바이러스를 이용하여 18개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 6개 (no. 3, 6, 11, 12, 14, 23) 프라이머세트를 선발
- AIMV 검사대상 시료를 이용한 후보 프라이머 검증 : 2종 검사대상 식물을 이용하여 6개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 5개 (no. 3, 11, 12, 14, 23) 프라이머세트가 선발되었음

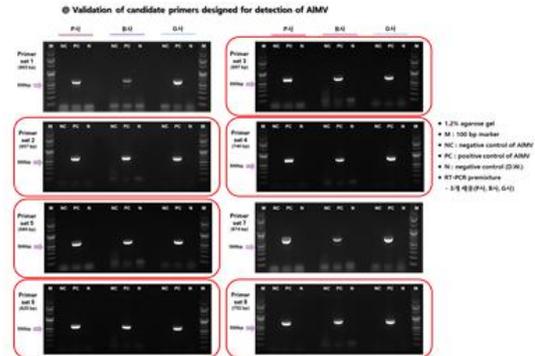
- AIMV 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머 검증 : 최종 선발된 모든 프라이머 세트는 핵산(total RNA) 농도 10^{-3} ng 이하에서도 타겟 밴드를 확인할 수 있는 정도의 높은 감도를 보임

○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

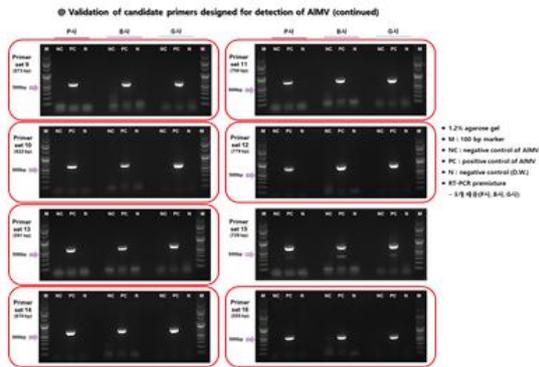
- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

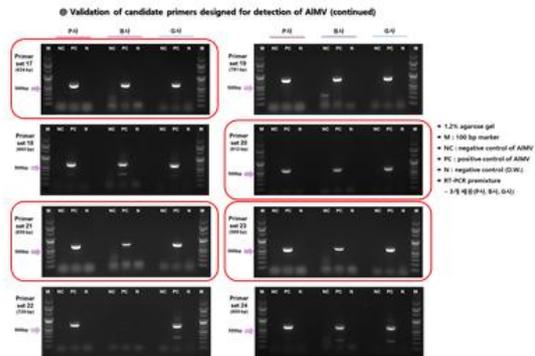
- 1단계 검증



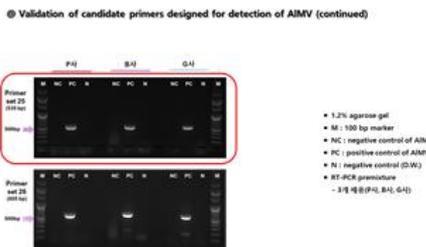
- 1단계 검증(continued)



- 1단계 검증(continued)

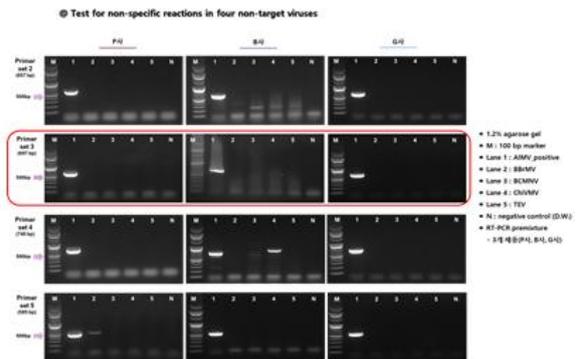


- 1단계 검증(continued)

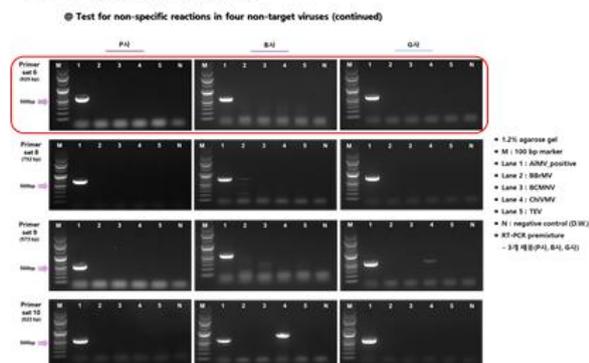


* AIMV 감염 시료를 이용하여 26개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 18개 프라이머세트가 선발되었음
* 선발된 프라이머세트 : no. 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 20, 21, 23, 25

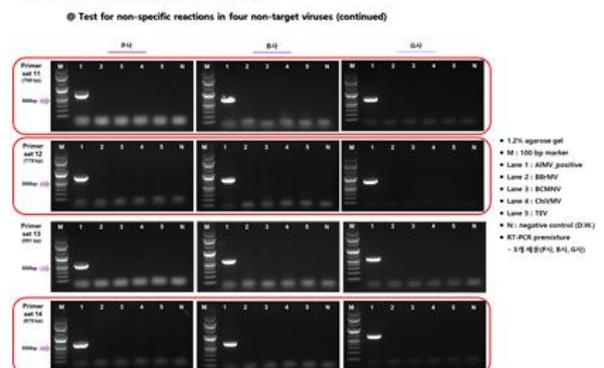
- 2단계 검증



- 2단계 검증(continued)

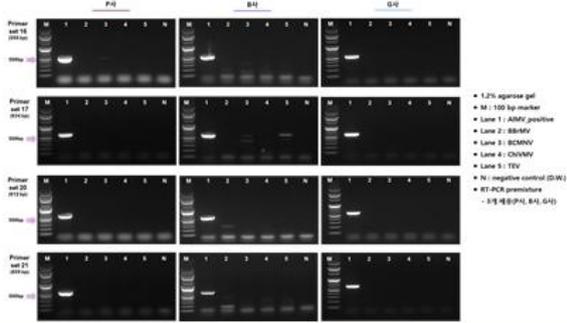


- 2단계 검증(continued)



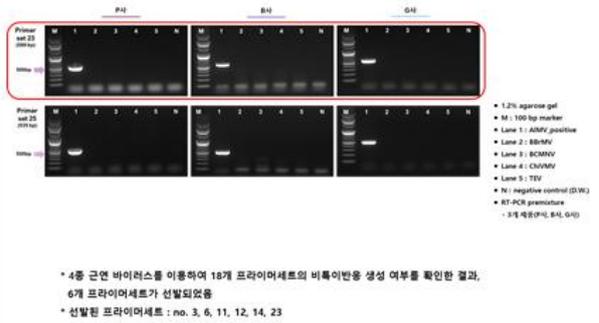
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses (continued)



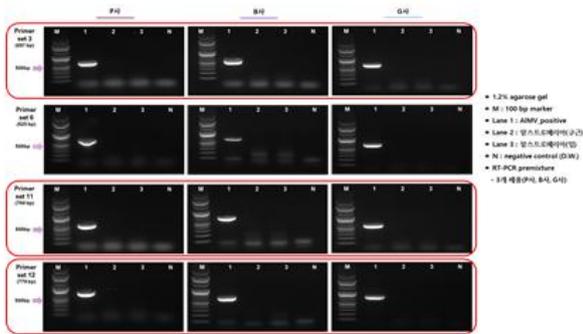
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses (continued)



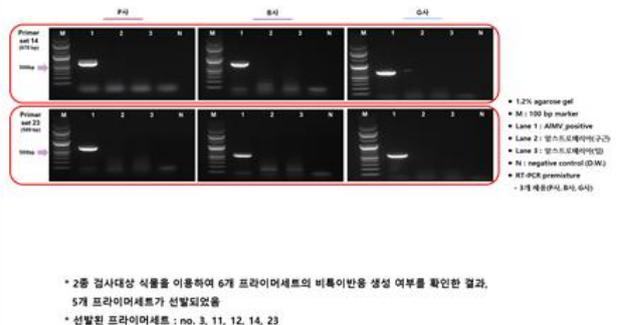
- 3단계 검증

◎ Test for non-specific reactions in two test plants



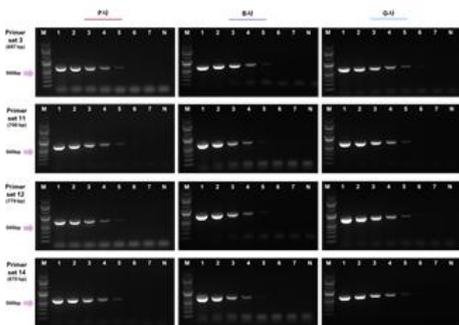
- 3단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in two test plants (continued)



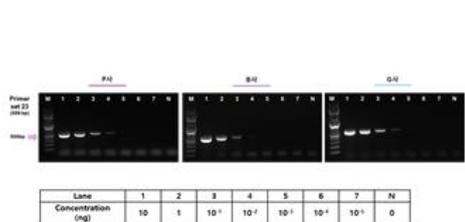
- 4단계 검증

◎ Concentration-dependent amplification test of the five finally selected primer sets



- 4단계 검증(continued)

◎ Concentration-dependent amplification test of the five finally selected primer sets (continued)



- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

Astromeria mosaic virus (AMV)

1st screening test				2nd screening test				3rd screening test				4th screening test			
Primer set	P12	B14	G14	Primer set	P12	B14	G14	Primer set	P12	B14	G14	Primer set	P12	B14	G14
3	○	○	○	3	○	○	○	3	○	○	○	3	○	○	○
6	○	○	○	6	○	○	○	6	○	○	○	6	○	○	○
11	○	○	○	11	○	○	○	11	○	○	○	11	○	○	○
12	○	○	○	12	○	○	○	12	○	○	○	12	○	○	○
14	○	○	○	14	○	○	○	14	○	○	○	14	○	○	○
23	○	○	○	23	○	○	○	23	○	○	○	23	○	○	○
25	○	○	○	25	○	○	○	25	○	○	○	25	○	○	○

- 2종 검사대상 식물 이용
- 6개 프라이머세트 검증
- 5개 프라이머세트 선발

- 4종 근연바이러스 이용
- 18개 프라이머세트 검증
- 6개 프라이머세트 선발

- 10⁻¹ 이하의 핵산 (total RNA) 농도에서도 안정함

- AMV 감염 식물 이용
- 26개 프라이머세트 검증
- 18개 프라이머세트 선발

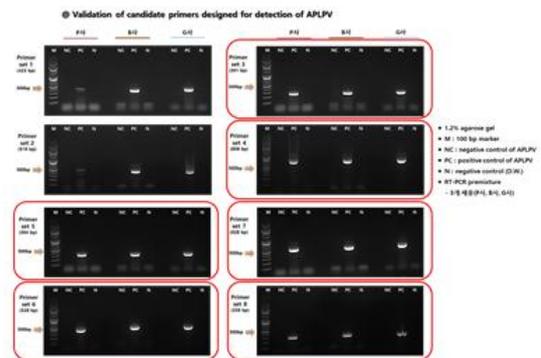
- 나) American plum line pattern virus (APLPV) 후보 프라이머의 검증 및 선발
- APLPV 양성 및 음성 시료를 이용한 후보 프라이머 검증 : APLPV감염 시료를 이용하여 17개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 15개 (no. 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17) 프라이머세트 선발되었음
 - APLPV 근연종 바이러스를 이용한 후보 프라이머 검증 : 6종 근연 바이러스를 이용하여 15개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 9개 (no. 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 17) 프라이머세트 선발되었음
 - APLPV 검사대상 시료를 이용한 후보 프라이머 검증 : 10종 검사대상 식물을 이용하여 9개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 3개 (no. 7, 9, 17) 프라이머 세트가 선발되었음
 - APLPV 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머 검증 : 최종 선발된 모든 프라이머 세트는 핵산(total RNA) 농도 10^{-1} ng 이하에서도 타겟 밴드를 확인할 수 있는 정도의 높은 감도를 보임

○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

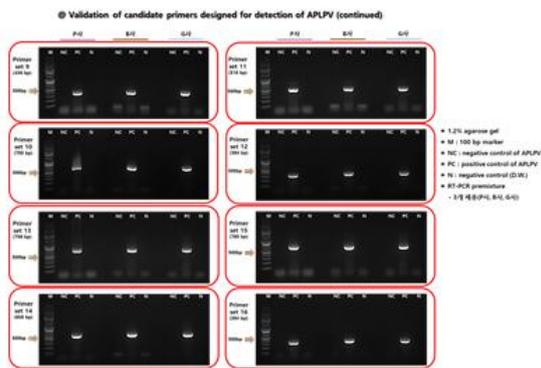
- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

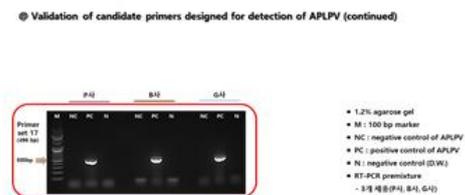
- 1단계 검증



- 1단계 검증(continued)



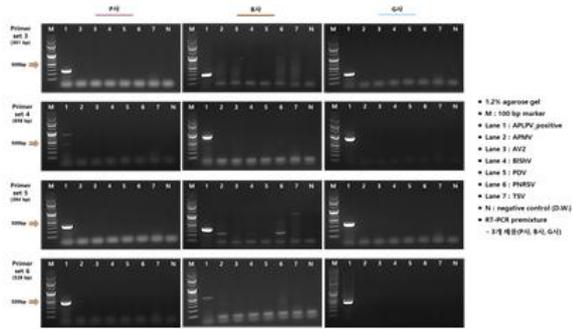
- 1단계 검증(continued)



* APLPV감염 시료를 이용하여 17개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 15개 프라이머세트가 선발되었음
 * 선발된 프라이머세트 : no. 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17

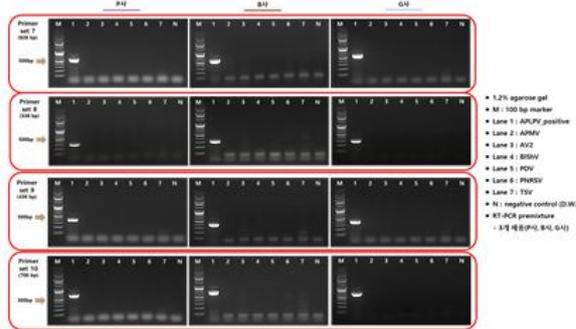
- 2단계 검증

◎ Test for non-specific reactions in six non-target viruses



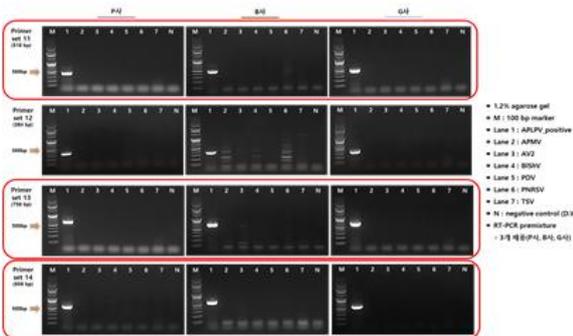
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in six non-target viruses (continued)



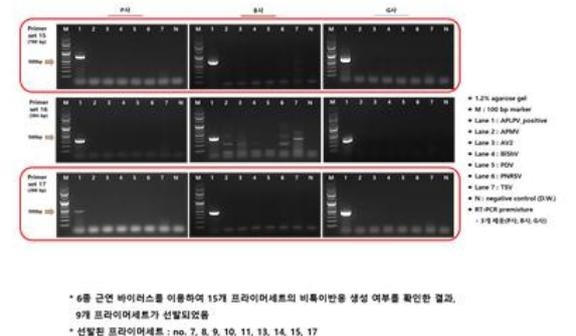
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in six non-target viruses (continued)



- 2단계 검증(continued)

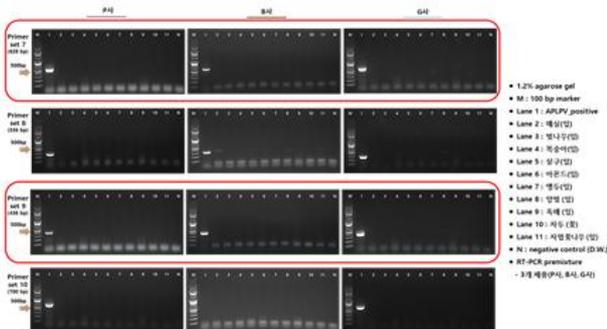
◎ Test for non-specific reactions in six non-target viruses (continued)



* 6종 근연 바이러스를 이용하여 15개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 9개 프라이머세트가 선발되었음
* 선발된 프라이머세트 : no. 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 17

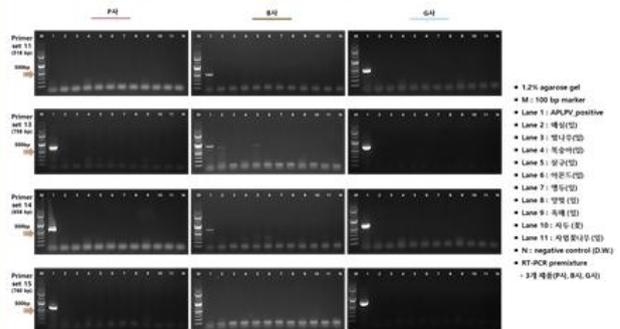
- 3단계 검증

◎ Test for non-specific reactions in ten test plants



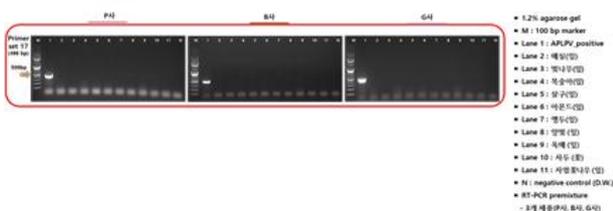
- 3단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in ten test plants (continued)



- 3단계 검증(continued)

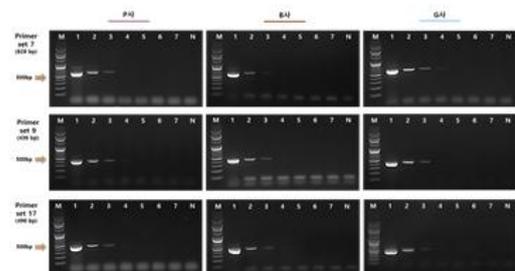
◎ Test for non-specific reactions in ten test plants (continued)



* 10종 검사대상 식물을 이용하여 9개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 3개 프라이머세트가 선발되었음
* 선발된 프라이머세트 : no. 7, 9, 17

- 4단계 검증

◎ Concentration-dependent amplification test of the three finally selected primer sets



Lane	1	2	3	4	5	6	7	N
Concentration (ng)	100	10	1	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	0

- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

American plum line pattern virus (APLPV)

1st screening test				2nd screening test				3rd screening test				4th screening test			
Primer set	부식	표지	검사	Primer set	부식	표지	검사	Primer set	부식	표지	검사	Primer set	부식	표지	검사
#1	X	O	O	#7	O	X	O	#10	O	X	O	#17	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹
#2	X	O	O	#8	O	X	O	#11	X	O	O	#18	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹
#3	O	O	O	#9	O	X	O	#12	O	O	O	#19	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹
#4	O	O	O	#10	O	X	O	#13	O	X	O	#20	O	O	O
#5	O	O	O	#11	O	O	O	#14	O	O	O	#21	O	O	O
#6	O	O	O	#12	O	O	O	#15	O	X	O	#22	O	O	O
#7	O	O	O	#13	O	O	O	#16	O	X	O	#23	O	O	O
#8	O	O	O	#14	O	O	O	#17	O	O	O	#24	O	O	O
#9	O	O	O	#15	O	O	O	#18	O	X	O	#25	O	O	O
#10	O	O	O	#16	O	O	O	#19	O	O	O	#26	O	O	O
#11	O	O	O	#17	O	O	O	#20	O	O	O	#27	O	O	O
#12	O	O	O	#18	O	O	O	#21	O	O	O	#28	O	O	O
#13	O	O	O	#19	O	O	O	#22	O	O	O	#29	O	O	O
#14	O	O	O	#20	O	O	O	#23	O	O	O	#30	O	O	O
#15	O	O	O	#21	O	O	O	#24	O	O	O	#31	O	O	O
#16	O	O	O	#22	O	O	O	#25	O	O	O	#32	O	O	O
#17	O	O	O	#23	O	O	O	#26	O	O	O	#33	O	O	O

- 10⁻¹ 역치의 핵산 (total RNA) 농도에서도 진단됨

- 4종 근연바이러스 이용
- 15개 프라이머세트 검증
- 9개 프라이머세트 선발

- 10종 검사대상 식물 이용
- 9개 프라이머세트 검증
- 2개 프라이머세트 선발

- APLPV 감염 시료 이용
- 17개 프라이머세트 검증
- 15개 프라이머세트 선발

다) Chilli veinal mottle virus (ChiVMV) 후보 프라이머의 검증 및 선발

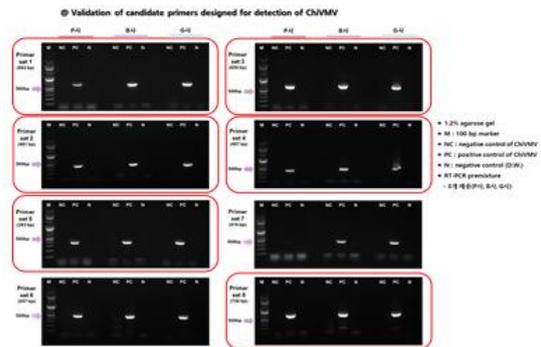
- ChiVMV 양성 및 음성 시료를 이용한 후보 프라이머 검증 : ChiVMV감염 시료를 이용하여 10개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 7개 (no. 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9) 프라이머세트 선발 되었음
- ChiVMV 근연종 바이러스를 이용한 후보 프라이머 검증 : 4종 근연 바이러스를 이용하여 7개 프라이머세트 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 3개 (no. 1, 5, 9) 프라이머세트 선발되었음
- ChiVMV 검사대상 시료를 이용한 후보 프라이머 검증 : 2종 검사대상 식물을 이용하여 3개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 2개 (no. 1, 5) 프라이머세트 선발 되었음
- ChiVMV 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머 검증 : 최종 선발된 모든 프라이머 세트는 핵산(total RNA) 농도 10⁻² ng 이하에서도 타겟 밴드를 확인할 수 있는 정도의 높은 감도를 보임

○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

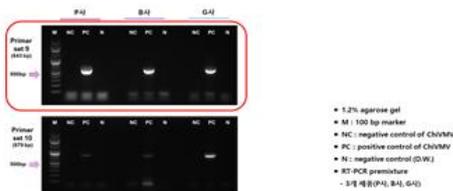
- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

- 1단계 검증



- 1단계 검증(continued)

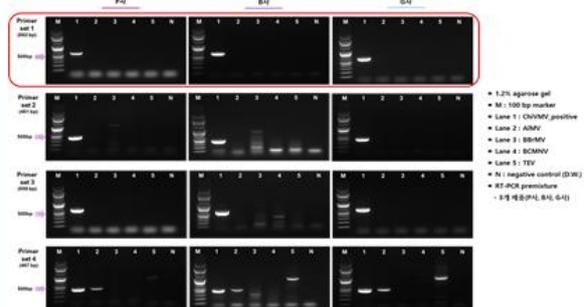
Validation of candidate primers designed for detection of ChiVMV (continued)



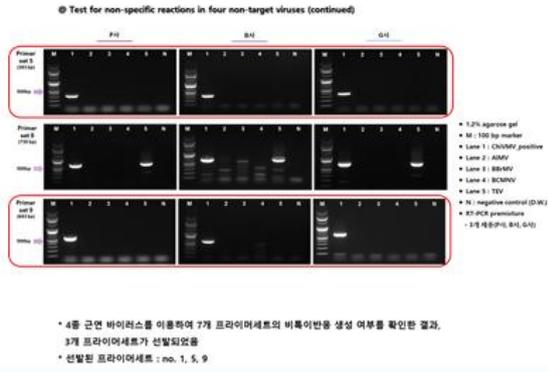
* ChiVMV 감염 시료를 이용하여 10개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 7개 프라이머세트가 선발되었음
* 선발된 프라이머세트 : no. 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9

- 2단계 검증

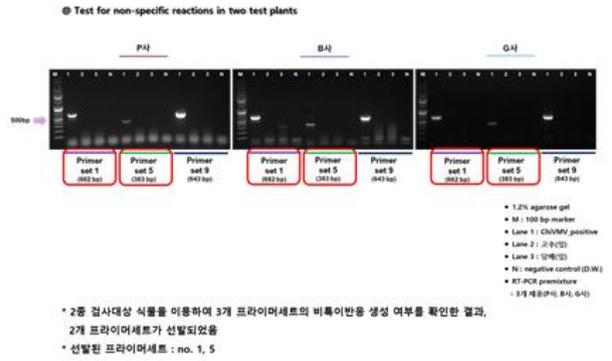
Test for non-specific reactions in four non-target viruses



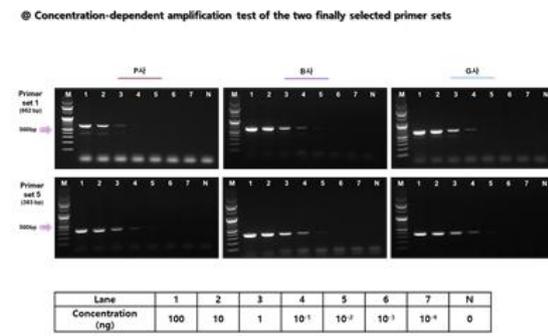
- 2단계 검증(continued)



- 3단계 검증



- 4단계 검증



- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

Chilli vein mottle virus (ChVMV)

1st screening test				2nd screening test				3rd screening test				4th screening test			
Primer set	PVI	HSA	GAI	Primer set	PVI	HSA	GAI	Primer set	PVI	HSA	GAI	Primer set	PVI	HSA	GAI
#1	○	○	○	#1	○	○	○	#1	○	○	○	#1	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹
#2	○	○	○	#2	X	X	X	#5	○	○	○	#5	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹
#3	○	○	○	#3	○	X	○	#9	○	X	○	#9	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹
#4	○	○	○	#4	X	X	X								
#5	○	○	○	#5	○	○	○								
#6	○	X	○	#6	X	X	X								
#7	X	○	○	#7	○	○	○								
#8	○	○	○	#8	○	○	○								
#10	X	X	○	#10	X	X	○								

- 2종 검사대상 식물 이용
 - 3개 프라이머세트 검증
 - 2개 프라이머세트 선발
 - 4종 근연바이러스 이용
 - 7개 프라이머세트 검증
 - 3개 프라이머세트 선발
 - ChVMV 감염 시료 이용
 - 10개 프라이머세트 검증
 - 7개 프라이머세트 선발
 - 10⁻⁷ 이하의 핵산 (total RNA) 농도에서도 진단됨

라) Tobacco etch virus (TEV) 후보 프라이머의 검증 및 선발

- TEV 양성 및 음성 시료를 이용한 후보 프라이머 검증 : TEV감염 시료를 이용하여 15개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 9개 (no. 1, 2, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 14) 프라이머세트가 선발되었음
- TEV 근연종 바이러스를 이용한 후보 프라이머 검증 : 4종 근연 바이러스를 이용하여 9개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 5개 (no. 1, 4, 5, 6, 7) 프라이머세트가 선발되었음
- TEV 검사대상 시료를 이용한 후보 프라이머 검증 : 6종 검사대상 식물을 이용하여 5개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 2개 (no. 1, 7) 프라이머세트가 선발되었음
- TEV 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머 검증 : 최종 선발된 모든 프라이머 세트는 핵산(total RNA) 농도 10⁻¹ ng 이하에서도 타겟 밴드를 확인할 수 있는 정도의 높은 감도를 보임

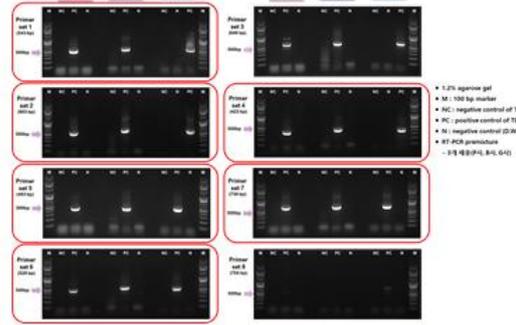
○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

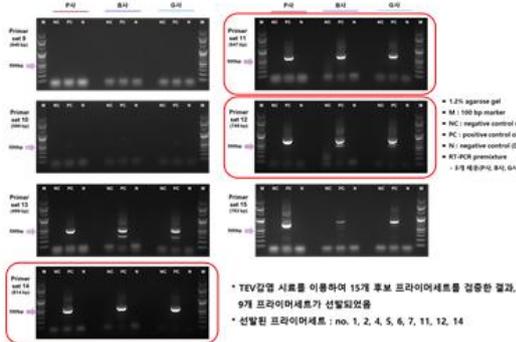
- 1단계 검증

◎ Validation of candidate primers designed for detection of TEV



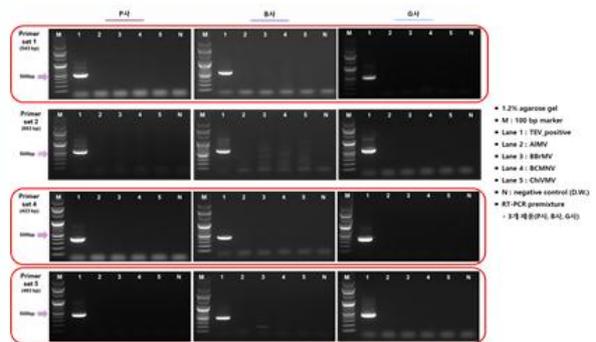
- 1단계 검증(continued)

◎ Validation of candidate primers designed for detection of TEV (continued)



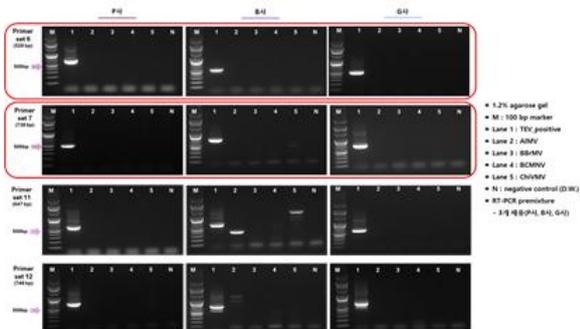
- 2단계 검증

◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses



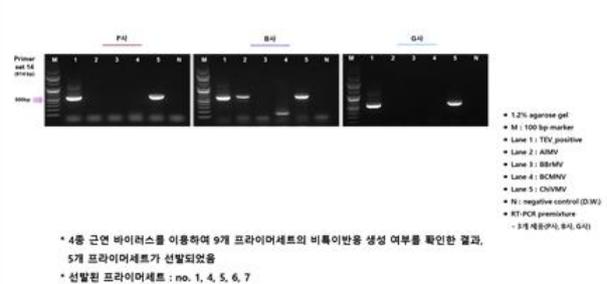
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses (continued)



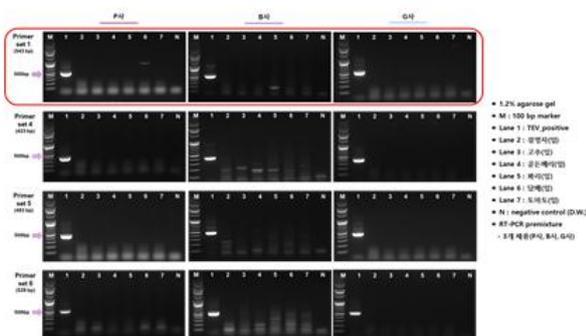
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses (continued)



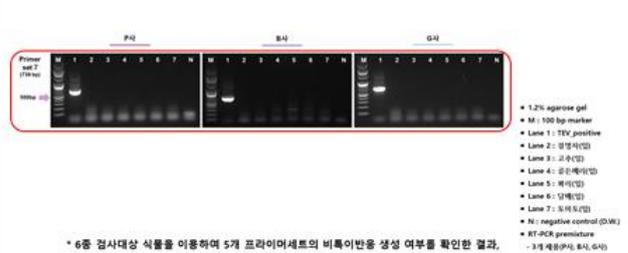
- 3단계 검증

◎ Test for non-specific reactions in six test plants



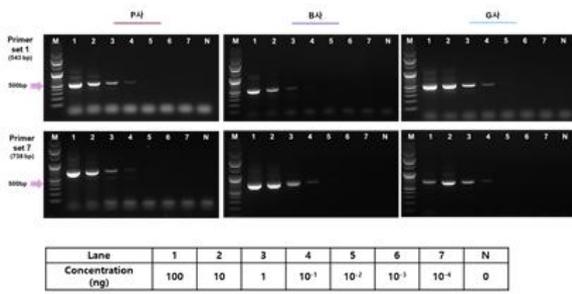
- 3단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in six test plants (continued)



- 4단계 검증

◎ Concentration-dependent amplification test of the two finally selected primer sets



- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

Tobacco etch virus (TEV)

1st screening test				2nd screening test				3rd screening test				4th screening test			
Primer set	PA	BA	GA	Primer set	PA	BA	GA	Primer set	PA	BA	GA	Primer set	PA	BA	GA
#1	○	○	○	#1	○	○	○	#4	○	○	○	#1	○	○	○
#2	○	○	○	#2	○	○	○	#5	○	○	○	#2	○	○	○
#3	○	○	○	#3	○	○	○	#6	○	○	○	#3	○	○	○
#4	○	○	○	#4	○	○	○	#7	○	○	○	#4	○	○	○
#5	○	○	○	#5	○	○	○	#8	○	○	○	#5	○	○	○
#6	○	○	○	#6	○	○	○	#9	○	○	○	#6	○	○	○
#7	○	○	○	#7	○	○	○	#10	○	○	○	#7	○	○	○
#8	○	○	○	#8	○	○	○	#11	○	○	○	#8	○	○	○
#9	○	○	○	#9	○	○	○	#12	○	○	○	#9	○	○	○
#10	○	○	○	#10	○	○	○	#13	○	○	○	#10	○	○	○
#11	○	○	○	#11	○	○	○	#14	○	○	○	#11	○	○	○
#12	○	○	○	#12	○	○	○	#15	○	○	○	#12	○	○	○
#13	○	○	○	#13	○	○	○					#13	○	○	○
#14	○	○	○	#14	○	○	○					#14	○	○	○
#15	○	○	○	#15	○	○	○					#15	○	○	○

- 10⁻⁵ 이하의 핵산 (total RNA) 농도에서도 진단됨
 - 6종 검사대상 식물 이용
 - 5개 프라이머세트 검증
 - 2개 프라이머세트 선발
 - 4종 근연바이러스 이용
 - 9개 프라이머세트 검증
 - 5개 프라이머세트 선발
 - TEV 감염 시료 이용
 - 15개 프라이머세트 검증
 - 9개 프라이머세트 선발

마) Potato aucuba mosaic virus (PAMV) 후보 프라이머의 검증 및 선발

- PAMV 양성 및 음성 시료를 이용한 후보 프라이머 검증 : PAMV감염 시료를 이용하여 15개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 12개 (no. 1, 2, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15) 프라이머세트가 선발되었음
- PAMV 근연종 바이러스를 이용한 후보 프라이머 검증 : 4종 근연 바이러스를 이용하여 12개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 7개(no. 1, 7, 10, 11, 12, 13, 15) 프라이머세트가 선발되었음
- PAMV 검사대상 시료를 이용한 후보 프라이머 검증 : 3종 검사대상 식물을 이용하여 7개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 3개 (no. 1, 10, 13) 프라이머세트가 선발되었음
- PAMV 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머 검증 : 최종 선발된 모든 프라이머 세트는 핵산(total RNA) 농도 10-3 ng 이하에서도 타겟 밴드를 확인할 수 있는 정도의 높은 감도를 보임

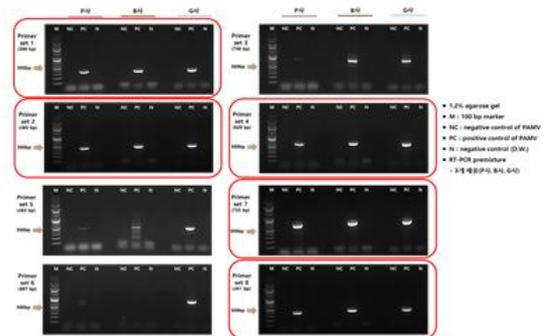
○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

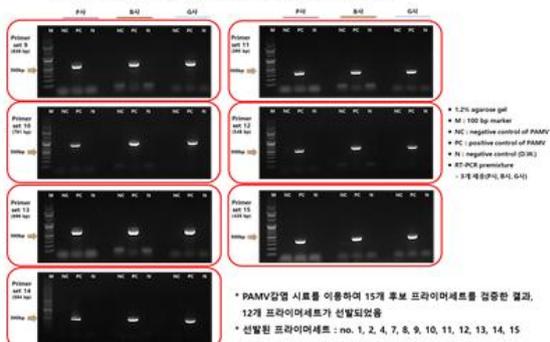
- 1단계 검증

◎ Validation of candidate primers designed for detection of PAMV



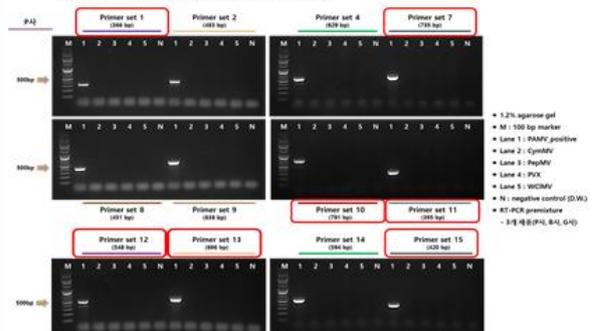
- 1단계 검증(continued)

◎ Validation of candidate primers designed for detection of PAMV (continued)

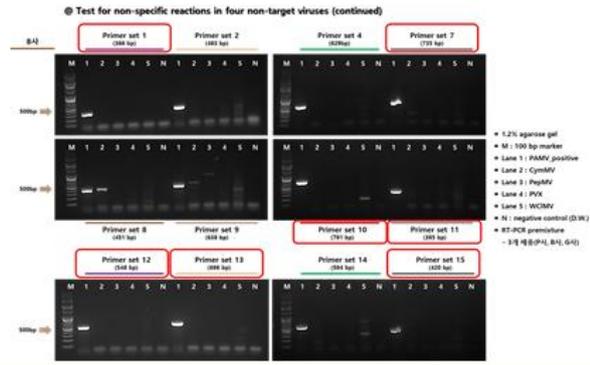


- 2단계 검증

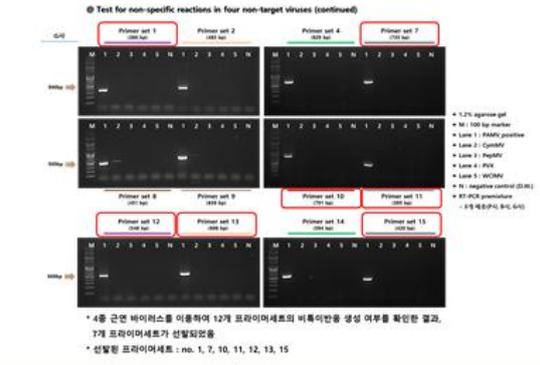
◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses



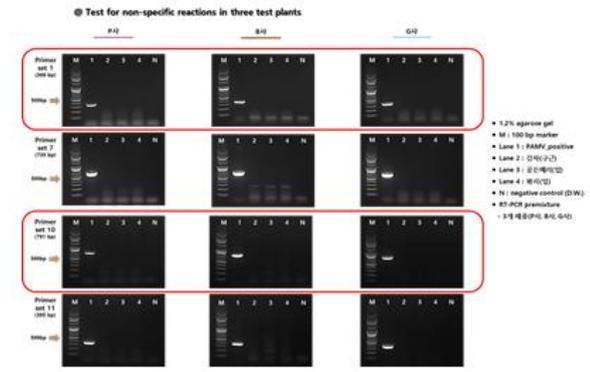
- 2단계 검증(continued)



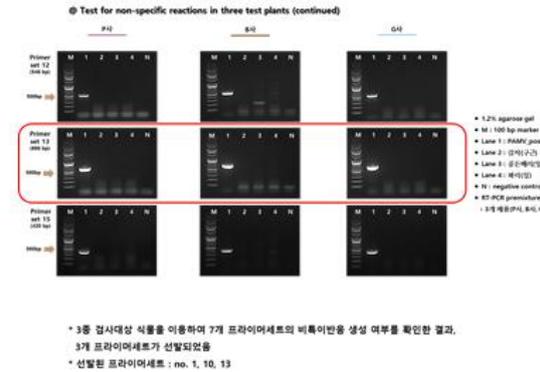
- 2단계 검증(continued)



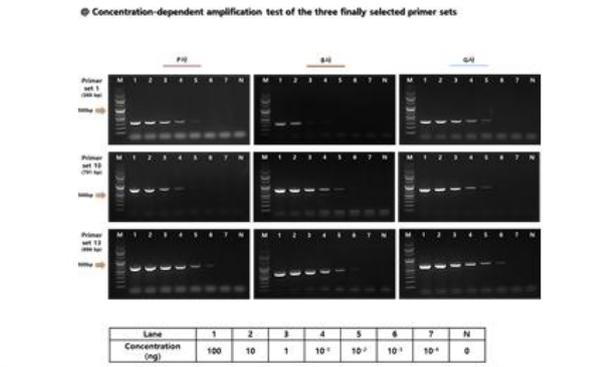
- 3단계 검증



- 3단계 검증(continued)



- 4단계 검증



- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

Potato aucuba mosaic virus (PAMV)

1st screening test	2nd screening test	3rd screening test	4th screening test								
Primer set	P/1	B/1	G/1	Primer set	P/1	B/1	G/1	Primer set	P/1	B/1	G/1
#1	O	O	O	#1	O	O	O	#1	10 ¹	10 ¹	10 ¹
#2	O	O	O	#2	O	X	O	#2	10 ¹	10 ¹	10 ¹
#3	X	O	O	#3	X	X	O	#3	10 ¹	10 ¹	10 ¹
#4	O	O	O	#4	O	O	O	#4	O	X	O
#5	X	X	O	#5	O	X	X	#5	O	X	O
#6	O	O	O	#6	O	O	O	#6	O	O	O
#7	O	O	O	#7	O	O	O	#7	O	O	O
#8	O	O	O	#8	O	O	O	#8	O	O	O
#9	O	O	O	#9	O	O	O	#9	O	O	O
#10	O	O	O	#10	O	O	O	#10	O	O	O
#11	O	O	O	#11	O	O	O	#11	O	X	O
#12	O	O	O	#12	O	O	O	#12	O	O	O
#13	O	O	O	#13	O	O	O	#13	O	O	O
#14	O	O	O	#14	O	X	O	#14	O	O	O
#15	O	O	O	#15	O	O	O	#15	O	O	O

- 3중 검사대상 식물 이용
- 7개 프라이머세트 검증
- 3개 프라이머세트 선발
- 4종 근연바이러스 이용
- 12개 프라이머세트 검증
- 7개 프라이머세트 선발
- PAMV 감염 시료 이용
- 15개 프라이머세트 검증
- 12개 프라이머세트 선발

* 10¹ 이하의 핵산 (total RNA) 농도에서도 진단됨

- 바) Rice yellow mottle virus (RYMV) 후보 프라이머의 검증 및 선발
- RYMV 양성 및 음성 시료를 이용한 후보 프라이머 검증 : RYMV감염 시료를 이용하여 12개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 10개 (no. 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) 프라이머세트가 선발되었음
 - RYMV 근연종 바이러스를 이용한 후보 프라이머 검증 : 4종 근연 바이러스를 이용하여 10개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 7개 (no. 1, 2, 3, 7, 8, 11, 12) 프라이머세트가 선발되었음
 - RYMV 검사대상 시료를 이용한 후보 프라이머 검증 : 1종 검사대상 식물을 이용하여 7개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 3개 (no. 2, 7, 8) 프라이머세트가 선발되었음

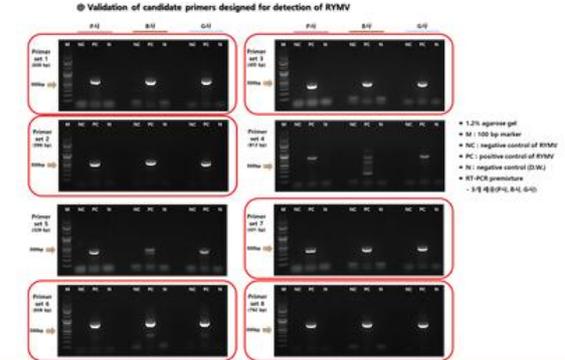
- RYMV 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머 검증 : 최종 선발된 모든 프라이머 세트는 핵산(total RNA) 농도 10^{-4} ng 이하에서도 타겟 밴드를 확인할 수 있는 정도의 높은 감도를 보임

○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

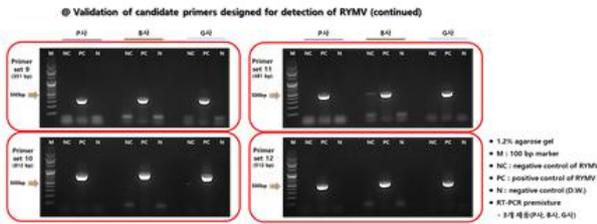
- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

- 1단계 검증

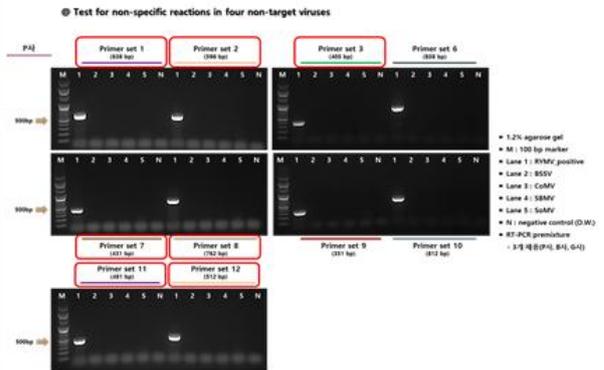


- 1단계 검증(continued)

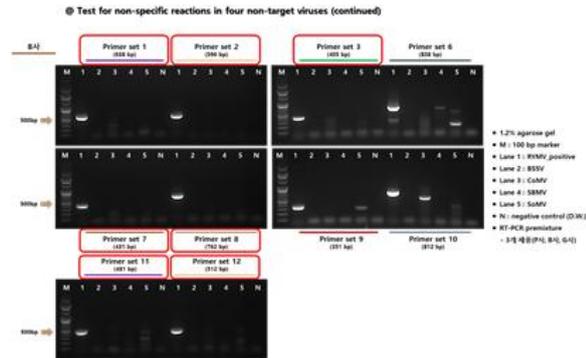


* RYMV 감염 시료를 이용하여 12개 후보 프라이머 세트를 검증한 결과, 10개 프라이머 세트가 선발되었음
* 선발된 프라이머 세트 : no. 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12

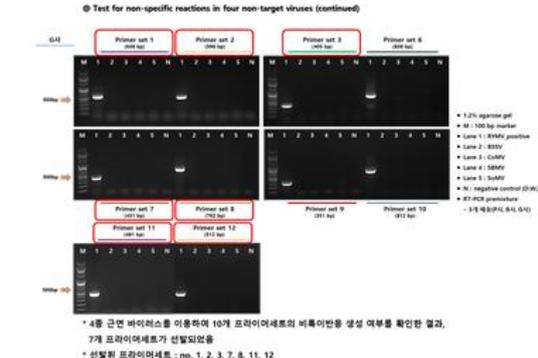
- 2단계 검증



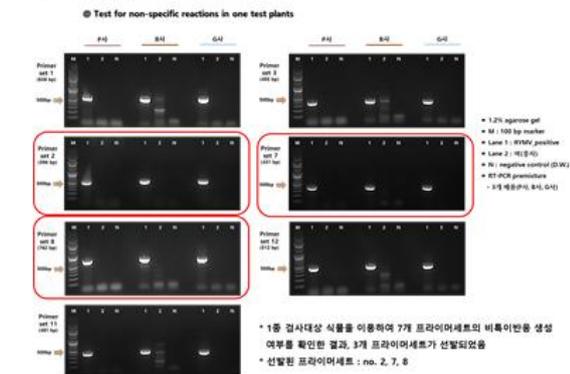
- 2단계 검증(continued)



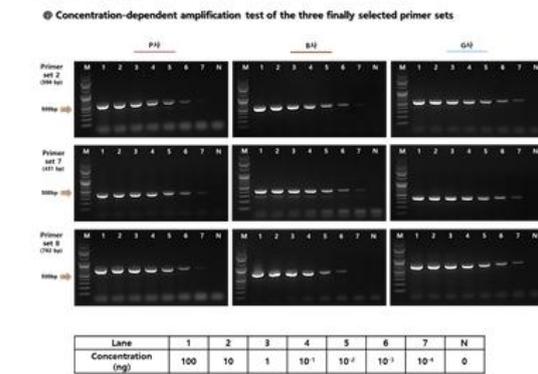
- 2단계 검증(continued)



- 3단계 검증



- 4단계 검증



- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

Rice yellow mottle virus (RYMV)

1st screening test				2nd screening test				3rd screening test				4th screening test			
Primer set	P10	P11	S11	Primer set	P10	P11	S11	Primer set	P10	P11	S11	Primer set	P10	P11	S11
#1	○	○	○	#1	○	○	○	#1	○	○	○	#1	10+	10+	10+
#2	○	○	○	#2	○	○	○	#2	○	○	○	#7	10+	10+	10+
#3	○	○	○	#3	○	○	○	#3	○	○	○	#8	10+	10+	10+
#4	X	X	X	#6	○	○	○	#7	○	○	○	- 10+ 이하의 핵산 (total RNA) 농도에서도 진단됨			
#5	X	X	X	#8	○	○	○	#8	○	○	○				
#6	○	○	○	#9	○	○	○	#11	○	○	○				
#7	○	○	○	#10	○	○	○	#12	○	○	○				
#8	○	○	○	#11	○	○	○	- 1종 검사대상 식물 이용 - 7개 프라이머세트 검증 - 3개 프라이머세트 선발							
#9	○	○	○	#12	○	○	○								
#10	○	○	○	- 4종 근연바이러스 이용 - 10개 프라이머세트 검증 - 7개 프라이머세트 선발											
#11	○	○	○												
#12	○	○	○												

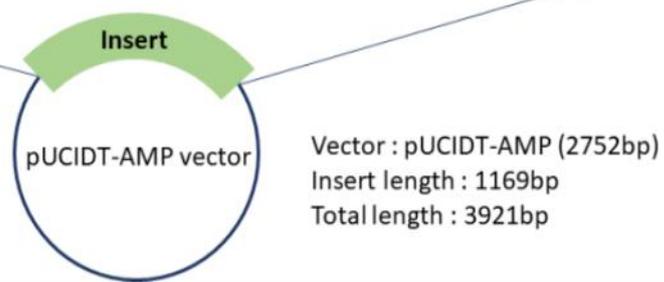
4) 6종 식물바이러스 PCR검사법에 활용 가능한 양성대조군 클론의 개발 및 검증

대상: '20년 연구 대상 6종 바이러스(Astroemeria mosaic virus, American plum line pattern virus, Chilli veinal mottle virus, Tobacco etch virus, Potato aucuba mosaic virus, Rice yellow mottle virus)에 대한 PCR 검사법용 프라이머 세트

연구방법: DNA 합성기술을 활용하여 최종 선발된 모든 프라이머 세트에 이용 가능한 클론 설계

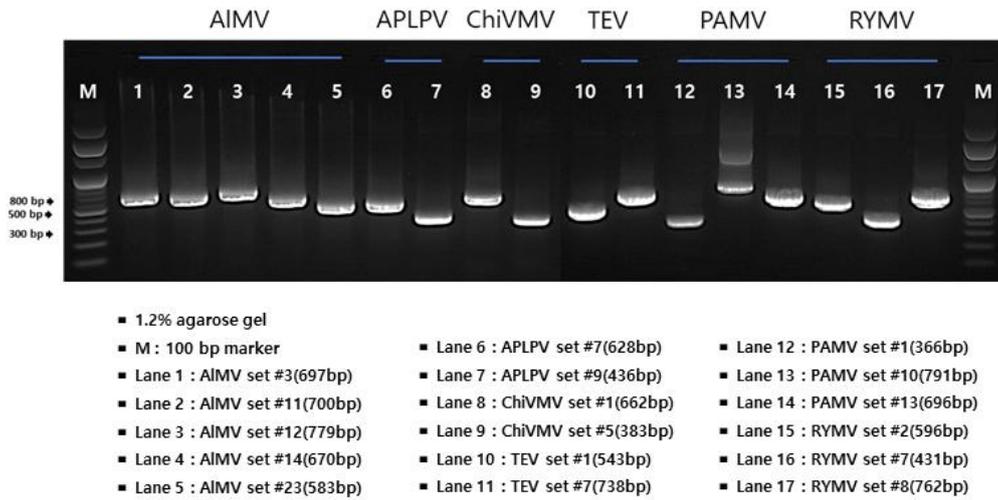
가) 6종 식물바이러스 PCR검사법에 활용 가능한 '묶음형 양성대조군 클론'의 설계

- 하나의 '묶음형 양성대조군 클론'으로 최종 선발된 17개 프라이머세트에 활용이 가능하도록 설계됨



나) 6종 식물바이러스 PCR검사법에 활용 가능한 '묶음형 양성대조군 클론'의 검증

- 하나의 '묶음형 양성대조군 클론'으로 최종 선발된 17개 프라이머세트에 활용이 가능한지에 대한 검증 결과, 모든 프라이머 세트에 대해서 잘 작동되었음
- PCR 검증 결과, '묶음형 양성대조군 클론'이 양성대조구로서 활용될 수 있음을 확인함



<2차년도 연구내용>

1) PCR 검사법 개발을 위한 후보프라이머의 설계 및 검사품목 조사

대상: '21년 연구 대상 5종 바이러스(Carnation etched ring virus, Eggplant mottled dwarf virus, Maize chlorotic mottle virus, Lettuce big-vein associated virus, Potato yellow dwarf virus)

연구방법

- 활용가능한 모든 시퀀스의 수집(NCBI GenBank)
- 유전자분석용 소프트웨어(CLC Main Workbench)를 이용한 in silico 분석
 - 수집한 각각의 바이러스 시퀀스의 alignment
 - Conserved region의 확인 및 후보 프라이머의 설계
- 후보 프라이머 시퀀스의 NCBI BLASTn 분석
 - 검색 조건: (Database) Standard databases, (Optimize for) Somewhat similar sequences

가) Carnation etched ring virus (CERV) 종 특이적인 프라이머의 설계

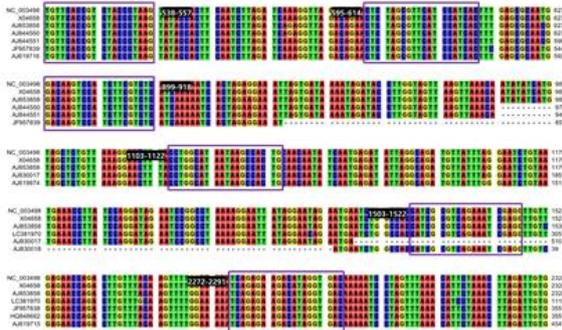
- 현재 NCBI GenBank에서 활용가능한 24개의 CERV 시퀀스(2021년 1월 기준)를 이용하여 in silico 분석을 통한 후보 프라이머를 설계함
- 또한, NCBI blastn분석을 통해서 PCR검사법 후보 프라이머 시퀀스가 근연종 바이러스 및 기주식물 유래 시퀀스와의 matching 안정성 정도를 파악하였음

○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계
- 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
- 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(conserved region) 탐색
- Blastn 분석을 통한 프라이머의 타겟 바이러스 특이도 확인
- *In vitro* 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

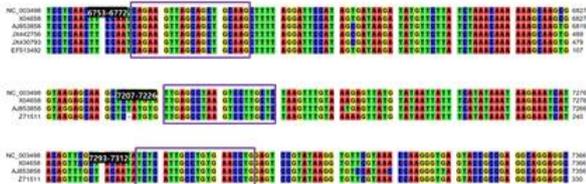
- 후보 프라이머의 설계

◎ Candidate primers designed in conserved regions



- 후보 프라이머의 설계(continued)

◎ Candidate primers designed in conserved regions (continued)



- 후보 프라이머 세트의 조합

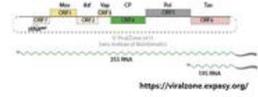
◎ Combinations of candidate diagnostic primers for the detection of CERVV infections

Set	Sequences(5'→3')	Location*	No.	bp.
1	F TGT TCA CCG TCT ACC CTA AG	538-557	1F	381
	R GAG ACG AAG ATG GAC TTG TC	918-899	3R	
2	F TGT TCA CCG TCT ACC CTA AG	538-557	1F	585
	R CAG TGG CTT ATT ATG CGA GG	1122-1093	4R	
3	F CTC TAG COT TCA TOC ATC AC	585-614	2F	324
	R GAG ACG AAG ATG GAC TTG TC	918-899	3R	
4	F CTC TAG COT TCA TOC ATC AC	585-614	2F	538
	R CAG TGG CTT ATT ATG CGA GG	1122-1093	4R	
5	F CAT CCG GTC AGA AAT CGA GG	1150-1122	5F	624
	R CCT CGA TTT CTG ACG CGA TG	1322-1303	5R	
6	F CCT GGC ATA ATA AGC CAC TG	1150-1122	6F	420
	R CCT CGA TTT CTG ACG CGA TG	1322-1303	5R	
7	F GTC ACC TAT GTC TTC TCT GA	2291-2272	6R	789
	R TCA GAG AAG ACA TAG GTG AC	2272-2291	6F	
8	F CTG CAC TAG CTT CTT OCT CA	2811-2792	7R	540
	R TGA GGA AGA AGC TAG TGC AG	2792-2811	7F	
9	F CAG ACC TTT GTC TTT TAG GAC	3189-3169	8R	398
	R GTC CTA ACA GAC AAA COT CTG	3169-3189	8F	
10	F CTA GCA TTT CTT CAA TGG CTG	3947-3927	9R	779
	R GTC CTA ACA GAC AAA COT CTG	3169-3189	8F	
11	F GTC CTA ACA GAC AAA COT CTG	3169-3189	8F	841
	R GGT TGC TGT CAT CGA TTG CT	6009-5990	10R	
12	F CAG AAG TTA GCA GCT GCA AG	6753-6772	11F	474
	R GAG CAA GGA CTT AAG CTC AA	7236-7207	12R	
13	F CAG AAG TTA GCA GCT GCA AG	6753-6772	11F	560
	R CAG GTC CAC AGG CAA TGA GA	7312-7293	13R	

* Positions of primers are based on the reference genome sequence (GenBank acc. no. NC_065496)

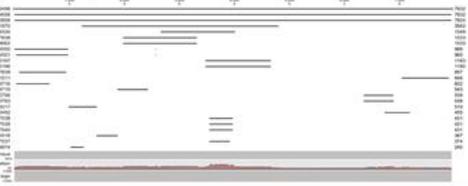
- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석

Carnation etched ring virus
genus *Caulimovirus*
family *Caulimoviridae*



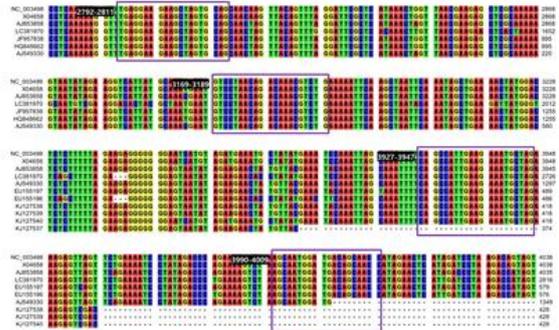
* GenBank에 등록된 CERVV 시퀀스 수 (2021.1.4. 기준)
: 24개

◎ Alignment of available sequences



- 후보 프라이머의 설계(continued)

◎ Candidate primers designed in conserved regions (continued)



- 후보 프라이머 시퀀스의 blastn 분석

◎ Results of the NCBI BLASTn searches (primers for the diagnostics of CERV)

No.	Query sequences (primers for the diagnostics of CERV)	Results of the NCBI BLASTn searches				비고
		Subject descriptions	The number of subjects	Identity (%)	Coverage (%)	
1	TGT TCA CCG TCT ACC CTA AG	CERVV	8	100	100	
2	CTCTAG-GGTTTCATGCA-TCAC	CERVV	8	100	100	
3	GA GAAGTGCATC TTGGTCTC	CERVV	8	100	100	
4	CCTGGCAT AATAAGCCAC TG	CERVV	4	100	100	
5	CATCG-GGTCAGAAATGGAGG	CERVV	4	100	100	
6	TCAGAGA-GACATAGGTGAC	CERVV	8	100	100	
7	TGAGGAA-GAAGCTAGTGCAG	CERVV	8	100	100	
8	GTCTCAAGAGCAAAAGCTCTG	CERVV	5	100	100	
9	CA GGCATTGAAG AAATGCTAG	CERVV	9	100	100	
10	AGCAATGGA TGACAGCAAC	CERVV	8	100	100	
11	GAGAA GTTAGGAGCT GCAGG	CERVV	5	100	100	
12	TTGAGGCTAAGTCTTCTCTC	CERVV	3	100	100	
13	TCTCA TTGGCTGTG AAAGCTG	CERVV	3	100	100	

- 설계된 후보 프라이머의 조합(PCR산물의 크기는 약 300-800 bp 범위가 될 수 있도록 조합) 후 이를 검증하기 위해서는 균주(타겟 바이러스 및 근연종)에 대한 특이성 테스트 및

검사품목에 대한 비특이적 산물 생성 여부 확인이 필요함

- 따라서, 해당 바이러스 검사법에 적용될 균주 및 검사품목(종자 및 식물체; 식물체의 경우 종자로 확보될 경우 온실에서 재배) 시료 확보
 - 타겟 균주: Carnation etched ring virus
 - 비교 균주: Cauliflower mosaic virus, Banana streak OL virus, Dahlia mosaic virus
 - 품목(식물체): 카네이션 (*Dianthus caryophyllus*)

나) Eggplant mottled dwarf virus (EMDV) 중 특이적인 프라이머의 설계

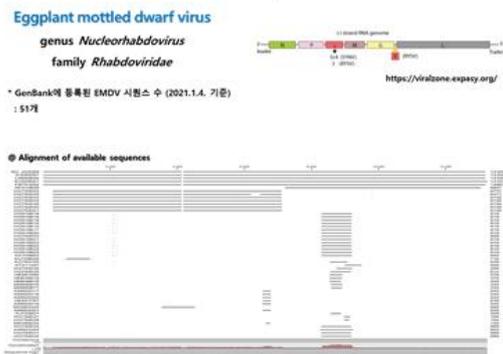
- 현재 NCBI GenBank에서 활용가능한 51개의 EMDV 시퀀스(2021년 1월 기준)를 이용하여 in silico 분석을 통한 후보 프라이머를 설계함
- 또한, NCBI blastn분석을 통해서 PCR검사법 후보 프라이머 시퀀스가 근연종 바이러스 및 기주식물 유래 시퀀스와의 matching 안정성 정도를 파악하였음

○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계

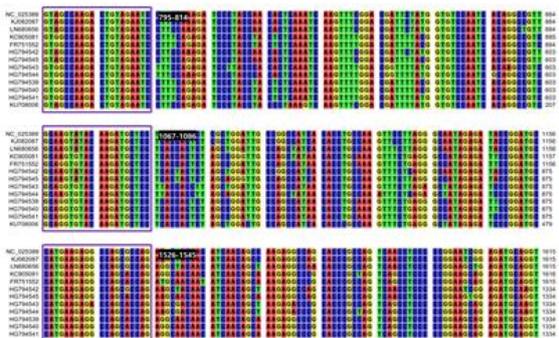
- 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
- 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(conserved region) 탐색
- Blastn 분석을 통한 프라이머의 타겟 바이러스 특이도 확인
- In vitro 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석



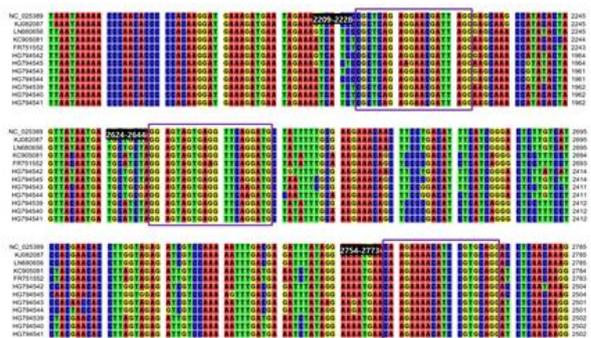
- 후보 프라이머의 설계

© Candidate primers designed in conserved regions



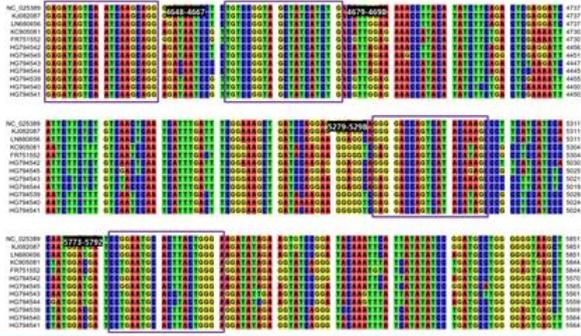
- 후보 프라이머의 설계(continued)

© Candidate primers designed in conserved regions (continued)



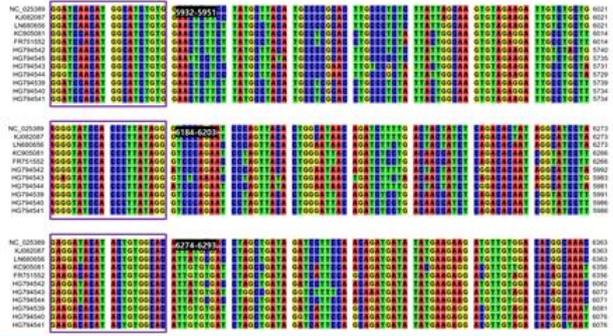
- 후보 프라이머의 설계(continued)

© Candidate primers designed in conserved regions (continued)



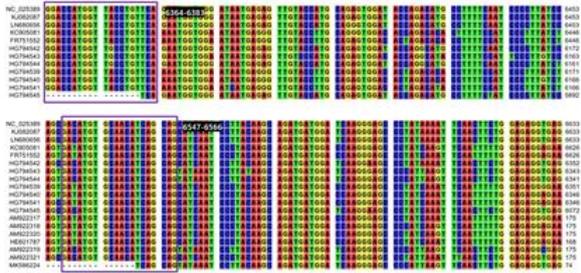
- 후보 프라이머의 설계(continued)

© Candidate primers designed in conserved regions (continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)

© Candidate primers designed in conserved regions (continued)



- 후보 프라이머 시퀀스의 blastn 분석

© Results of the NCBI BLASTn searches (primers for the diagnostics of EMDV)

No.	Query sequences (Primers for the diagnostics of EMDV)	Results of the NCBI BLASTn searches			비고
		Subject descriptions	The number of subjects	Identity (%) Coverage (%)	
1	GT AG GC GAAGACTGTA GAATC	EMDV	12	95 100	
2	GGAG GT AG TACAAGATGCTCC	EMDV	12	90 100	
3	CATG AAGAG GA CCGAG C GA CCGAG	EMDV	11	90 100	
4	C CCTCAGA GA ACGATTAGG	EMDV	11	95 100	
5	GGAGTA GTGA GA GTTCA GA GATG	EMDV	11	90-98	
6	CAAGA AACATCGGTG CAGG	EMDV	11	100 100	
7	GAGATAGT CAATCAAGCA GG	EMDV	11	100 100	
8	TGTTGGG TASCATCAT CTTG	EMDV	11	100 100	
9	G GA GAG CAGTACATCA ATTGAGC	EMDV	11	84-88	90
		Uncultured virus	1	84-88	90
10	GC GT GAATGAC TCT ACTGGGA	EMDV	11	90 100	
11	GGAG T C AC ACATGGCA TCTGTG	EMDV	11	90 100	
12	AG GA GTATGAC C CTTTAGG	EMDV	10	95 100	
13	GA GA GA T C ACATCTGTGGCAC	EMDV	10	90 100	
14	GG ACCATGTTAG CCTTTTCA	EMDV	10	95 100	
		PhEMDV	17	95 100	
15	GA GT ATGTCC AACATGAGCA G	PhEMDV	4	95 100	PhEMDV (이름 없음)

- 후보 프라이머 세트의 조합

© Combinations of candidate diagnostic primers for the detection of EMDV infections

Set	Direction	Sequence (5' → 3')	Location*	No.	bp
1	F	GTR GCC AAG ACT GTA GAA TC	795-814	1P	751
	R	CTG GTG CTG CTT CCA TCG	1445-1526	3R	751
2	F	GCA AAT ATA CAA GAT GCT CC	1367-1386	2P	679
	R	CTG GTG CTG CTT CCA TCG	1445-1526	3R	679
3	F	CAT GAA GAG CAC AAC CAC AG	1130-1149	5P	703
	R	CCT AAT CTT TCT TCG CCG	2228-2209	4R	703
4	F	CGC TCA GAG GAA GTA TTA GG	2229-2229	4P	636
	R	CCT CTA GAG GAA GTA TTA GG	2229-2229	4R	636
5	F	CGC TCA GAG GAA GTA TTA GG	2229-2229	4P	565
	R	CCT CTA GAG GAA GTA TTA GG	2229-2229	4R	565
6	F	GAG ATAGT AAT CAA CAG AG	4648-4647	7P	661
	R	GCT ATG TAT GAC TGG TCG TC	5238-5279	9R	661
7	F	TGT CCG GAG C T AC C ATC TG	4679-4698	8P	620
	R	GCT ATG TAT GAC TGG TCG TC	5238-5279	9R	620
8	F	SBG GAC CAG TCA TAC ADA GC	5279-5298	9P	514
	R	TTC GAG TAC GTC GAT TCG GG	5279-5279	9R	514
9	F	SBG GAC CAG TCA TAC ADA GC	5279-5298	9P	679
	R	CAC AAA TGC CAT GTR GAT CC	5892-5932	11R	679
10	F	CCT ATA AGG CTG GAT ACY CT	6202-6184	12P	621
	R	CTG CTA GAT GTR TCG TC	5279-5279	9R	621
11	F	CTC GAA TGC ACY TAC TGG GA	5279-5292	10P	521
	R	CTG CTA GAT GTR TCG TC	5279-5279	9R	521
12	F	CTC GAA TGC ACY TAC TGG GA	5279-5292	10P	611
	R	TGA ACA GGT AAC CAT GGT CC	6282-6264	14R	611
13	F	CTC GAA TGC ACY TAC TGG GA	5279-5292	10P	794
	R	CTG CTA GAT GTR TCG TC	5279-5279	9R	794
14	F	GGG TCG ACA TGG CAT CTG TG	5892-5951	11P	602
	R	TGA ACA GGT AAC CAT GGT CC	6282-6264	14R	602
15	F	GGG TCG ACA TGG CAT CTG TG	5892-5951	11P	636
	R	CTG CTA GAT GTR TCG TC	5279-5279	9R	636
16	F	AAG ATA TGC AAC CTA TTA GG	6188-6202	13P	393
	R	CTG CTA GAT GTR TCG TC	5279-5279	9R	393

* Positions of primers are based on the reference genome sequence (GenBank, acc. no. NC_023389)

- 설계된 후보 프라이머의 조합(PCR산물의 크기는 약 300-800 bp 범위가 될 수 있도록 조합) 후 이를 검증하기 위해서는 균주(타겟 바이러스 및 근연종)에 대한 특이성 테스트 및 검사품목에 대한 비특이적 산물 생성 여부 확인이 필요함

- 따라서, 해당 바이러스 검사법에 적용될 균주 및 검사품목(종자 및 식물체; 식물체의 경우 종자로 확보될 경우 온실에서 재배) 시료 확보

- 타겟 균주: Eggplant mottled dwarf virus
- 비교 균주: Maize mosaic nucleorhabdovirus, Lettuce big-vein associated varicosavirus, Potato yellow dwarf nucleorhabdovirus, Sonchus yellow net virus
- 품목(식물체): 가지 (Solanum melongena), 고추 (파프리카 포함; Capsicum annuum), 담배 (Nicotiana tabaccum), 오이 (Cucumis sativus), 토마토 (Solanum lycopersicum)

다) Maize chlorotic mottle virus (MCMV) 중 특이적인 프라이머의 설계

- 현재 NCBI GenBank에서 활용가능한 185개의 MCMV 시퀀스(2021년 1월 기준)를 이용하여 in silico 분석을 통한 후보 프라이머를 설계함
- 또한, NCBI blastn분석을 통해서 PCR검사법 후보 프라이머 시퀀스가 근연종 바이러스 및 기주식물 유래 시퀀스와의 matching 안정성 정도를 파악하였음

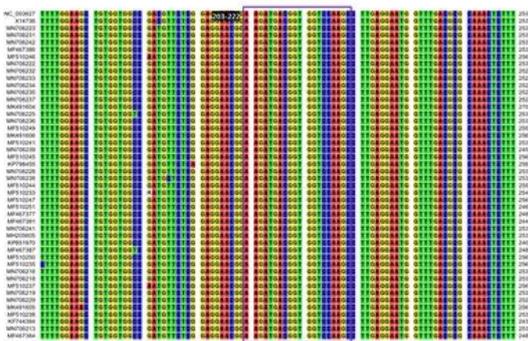
○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계

- 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
- 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(conserved region) 탐색
- Blastn 분석을 통한 프라이머의 타겟 바이러스 특이도 확인
- In vitro 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

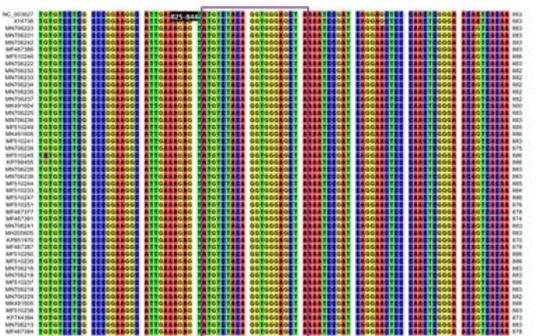
- 후보 프라이머의 설계

◎ Candidate primers designed in conserved regions



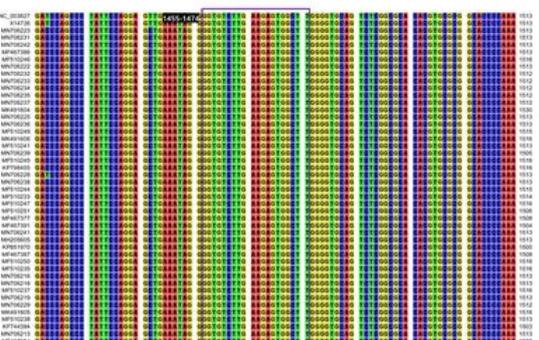
- 후보 프라이머의 설계(continued)

◎ Candidate primers designed in conserved regions (continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)

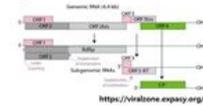
◎ Candidate primers designed in conserved regions (continued)



- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석

Maize chlorotic mottle virus
genus *Machlomovirus*
family *Tombusviridae*

* GenBank에 등록된 MCMV 시퀀스 수 (2021.1.28. 기준)
: 185개

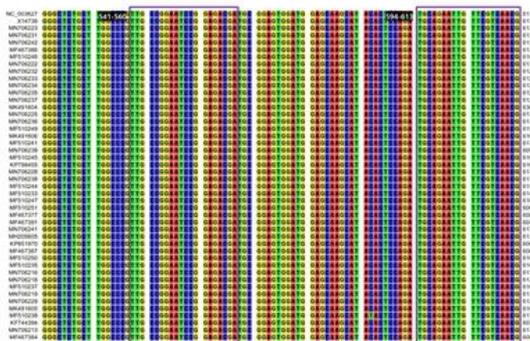


◎ Alignment of available sequences



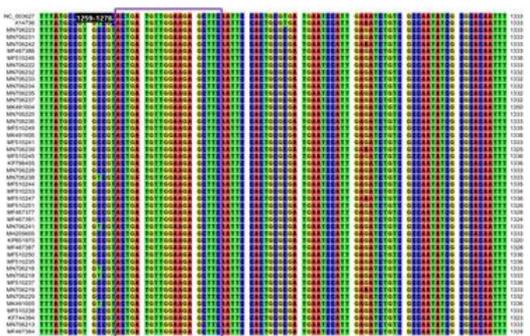
- 후보 프라이머의 설계(continued)

◎ Candidate primers designed in conserved regions (continued)



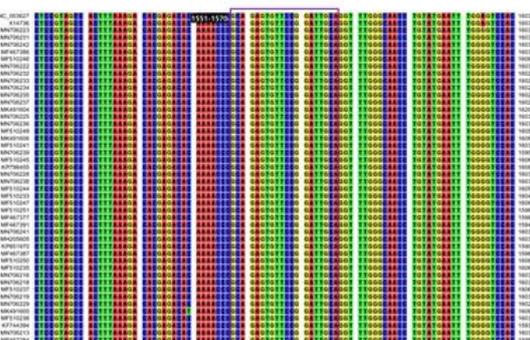
- 후보 프라이머의 설계(continued)

◎ Candidate primers designed in conserved regions (continued)

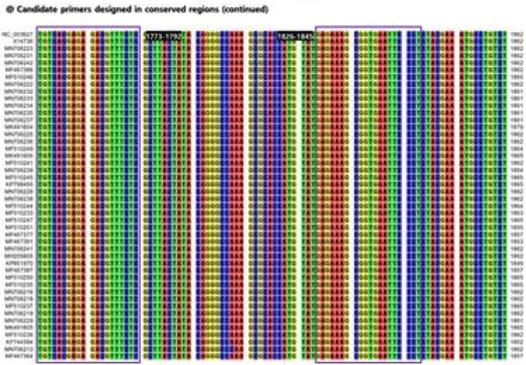


- 후보 프라이머의 설계(continued)

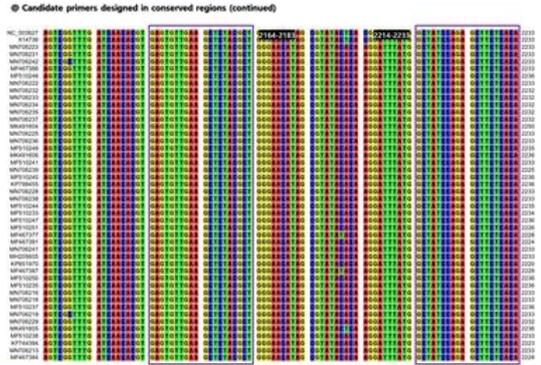
◎ Candidate primers designed in conserved regions (continued)



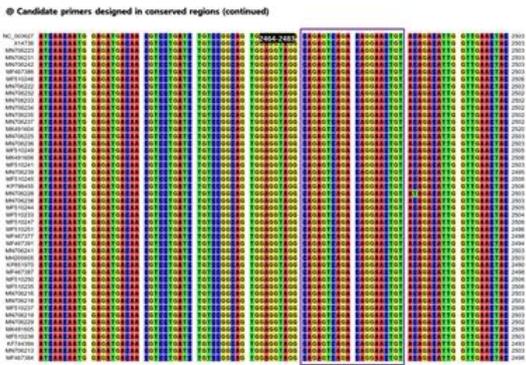
- 후보 프라이머의 설계(continued)



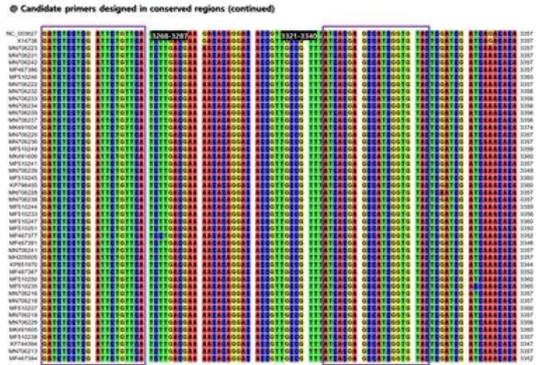
- 후보 프라이머의 설계(continued)



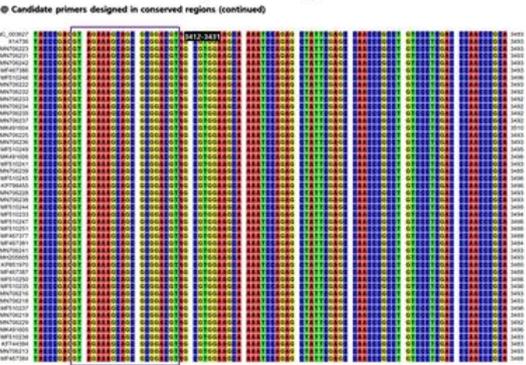
- 후보 프라이머의 설계(continued)



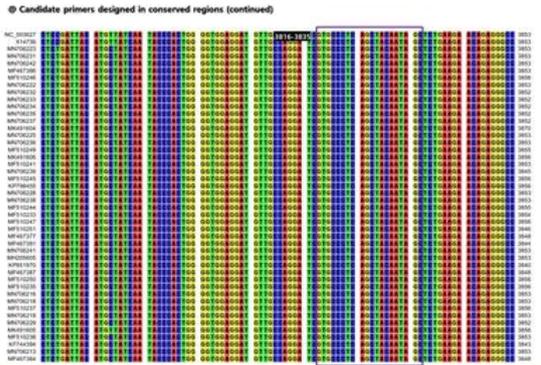
- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머 시퀀스의 blastn 분석

Results of the NCBI BLASTn searches (primers for the diagnostics of MCMV)

No.	Query sequences (Primers for the diagnostics of MCMV)	Subject descriptions	Results of the NCBI BLASTn searches			비고
			The number of subjects	Identity (%)	Coverage (%)	
1	A AGATGACGGTGTGTGTCACG	MCMV	100	100	100	
2	TTC GCGAATGTCGGAGACGA	MCMV	101	100	100	
3	TGCAGATTTGTGTGTCACG	MCMV	101	100	100	
4	ATGTCTACAAGTGGGAGTA	MCMV	101	100	100	
5	ACTGA TGTGGAGAA GCTTC	MCMV	100	100	100	
6	GGTGTCTTAAAGTGGCTT	MCMV	101	100	100	
7	GCA GAGTGTTCGAGTTCGA	MCMV	101	100	100	
8	TGTCAAGAGACGTTGCTC	MCMV	100	100	100	
9	GAGAAAGCGGTGATTCCT	MCMV	101	100	100	
10	GAGTGTGAAGCTGTACGCT	MCMV	101	100	100	
11	GCTATCCAGAGCTTTCACA	MCMV	101	100	100	
12	CAGAGTCACA CAGAACTGT	MCMV	100	100	100	
13	GATCTC CTCGATCTGT TTGA	MCMV	100	100	100	
14	ATC AGAGGACTC GGGTGAC	MCMV	101	100	100	
15	GT AGAAGCAGC GCGAGGTT	MCMV	106	100	100	
16	GTCGCGTCAGCTACATAGC	MCMV	100	100	100	

- 후보 프라이머 세트의 조합

Combinations of candidate diagnostic primers for the detection of MCMV infections

Primer	Primer	GenBank acc. no.	%	%
1	2	AF147313	100	100
1	3	AF147313	100	100
1	4	AF147313	100	100
1	5	AF147313	100	100
1	6	AF147313	100	100
1	7	AF147313	100	100
1	8	AF147313	100	100
1	9	AF147313	100	100
1	10	AF147313	100	100
1	11	AF147313	100	100
1	12	AF147313	100	100
1	13	AF147313	100	100
1	14	AF147313	100	100
1	15	AF147313	100	100
1	16	AF147313	100	100

* Positions of primers are based on the reference genome sequence (GenBank acc. no. NC_003042)

- 설계된 후보 프라이머의 조합(PCR산물의 크기는 약 300-800 bp 범위가 될 수 있도록 조합) 후 이를 검증하기 위해서는 균주(타겟 바이러스 및 근연종)에 대한 특이성 테스트 및 검사품목에 대한 비특이적 산물 생성 여부 확인이 필요함
- 따라서, 해당 바이러스 검사법에 적용될 균주 및 검사품목(종자 및 식물체; 식물체의 경우 종자로 확보될 경우 온실에서 재배) 시료 확보
 - 타겟 균주: Maize chlorotic mottle virus
 - 비교 균주: Cymbidium ringspot virus, Carnation Italian ringspot virus, Carnation mottle virus, Cucumber necrosis virus, Grapevine Algerian latent virus, Pelargonium flower break virus, Pelargonium necrotic spot virus, Tomato bushy stunt virus
 - 품목(식물체): 기장 (Proso millet), 밀 (Triticum aestivum L.), 보리 (Hordeum vulgare L.), 사탕수수 (Saccharum officinarum), 수수 (Sorghum bicolor), 옥수수 (Zea mays), 조 (Setaria italica)

라) Lettuce big-vein associated virus (LBVaV) 종 특이적인 프라이머의 설계

- 현재 NCBI GenBank에서 활용가능한 134개의 LBVaV 시퀀스(2021년 1월 기준)를 이용하여 in silico 분석을 통한 후보 프라이머를 설계함
- 또한, NCBI blastn 분석을 통해서 PCR검사법 후보 프라이머 시퀀스가 근연종 바이러스 및 기주식물 유래 시퀀스와의 matching 안정성 정도를 파악하였음

○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계

- 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
- 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(**conserved region**) 탐색
- Blastn 분석을 통한 프라이머의 타겟 바이러스 특이도 확인
- In vitro 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

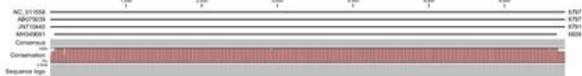
- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석



* GenBank에 등록된 LBVaV 시퀀스 수 (2021.1.28. 기준)

: 134개(RNA1: 3개, RNA2: 131개, alignment에 문제가 있는 15개는 제외하고 프라이머 설계 함)

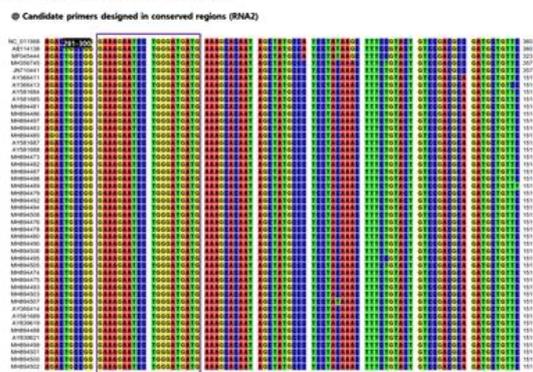
◎ Alignment of available sequences (RNA1)



- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석(continued)

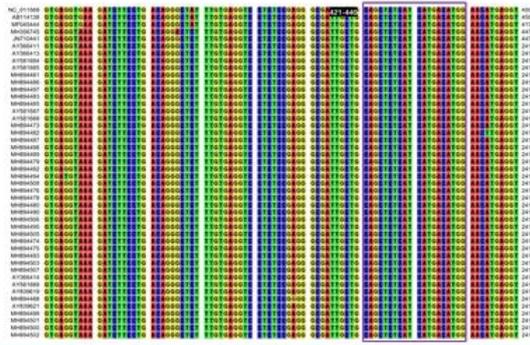


- 후보 프라이머의 설계



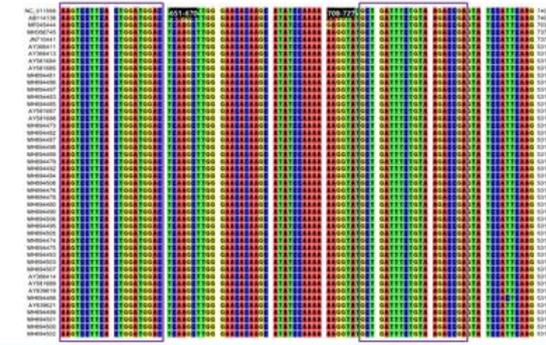
- 후보 프라이머의 설계(continued)

© Candidate primers designed in conserved regions (RNA2; continued)



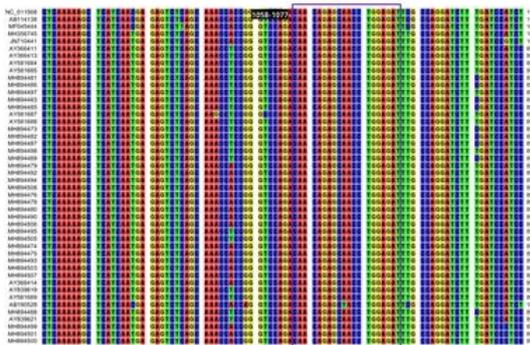
- 후보 프라이머의 설계(continued)

© Candidate primers designed in conserved regions (RNA2; continued)



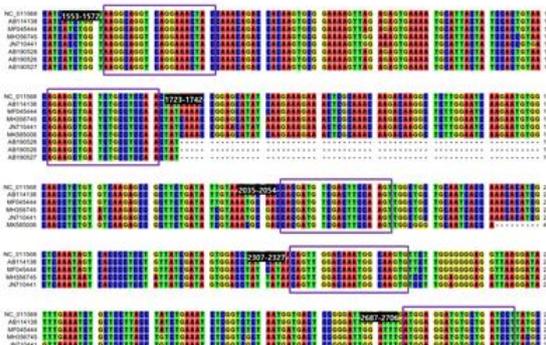
- 후보 프라이머의 설계(continued)

© Candidate primers designed in conserved regions (RNA2; continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)

© Candidate primers designed in conserved regions (RNA2; continued)



- 후보 프라이머 시퀀스의 blastn 분석

© Results of the NCBI BLASTn searches (primers for the diagnostics of LRVW)

No.	Query sequences (Primers for the diagnosis of LRVW)	Results of the NCBI BLASTn searches				#12
		Subject descriptions	The number of subjects	Identity (%)	Coverage (%)	
1	GAAGAATCTGGGATGATG	LRVW	82	100	100	LRVW's strain*
		TSV	5	100	100	
2	CAGCTCTCATGATGATGG	LRVW	91	100	100	
		TSV	5	100	100	
3	AGTCTCTCATGATGATGG	LRVW	79	100	100	
		TSV	5	100	100	
4	GCTGATTTCTGTAAGACCGA	LRVW	79	100	100	
		TSV	5	100	100	
5	CAACAGAGCATACCTGGATG	LRVW	81	86	100	
		TSV	4	100	100	
6	AAGGAGGTCAGGAAACTAC	TSV	4	100	100	
		LRVW	8	100	100	
7	AGAACTGATCTGGCTGCA	TSV	4	100	100	
		LRVW	5	100	100	
8	CAGGATGTCGACCTGCAAGT	LRVW	5	100	100	
		TSV	4	100	100	
9	CAGTGTGCAAAATGGCAAGT	LRVW	4	100	100	
		TSV	4	100	100	
10	ATGGAAGGATCTGCTGCTCT	LRVW	4	100	100	
		TSV	4	100	100	

* Nakano T, Ishihara K, Kusuda S, and Kojima H. (2005) Molecular analysis of coat protein coding region of tobacco etch virus shows that it is a strain of tobacco etch virus in the genus Potyvirus. Arch. Virol. 150(5):1015-1023

- 후보 프라이머 세트의 조합

© Combinations of candidate diagnostic primers for the detection of LRVW infections

Set	Sequences (5' → 3')	Location*	No.	bp
1	F: GAA AGA ATC CTG GGA TGA TG	281-300	1F	390
	R: GTC CAT CGA GTG AAG GAC TT	670-651		
2	F: GAA AGA ATC CTG GGA TGA TG	281-300	1F	447
	R: TCG GTC TTA CAG AAA TCA GC	727-708		
3	F: GAA AGA ATC CTG GGA TGA TG	281-300	1F	797
	R: ATC TCC AGG TWG CTC TGT TG	1077-1058		
4	F: CAG CTC TCA TCA TGA CAT GG	421-440	2F	657
	R: ATC TCC AGG TWG CTC TGT TG	1077-1058		
5	F: AAG TCC TTC ACT GGA TGG AC	651-670	5F	427
	R: ATC TCC AGG TWG CTC TGT TG	1077-1058		
6	F: GCT GAT TTC TGT AAG ACC GA	768-777	6F	370
	R: ATC TCC AGG TWG CTC TGT TG	1077-1058		
7	F: CAA CAG AGC WAC CTG GAG AT	1058-1077	5F	515
	R: GTA GTT TCC TGA CCT GGC TT	1572-1553		
8	F: CAA CAG AGC WAC CTG GAG AT	1058-1077	5F	685
	R: TTA GAG GCA GAT CAG CTT CT	1742-1723		
9	F: AAG GCA GGT CAG GAA ACT AC	1553-1572	6F	502
	R: ACT TGG AAG TCG ACA TCG TG	2054-2035		
10	F: AAG GCA GGT CAG GAA ACT AC	1553-1572	6F	775
	R: CAC TTG CCA TTT GTC CAA CTG	2327-2307		
11	F: AGA AGC TGA TCT GTC TTC AA	1723-1742	7F	605
	R: CAC TTG CCA TTT GTC CAA CTG	2327-2307		
12	F: CAC GAT GTC GAC TTC CAA GT	2035-2054	8F	672
	R: AAG ATC AGC ACA TTC TTC AT	2706-2687		
13	F: CAG TTG GAC AAA TGG CAA GTG	2927-2927	9F	400
	R: AAG ATC AGC ACA TTC TTC AT	2706-2687		

* Positions of primers are based on the reference genome sequence (GenBank acc. no. NC_011988).

- 설계된 후보 프라이머의 조합(PCR산물의 크기는 약 300-800 bp 범위가 될 수 있도록 조합) 후 이를 검증하기 위해서는 균주(타겟 바이러스 및 근연종)에 대한 특이성 테스트 및 검사품목에 대한 비특이적 산물 생성 여부 확인이 필요함

- 따라서, 해당 바이러스 검사법에 적용될 균주 및 검사품목(종자 및 식물체; 식물체의 경우 종자로 확보될 경우 온실에서 재배) 시료 확보

- 타겟 균주: Lettuce big-vein associated varicosavirus
- 비교 균주: Maize mosaic nucleorhabdovirus, Eggplant mottled dwarf virus, Potato yellow dwarf nucleorhabdovirus, Sonchus yellow net virus
- 품목(식물체): 상추 (Lactuca sativa L.)

마) Potato yellow dwarf virus (PYDV) 종 특이적인 프라이머의 설계

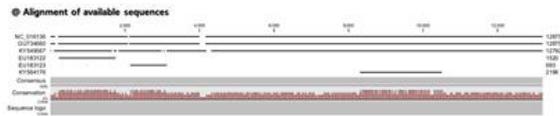
- 현재 NCBI GenBank에서 활용가능한 5개의 PYDV 시퀀스(2021년 1월 기준)를 이용하여 in silico 분석을 통한 후보 프라이머를 설계함
- 또한, NCBI blastn 분석을 통해서 PCR검사법 후보 프라이머 시퀀스가 근연종 바이러스 및 기주식물 유래 시퀀스와의 matching 안정성 정도를 파악하였음

○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계

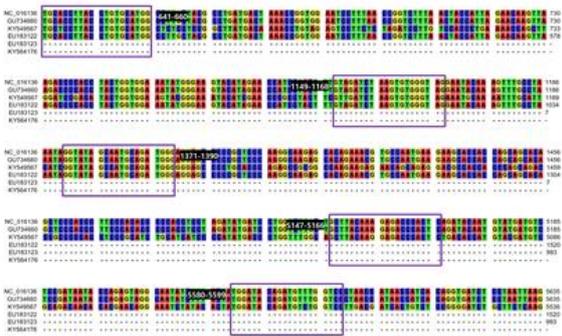
- 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
- 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(conserved region) 탐색
- Blastn 분석을 통한 프라이머의 타겟 바이러스 특이도 확인
- In vitro 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석



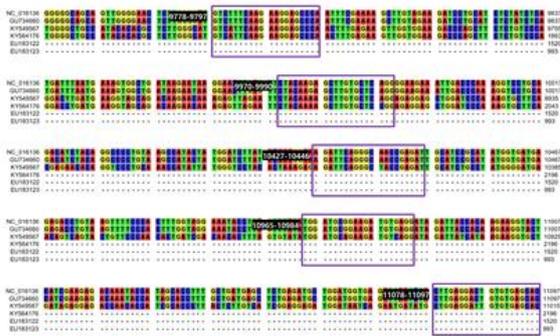
- 후보 프라이머의 설계

© Candidate primers designed in conserved regions



- 후보 프라이머의 설계(continued)

© Candidate primers designed in conserved regions (continued)



- 후보 프라이머 시퀀스의 blastn 분석

© Results of the NCBI BLASTn searches (primers for the diagnostics of PYDV)

No.	Query sequences (Primers for the diagnostics of LBVHV)	Results of the NCBI BLASTn searches				비고
		Subject descriptions	The number of subjects	Identity (%)	Coverage (%)	
1	TGCATCC TTACCTGTGCATGG	PYDV	3	96	100	
		PYDV	3	96	100	
2	GTATGATCAAGTGTGGTAG	<i>Solanum lycopersicum</i>	2	100	85	
		PYDV	2	96	100	
3	GGTATAGC A C ATGCAGATGGG	PYDV	3	96	100	
4	GCTTACAAAG GAGACCACTC	PYDV	2	96	100	
5	TGGATA CAGATGT T C T G T C C	PYDV	2	96	100	
6	GTC T A T T C A A G A G A G C C C A	PYDV	3	96	100	
7	CTACAAGAA GCTGTGTCTC A C G G	PYDV	3	90.48	100	
		PYDV	2	96	100	
8	A GATTCAGGGC A T ACCGAGAT	<i>Nicotiana glauca</i>	1	94.12	85	
9	TGGATGCGA GAAGA TGT G C AGG	PYDV	2	90	100	
		PYDV	2	90	100	
10	CT T G G A G G A C T T G T G A G C A C	PYDV	2	90	100	

- 후보 프라이머 세트의 조합

© Combinations of candidate diagnostic primers for the detection of PYDV infections

Set		Sequence(5'→3')	Location*	No.	bp
1	F	TGC WCC TTA CCT GTG CAT GG	641-660	1F	528
	R	CTA CCC ACA CTT AGA TCW AC	1168-1149	2R	
2	F	TGC WCC TTA CCT GTG CAT GG	641-660	1F	750
	R	CCC ATC TUC ATG GCT ATA CC	1390-1371	3R	
3	F	GCT TAC AAR GAG ACC CAC TC	5147-5166	4F	453
	R	GGG CCA BAC ATC TGT ATC CA	5599-5580	5R	
4	F	GTC WTT CAA GAA GGA GCC CA	9778-9797	6F	669
	R	ATC TCG GTW GCC CTG AAT CT	10446-10427	8R	
5	F	CTA CAA BAG CTT GTG CTC MGG	9970-9990	7F	477
	R	ATC TCG GTW GCC CTG AAT CT	10446-10427	8R	
6	F	AGA TTC AGG GCW ACC GAG AT	10427-10446	8F	558
	R	CCT SAC ATC TTC YGC ATC CA	10984-10965	9R	
7	F	AGA TTC AGG GCW ACC GAG AT	10427-10446	8F	471
	R	GTG CTC ACA CAR TCC TCM AG	11097-11078	10R	

* Positions of primers are based on the reference genome sequence (GenBank acc. no. NC_016193)

- 설계된 후보 프라이머의 조합(PCR산물의 크기는 약 300-800 bp 범위가 될 수 있도록 조합) 후 이를 검증하기 위해서는 균주(타겟 바이러스 및 근연종)에 대한 특이성 테스트 및 검사품목에 대한 비특이적 산물 생성 여부 확인이 필요함
- 따라서, 해당 바이러스 검사법에 적용될 균주 및 검사품목(종자 및 식물체; 식물체의 경우 종자로 확보될 경우 온실에서 재배) 시료 확보

- 타겟 균주: Potato yellow dwarf virus
- 비교 균주: Eggplant mottled dwarf virus, Maize mosaic nucleorhabdovirus, Sonchus

yellow net virus, Lettuce big-vein associated varicosavirus

- 품목(식물체): 감자 (*Solanum tuberosum*), 담배 (*Nicotiana tabaccum*), 백일홍 (*Zinnia elegans*), 분꽃 (*Mirabilis jalapa*), 토끼풀 (화이트클로버; *Trifolium repense*), 토마토 (*Solanum lycopersicum*)

2) PCR 검사법 후보 프라이머의 검증 및 선발

대상: '21년 연구 대상 5종 바이러스(Carnation etched ring virus, Eggplant mottled dwarf virus, Maize chlorotic mottle virus, Lettuce big-vein associated virus, Potato yellow dwarf virus)

연구방법

- 4단계 후보 프라이머 세트의 검증을 통한 최적의 프라이머세트 선발

가) Carnation etched ring virus (CERV) 후보 프라이머의 검증 및 선발

- CERV 양성 및 음성 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(1단계)
 - Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 시료 확보 불가로 1단계 검증 생략함
- CERV 근연종 바이러스를 이용한 후보 프라이머의 검증(2단계)
 - 3종 근연 바이러스를 이용하여 13개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 8개 (no. 1, 2, 3, 4, 7, 9, 10, 11) 프라이머세트가 선발되었음
- CERV 검사대상 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(3단계)
 - 1종 검사대상 식물을 이용하여 8개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 8개 (no. 1, 2, 3, 4, 7, 9, 10, 11) 프라이머세트가 선발되었음
- CERV 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머의 검증(4단계)
 - Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 시료 확보 불가로 4단계 검증 생략함

○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

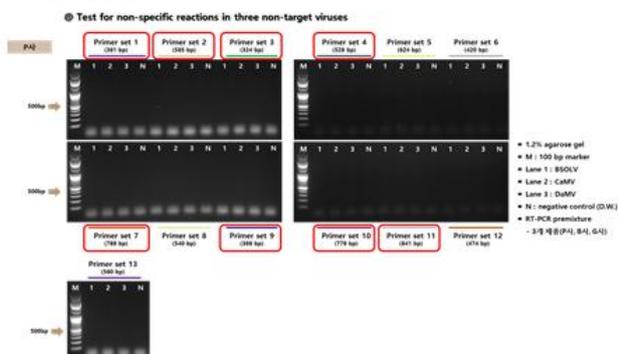
- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

- 1단계 검증

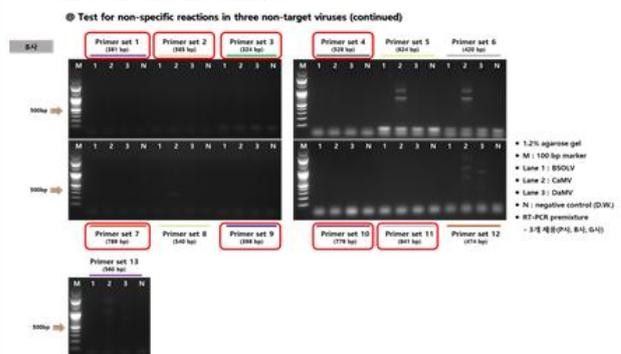
◎ Validation of candidate primers designed for detection of CERV

* Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 감염시료 확보 불가로 후보 프라이머 1단계 검증 생략

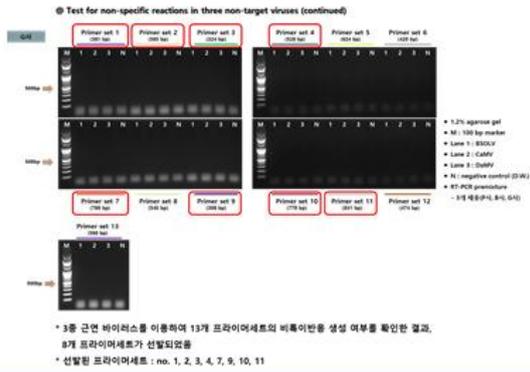
- 2단계 검증



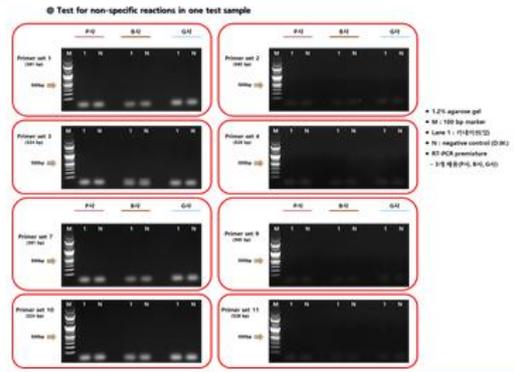
- 2단계 검증(continued)



- 2단계 검증(continued)



- 3단계 검증



- 3단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in one test samples (continued)

- 1종 검사대상 식물을 이용하여 8개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 8개 프라이머세트가 선발되었음
- 선발된 프라이머세트 : no. 1, 2, 3, 4, 7, 9, 10, 11

- 4단계 검증

◎ Concentration-dependent amplification test of the eight finally selected primer sets

- Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 감염시료 확보 불가로 후보 프라이머 4단계 검증 생략

- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

Carnation etched ring virus (CERV)

1st screening test	2nd screening test	3rd screening test	4th screening test																																																																																																																																												
- Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 감염시료 확보 불가로 후보 프라이머 1단계 검증 생략	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Primer set</th> <th>P1</th> <th>G1</th> <th>S1</th> <th>G1</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>#1</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#2</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#3</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#4</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#5</td><td>○</td><td>X</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#6</td><td>○</td><td>X</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#7</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#8</td><td>○</td><td>X</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#9</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#10</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#11</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#12</td><td>○</td><td>X</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#13</td><td>○</td><td>X</td><td>○</td><td>○</td></tr> </tbody> </table>	Primer set	P1	G1	S1	G1	#1	○	○	○	○	#2	○	○	○	○	#3	○	○	○	○	#4	○	○	○	○	#5	○	X	○	○	#6	○	X	○	○	#7	○	○	○	○	#8	○	X	○	○	#9	○	○	○	○	#10	○	○	○	○	#11	○	○	○	○	#12	○	X	○	○	#13	○	X	○	○	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Primer set</th> <th>P1</th> <th>G1</th> <th>S1</th> <th>G1</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>#1</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#2</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#3</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#4</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#5</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#6</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#7</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#8</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#9</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#10</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#11</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#12</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#13</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> </tbody> </table>	Primer set	P1	G1	S1	G1	#1	○	○	○	○	#2	○	○	○	○	#3	○	○	○	○	#4	○	○	○	○	#5	○	○	○	○	#6	○	○	○	○	#7	○	○	○	○	#8	○	○	○	○	#9	○	○	○	○	#10	○	○	○	○	#11	○	○	○	○	#12	○	○	○	○	#13	○	○	○	○	- Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 감염시료 확보 불가로 후보 프라이머 4단계 검증 생략
Primer set	P1	G1	S1	G1																																																																																																																																											
#1	○	○	○	○																																																																																																																																											
#2	○	○	○	○																																																																																																																																											
#3	○	○	○	○																																																																																																																																											
#4	○	○	○	○																																																																																																																																											
#5	○	X	○	○																																																																																																																																											
#6	○	X	○	○																																																																																																																																											
#7	○	○	○	○																																																																																																																																											
#8	○	X	○	○																																																																																																																																											
#9	○	○	○	○																																																																																																																																											
#10	○	○	○	○																																																																																																																																											
#11	○	○	○	○																																																																																																																																											
#12	○	X	○	○																																																																																																																																											
#13	○	X	○	○																																																																																																																																											
Primer set	P1	G1	S1	G1																																																																																																																																											
#1	○	○	○	○																																																																																																																																											
#2	○	○	○	○																																																																																																																																											
#3	○	○	○	○																																																																																																																																											
#4	○	○	○	○																																																																																																																																											
#5	○	○	○	○																																																																																																																																											
#6	○	○	○	○																																																																																																																																											
#7	○	○	○	○																																																																																																																																											
#8	○	○	○	○																																																																																																																																											
#9	○	○	○	○																																																																																																																																											
#10	○	○	○	○																																																																																																																																											
#11	○	○	○	○																																																																																																																																											
#12	○	○	○	○																																																																																																																																											
#13	○	○	○	○																																																																																																																																											

- 1종 검사대상 식물 이용
 - 8개 프라이머세트 검증
 - 8개 프라이머세트 선발

- 3종 근연바이러스 이용
 - 13개 프라이머세트 검증
 - 8개 프라이머세트 선발

나) Eggplant mottled dwarf virus (EMDV) 후보 프라이머의 검증 및 선발

- EMDV 양성 및 음성 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(1단계)
 - EMDV감염 시료를 이용하여 16개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 11개 (no. 1, 2, 3, 4, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 15) 프라이머세트가 선발되었음
- EMDV 근연종 바이러스를 이용한 후보 프라이머의 검증(2단계)
 - 4종 근연 바이러스를 이용하여 11개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 5개 (no. 4, 9, 11, 12, 13) 프라이머세트가 선발되었음
- EMDV 검사대상 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(3단계)
 - 6종 검사대상 식물을 이용하여 5개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 5개 (no. 4, 9, 11, 12, 13) 프라이머세트가 선발되었음
- EMDV 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머의 검증(4단계)

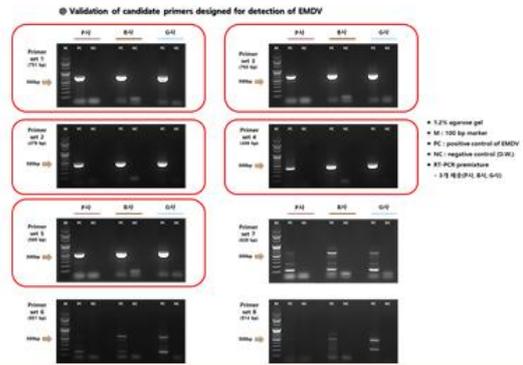
- 최종 선발된 모든 프라이머 세트는 핵산(total RNA) 농도 1 ng에서도 타겟 밴드를 확인할 수 있는 정도의 높은 감도를 보임

○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

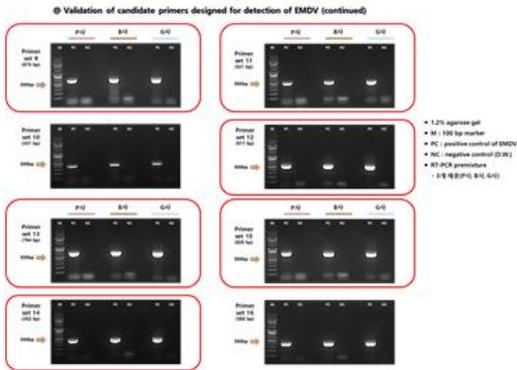
- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

- 1단계 검증



- 1단계 검증(continued)



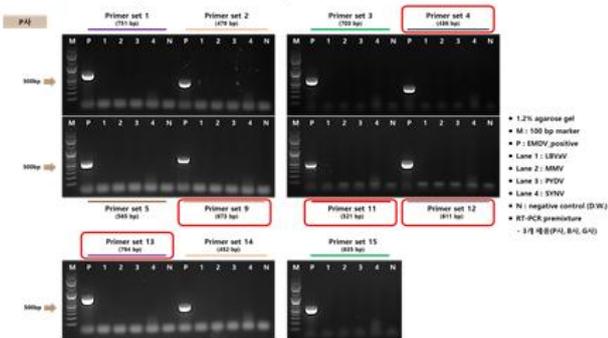
- 1단계 검증(continued)

◎ Validation of candidate primers designed for detection of EMDV (continued)

- * EMDV감염 시료를 이용하여 16개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 11개 프라이머세트가 선발됨
- * 선발된 프라이머세트 : no. 1, 2, 3, 4, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 15

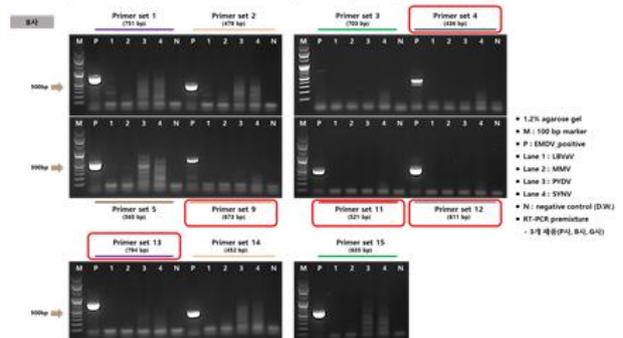
- 2단계 검증

◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses



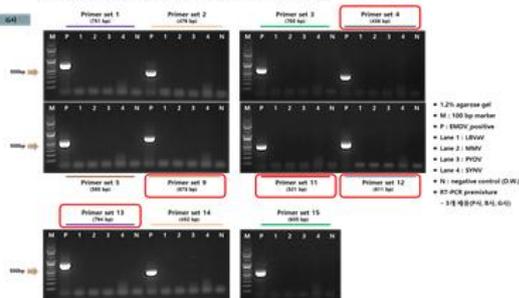
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses (continued)



- 2단계 검증(continued)

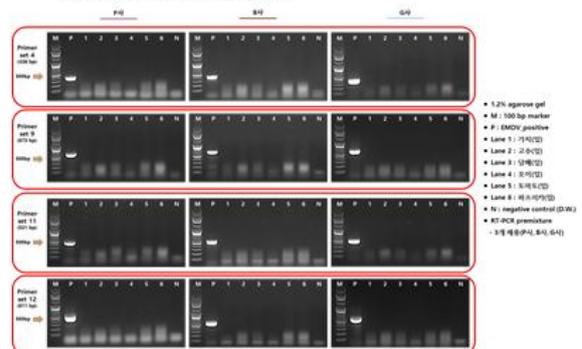
◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses (continued)



- * 4종 근연 바이러스를 이용하여 11개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 5개 프라이머세트가 선발되었음
- * 선발된 프라이머세트 : no. 4, 9, 11, 12, 13

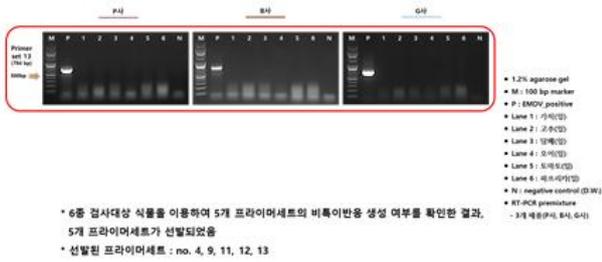
- 3단계 검증

◎ Test for non-specific reactions in six test samples



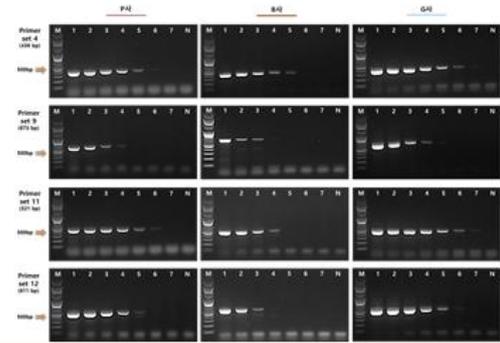
- 3단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in six test samples (continued)



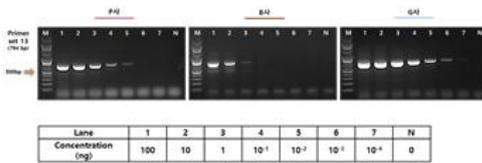
- 4단계 검증

◎ Concentration-dependent amplification test of the five finally selected primer sets



- 4단계 검증(continued)

◎ Concentration-dependent amplification test of the five finally selected primer sets (continued)



- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

Eggplant mottled dwarf virus (EMDV)

1st screening test				2nd screening test				3rd screening test				4th screening test			
Primer set	P4	B4	G4	Primer set	P4	B4	G4	Primer set	P4	B4	G4	Primer set	P4	B4	G4
#1	○	○	○	#1	○	X	○	#8	○	○	○	#8	10 ⁰	10 ¹	10 ²
#2	○	○	○	#2	○	X	○	#9	○	○	○	#9	10 ⁰	10 ¹	10 ²
#3	○	○	○	#3	○	X	○	#10	○	○	○	#10	10 ⁰	10 ¹	10 ²
#4	○	○	○	#4	○	○	○	#11	○	○	○	#11	10 ⁰	10 ¹	10 ²
#5	○	○	○	#5	○	X	○	#12	○	○	○	#12	10 ⁰	10 ¹	10 ²
#6	X	X	X	#6	○	○	○	#13	○	○	○	#13	10 ⁰	1	10 ¹
#7	X	X	X	#7	○	○	○	#14	○	X	○	- 6종 검사대상 식물 이용 - 5개 프라이머세트 검증 - 5개 프라이머세트 선발 - 10 ⁻⁴ 이하의 핵산 (total RNA) 농도에서도 진단됨			
#8	○	○	○	#8	○	○	○	#15	○	X	○				
#9	○	○	○	#9	○	○	○	#16	X	○	○				
#10	X	X	X	#10	○	○	○								
#11	○	○	○	#11	○	○	○	- 4종 근연바이러스 이용 - 11개 프라이머세트 검증 - 5개 프라이머세트 선발							
#12	○	○	○	#12	○	○	○								
#13	○	○	○	#13	○	○	○								
#14	○	○	○	#14	○	○	○								
#15	○	○	○	#15	○	○	○	- EMDV 감염 시료 이용 - 16개 프라이머세트 검증 - 11개 프라이머세트 선발							
#16	X	○	○	#16	X	○	○								

다) Maize chlorotic mottle virus (MCMV) 후보 프라이머의 검증 및 선발

- MCMV 양성 및 음성 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(1단계)

- MCMV감염 시료를 이용하여 22개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 20개 (no. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22) 프라이머세트가 선발되었음

- MCMV 근연종 바이러스를 이용한 후보 프라이머의 검증(2단계)

- 5종 근연 바이러스를 이용하여 20개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 8개 (no. 4, 8, 13, 15, 16, 17, 18, 22) 프라이머세트가 선발되었음

- MCMV 검사대상 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(3단계)

- 7종 검사대상 식물을 이용하여 8개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 3개 (no. 15, 16, 17) 프라이머세트가 선발되었음

- MCMV 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머의 검증(4단계)

- 최종 선발된 모든 프라이머 세트는 핵산(total RNA) 농도 10⁻³ ng에서도 타겟 밴드를 확인할 수 있는 정도의 높은 감도를 보임

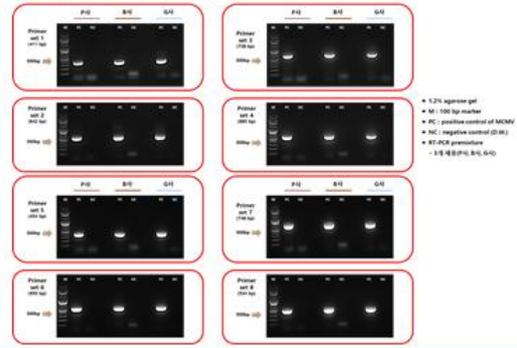
○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

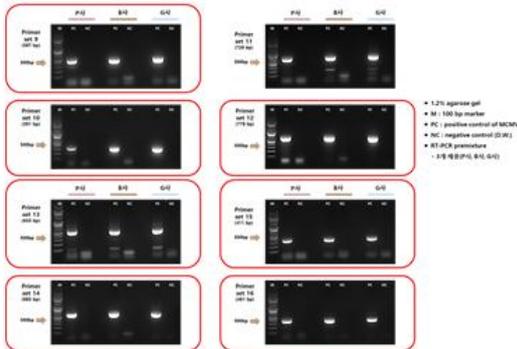
- 1단계 검증

◎ Validation of candidate primers designed for detection of MCMV



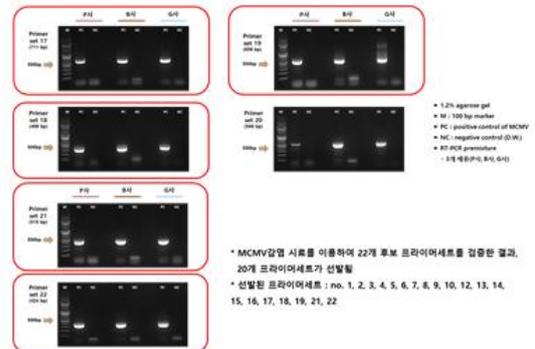
- 1단계 검증(continued)

◎ Validation of candidate primers designed for detection of MCMV (continued)



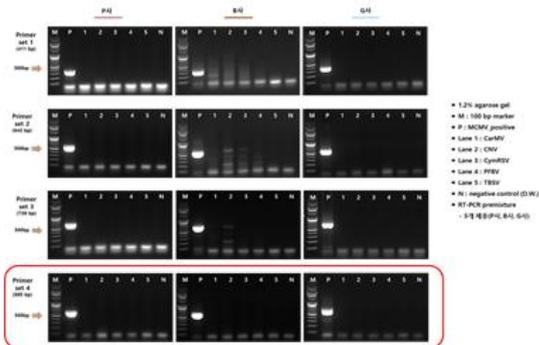
- 1단계 검증(continued)

◎ Validation of candidate primers designed for detection of MCMV (continued)



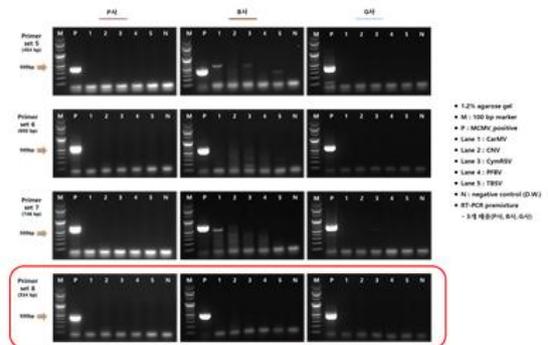
- 2단계 검증

◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses



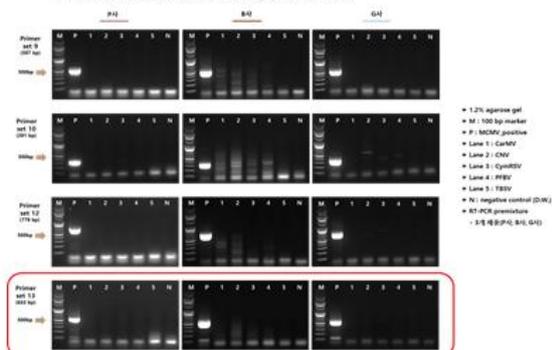
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses (continued)



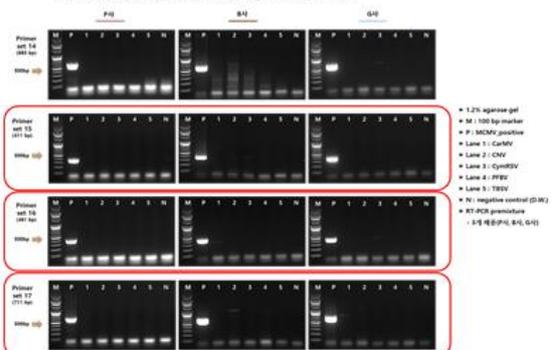
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses (continued)

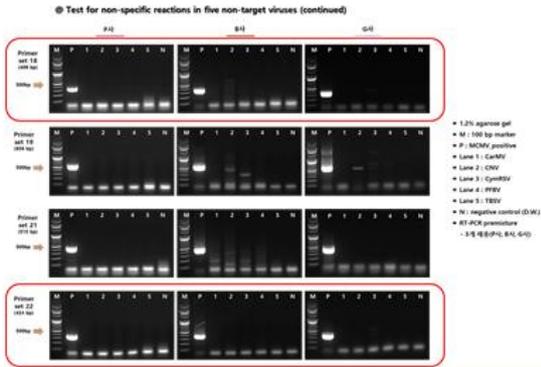


- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses (continued)



- 2단계 검증(continued)

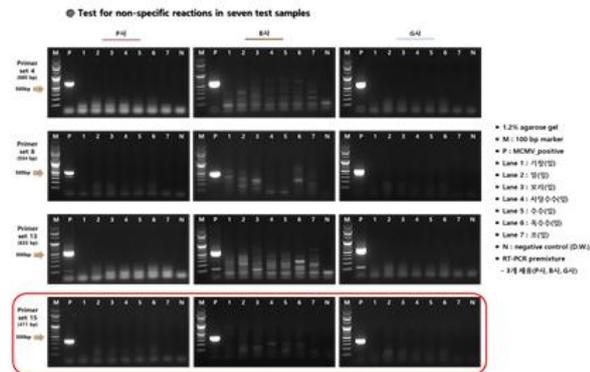


- 2단계 검증(continued)

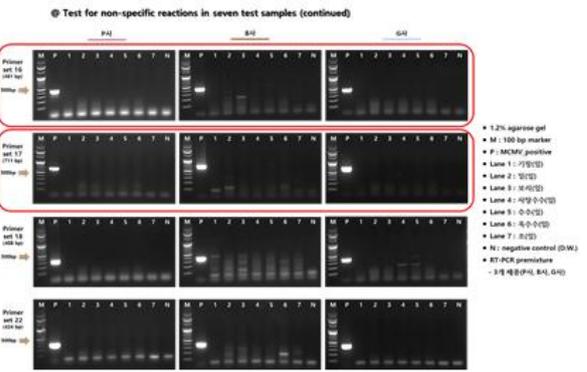
◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses (continued)

- * 5종 근연 바이러스를 이용하여 20개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 8개 프라이머세트가 선발되었음
- * 선발된 프라이머세트 : no. 4, 8, 13, 15, 16, 17, 18, 22

- 3단계 검증



- 3단계 검증(continued)



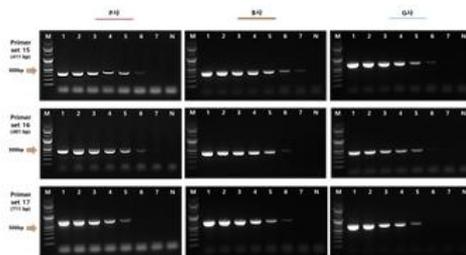
- 3단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in seven test samples (continued)

- * 7종 검사대상 식물을 이용하여 8개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 3개 프라이머세트가 선발되었음
- * 선발된 프라이머세트 : no. 15, 16, 17

- 4단계 검증

◎ Concentration-dependent amplification test of the three finally selected primer sets



Lane	1	2	3	4	5	6	7	N
Concentration (ng)	10	1	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	0

- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

Maize chlorotic mottle virus (MCMV)

1st screening test	2nd screening test	3rd screening test	4th screening test																																																																																																																																																																																																																																												
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Primer set</th> <th>P</th> <th>B</th> <th>G</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>#1</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#2</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#3</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#4</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#5</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#6</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#7</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#8</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#9</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#10</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#11</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#12</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#13</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#14</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#15</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#16</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#17</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#18</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#19</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#20</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#21</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#22</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> </tbody> </table>	Primer set	P	B	G	#1	○	○	○	#2	○	○	○	#3	○	○	○	#4	○	○	○	#5	○	○	○	#6	○	○	○	#7	○	○	○	#8	○	○	○	#9	○	○	○	#10	○	○	○	#11	○	○	○	#12	○	○	○	#13	○	○	○	#14	○	○	○	#15	○	○	○	#16	○	○	○	#17	○	○	○	#18	○	○	○	#19	○	○	○	#20	○	○	○	#21	○	○	○	#22	○	○	○	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Primer set</th> <th>P</th> <th>B</th> <th>G</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>#1</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#2</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#3</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#4</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#5</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#6</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#7</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#8</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#9</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#10</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#11</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#12</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#13</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#14</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#15</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#16</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#17</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#18</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#19</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#20</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#21</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#22</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> </tbody> </table>	Primer set	P	B	G	#1	○	○	○	#2	○	○	○	#3	○	○	○	#4	○	○	○	#5	○	○	○	#6	○	○	○	#7	○	○	○	#8	○	○	○	#9	○	○	○	#10	○	○	○	#11	○	○	○	#12	○	○	○	#13	○	○	○	#14	○	○	○	#15	○	○	○	#16	○	○	○	#17	○	○	○	#18	○	○	○	#19	○	○	○	#20	○	○	○	#21	○	○	○	#22	○	○	○	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Primer set</th> <th>P</th> <th>B</th> <th>G</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>#4</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#8</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#13</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#15</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#16</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#17</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#18</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#22</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> </tbody> </table>	Primer set	P	B	G	#4	○	○	○	#8	○	○	○	#13	○	○	○	#15	○	○	○	#16	○	○	○	#17	○	○	○	#18	○	○	○	#22	○	○	○	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Primer set</th> <th>P</th> <th>B</th> <th>G</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>#15</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#16</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#17</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> </tbody> </table>	Primer set	P	B	G	#15	○	○	○	#16	○	○	○	#17	○	○	○
Primer set	P	B	G																																																																																																																																																																																																																																												
#1	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#2	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#3	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#4	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#5	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#6	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#7	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#8	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#9	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#10	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#11	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#12	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#13	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#14	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#15	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#16	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#17	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#18	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#19	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#20	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#21	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#22	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
Primer set	P	B	G																																																																																																																																																																																																																																												
#1	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#2	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#3	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#4	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#5	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#6	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#7	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#8	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#9	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#10	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#11	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#12	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#13	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#14	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#15	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#16	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#17	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#18	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#19	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#20	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#21	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#22	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
Primer set	P	B	G																																																																																																																																																																																																																																												
#4	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#8	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#13	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#15	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#16	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#17	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#18	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#22	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
Primer set	P	B	G																																																																																																																																																																																																																																												
#15	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#16	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												
#17	○	○	○																																																																																																																																																																																																																																												

- MCMV 감염 시료 이용
- 22개 프라이머세트 검증
- 20개 프라이머세트 선발

- 7종 검사대상 식물 이용
- 8개 프라이머세트 검증
- 3개 프라이머세트 선발

- 5종 근연바이러스 이용
- 20개 프라이머세트 검증
- 8개 프라이머세트 선발

- 10⁻¹ 이하의 핵산 (total RNA) 농도에서도 진단됨

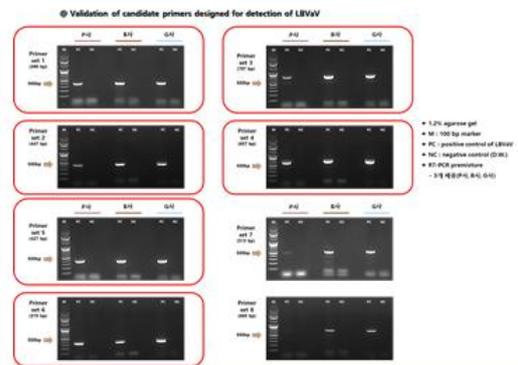
- 라) Lettuce big-vein associated virus (LBVaV) 후보 프라이머의 검증 및 선발
- LBVaV 양성 및 음성 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(1단계)
 - LBVaV감염 시료를 이용하여 13개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 11개 (no. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13) 프라이머세트가 선발되었음
 - LBVaV 근연종 바이러스를 이용한 후보 프라이머의 검증(2단계)
 - 4종 근연 바이러스를 이용하여 11개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 3개 (no. 5, 6, 9) 프라이머세트가 선발되었음
 - LBVaV 검사대상 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(3단계)
 - 1종 검사대상 식물을 이용하여 3개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 3개 (no. 5, 6, 9) 프라이머세트가 선발되었음
 - LBVaV 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머의 검증(4단계)
 - 최종 선발된 모든 프라이머 세트는 핵산(total RNA) 농도 10-2 ng에서도 타겟 밴드를 확인할 수 있는 정도의 높은 감도를 보임

○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

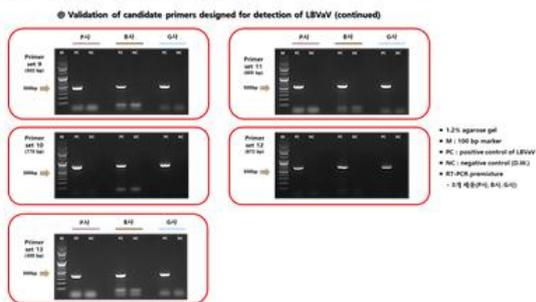
- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

- 1단계 검증

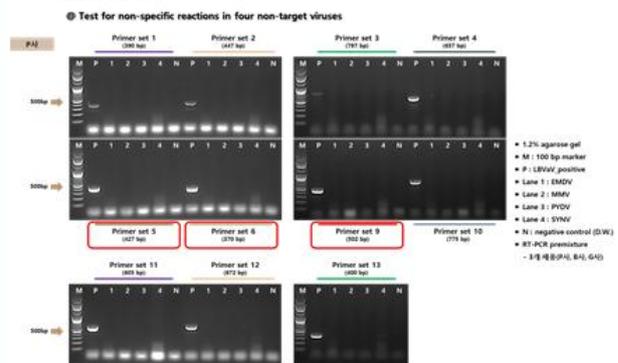


- 1단계 검증(continued)

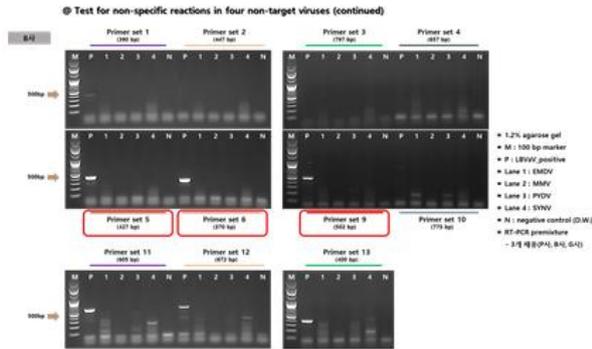


* LBVaV감염 시료를 이용하여 13개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 11개 프라이머세트가 선발됨
 * 선발된 프라이머세트 : no. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13

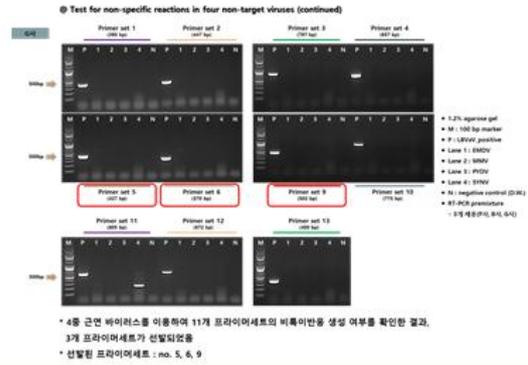
- 2단계 검증



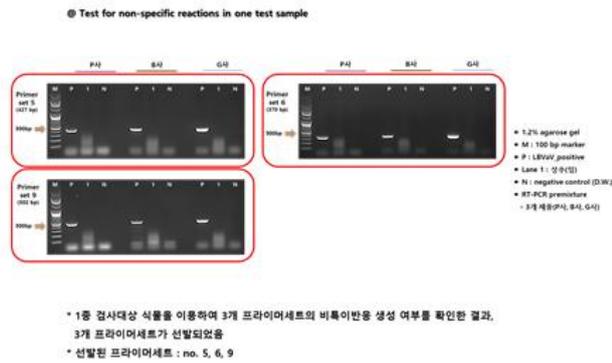
- 2단계 검증(continued)



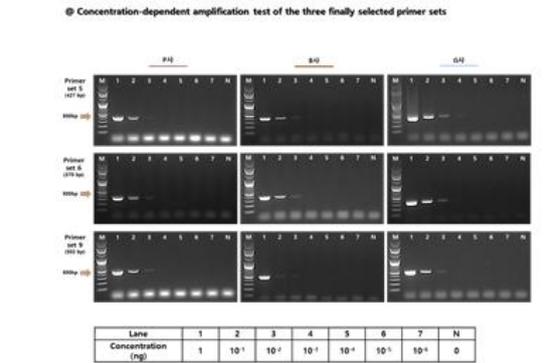
- 2단계 검증(continued)



- 3단계 검증



- 4단계 검증



- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

Lettuce big-vein associated virus (LBVAV)

1st screening test				2nd screening test				3rd screening test				4th screening test			
Primer set	P-I	무	G-4	Primer set	P-I	무	G-4	Primer set	P-I	무	G-4	Primer set	P-I	무	G-4
#1	○	○	○	#1	X	X	○	#1	○	○	○	#5	1	1	10 ⁻¹
#2	○	○	○	#2	X	X	○	#2	○	○	○	#6	1	1	1
#3	○	○	○	#3	X	X	○	#3	○	○	○	#7	1	1	1
#4	○	○	○	#4	○	X	○	#4	○	○	○	#8	1	1	1
#5	○	○	○	#5	○	○	○	#5	○	○	○	#9	1	1	1
#6	○	○	○	#6	○	○	○	#6	○	○	○	#10	○	X	○
#7	X	X	○	#7	○	○	○	#7	○	○	○	#11	○	X	X
#8	○	○	○	#8	○	○	○	#8	○	○	○	#12	○	X	○
#9	○	○	○	#9	○	○	○	#9	○	○	○	#13	○	○	○
#10	○	○	○	#10	○	○	○	#10	○	○	○				
#11	○	○	○	#11	○	X	X	#11	○	○	○				
#12	○	○	○	#12	○	X	○	#12	○	○	○				
#13	○	○	○	#13	○	○	○	#13	○	○	○				

- 1종 검사대상 식물 이용
 - 3개 프라이머세트 검증
 - 3개 프라이머세트 선발

- 4종 근연바이러스 이용
 - 11개 프라이머세트 검증
 - 3개 프라이머세트 선발

- 10⁻¹ 이하의 핵산 (total RNA) 농도에서도 진단됨

마) Potato yellow dwarf virus (PYDV) 후보 프라이머의 검증 및 선발

- PYDV 양성 및 음성 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(1단계)

- PYDV감염 시료를 이용하여 7개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 6개 (no. 2, 3, 4, 5, 6, 7) 프라이머세트가 선발되었음

- PYDV 근연종 바이러스를 이용한 후보 프라이머의 검증(2단계)

- 4종 근연 바이러스를 이용하여 6개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 6개 (no. 2, 3, 4, 5, 6, 7) 프라이머세트가 선발되었음

- PYDV 검사대상 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(3단계)

- 6종 검사대상 식물을 이용하여 6개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 5개 (no. 3, 4, 5, 6, 7) 프라이머세트가 선발되었음

- PYDV 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머의 검증(4단계)

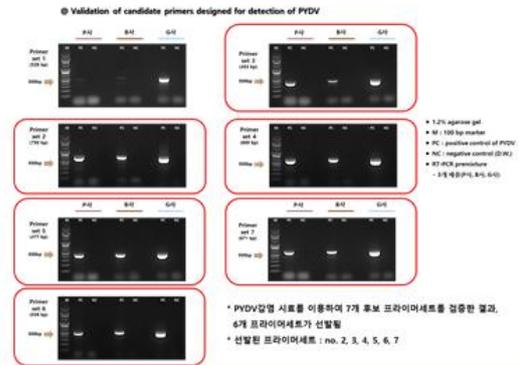
- 최종 선발된 모든 프라이머 세트는 핵산(total RNA) 농도 10-2 ng에서도 타겟 밴드를 확인할 수 있는 정도의 높은 감도를 보임

○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

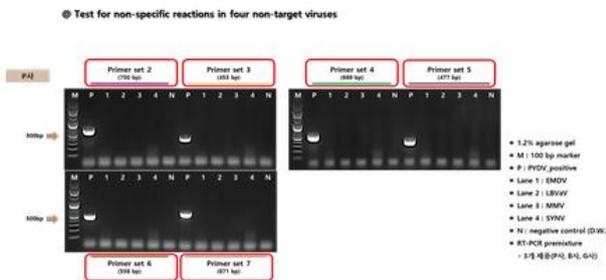
- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

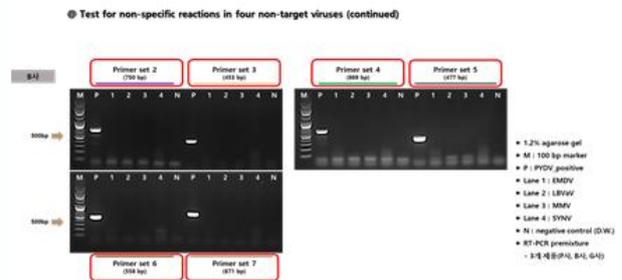
- 1단계 검증



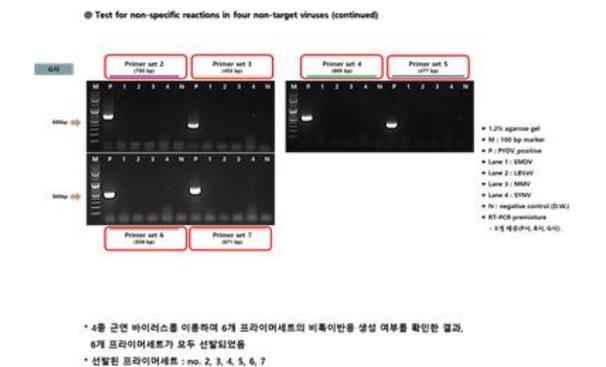
- 2단계 검증



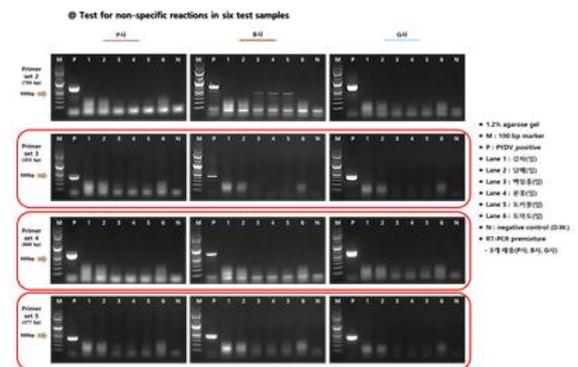
- 2단계 검증(continued)



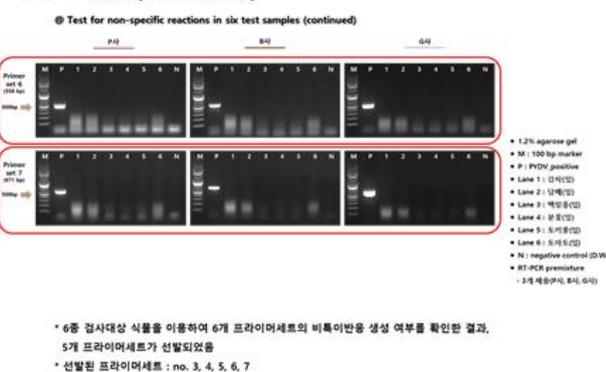
- 2단계 검증(continued)



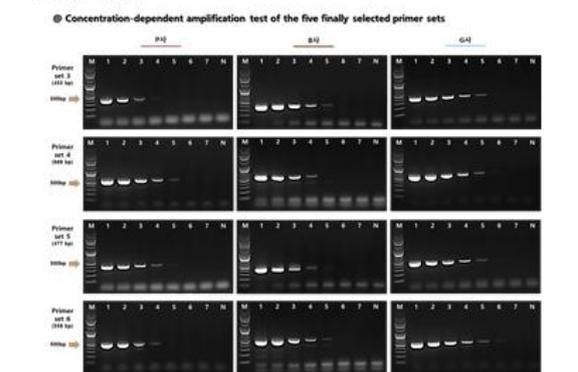
- 3단계 검증



- 3단계 검증(continued)

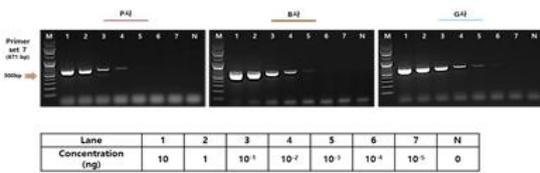


- 4단계 검증



- 4단계 검증(continued)

© Concentration-dependent amplification test of the five finally selected primer sets (continued)



- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

Potato yellow dwarf virus (PYDV)

1st screening test				2nd screening test				3rd screening test				4th screening test			
Primer set	P1	B1	G1	Primer set	P1	B1	G1	Primer set	P1	B1	G1	Primer set	P1	B1	G1
#1	○	○	○	#1	○	○	○	#1	○	○	○	#1	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹
#2	○	○	○	#2	○	○	○	#2	○	○	○	#2	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹
#3	○	○	○	#3	○	○	○	#3	○	○	○	#3	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹
#4	○	○	○	#4	○	○	○	#4	○	○	○	#4	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹
#5	○	○	○	#5	○	○	○	#5	○	○	○	#5	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹
#6	○	○	○	#6	○	○	○	#6	○	○	○	#6	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹
#7	○	○	○	#7	○	○	○	#7	○	○	○	#7	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹

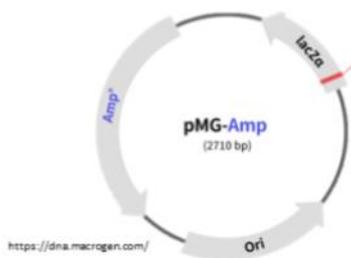
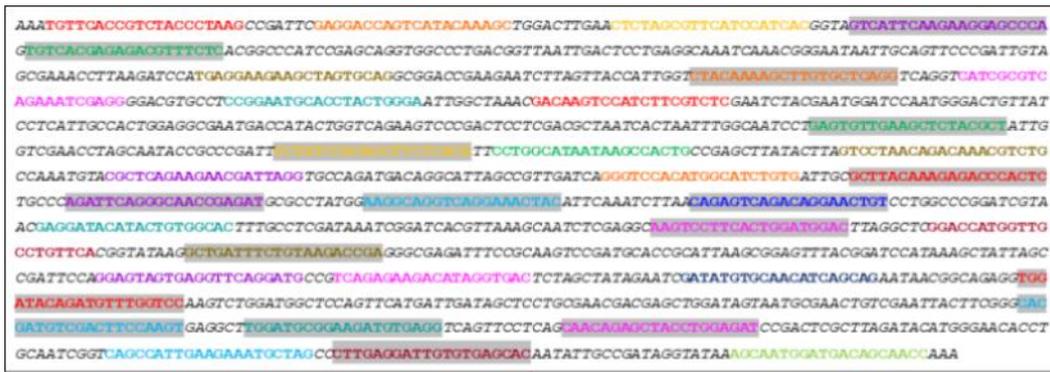
- 10⁻¹ 이하의 핵산 (total RNA) 농도에서도 진단됨
 - 4중 근연바이러스 이용
 - 6개 프라이머세트 검증
 - 6개 프라이머세트 선별
 - 4중 근연바이러스 이용
 - 6개 프라이머세트 검증
 - 6개 프라이머세트 선별
 - 6중 검사대상 식물 이용
 - 6개 프라이머세트 검증
 - 5개 프라이머세트 선별

3) 5종 식물바이러스 PCR검사법에 활용 가능한 양성대조군 클론의 개발 및 검증

대상: '21년 연구 대상 5종 바이러스(Carnation etched ring virus, Eggplant mottled dwarf virus, Maize chlorotic mottle virus, Lettuce big-vein associated virus, Potato yellow dwarf virus)에 대한 PCR 검사법용 프라이머 세트

연구방법: DNA 합성기술을 활용하여 최종 선발된 모든 프라이머 세트에 동시 이용 가능한 클론 설계

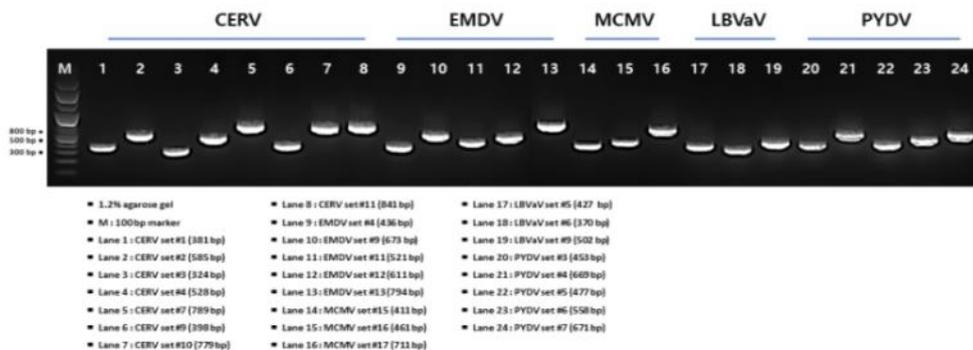
가) 5종 식물바이러스 PCR검사법에 활용 가능한 '묶음형 양성대조군 클론'의 설계



Vector : pMG-Amp (2,710 bp)
 Insert length : 1,447 bp
 Total length : 4,157 bp

나) 5종 식물바이러스 PCR검사법에 활용 가능한 '묶음형 양성대조군 클론'의 검증

- PCR 검증 결과, '묶음형 양성대조군 클론'이 양성대조구로서 활용될 수 있음을 확인함



<3차년도 연구내용>

1) PCR 검사법 개발을 위한 후보프라이머의 설계 및 검사품목 조사

대상: Abutilon mosaic virus (AbMV), *Fragaria chiloensis* latent virus (FCILV), Grapevine geminivirus A (GGVA), Grapevine berry inner necrosis virus (GINV), Grapevine fabavirus (GFabV)

연구방법

- 활용가능한 모든 시퀀스의 수집(NCBI GenBank)
- 유전자분석용 소프트웨어(CLC Main Workbench)를 이용한 in silico 분석
 - 수집한 각각의 바이러스 시퀀스의 alignment
 - Conserved region의 확인 및 후보 프라이머의 설계
- 후보 프라이머 시퀀스의 NCBI BLASTn 분석
 - 검색 조건: (Database) Standard databases, (Optimize for) Somewhat similar sequences

가) Abutilon mosaic virus (AbMV) 중 특이적인 프라이머의 설계

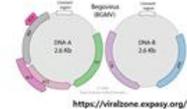
- 현재 NCBI GenBank에서 활용가능한 22개의 AbMV 시퀀스(2022년 1월 기준)를 이용하여 in silico 분석을 통한 후보 프라이머를 설계함
- 또한, NCBI blastn분석을 통해서 PCR검사법 후보 프라이머 시퀀스가 근연종 바이러스 및 기주식물 유래 시퀀스와의 matching 안정성 정도를 파악하였음

○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계
 - 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
 - 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(conserved region) 탐색
 - Blastn 분석을 통한 프라이머의 타겟 바이러스 특이도 확인
 - In vitro 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

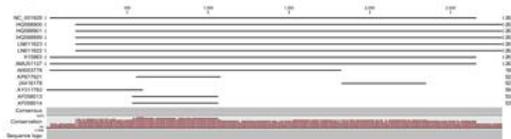
- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석

Abutilon mosaic virus
genus Begomovirus
family Geminiviridae



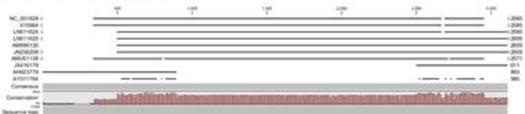
* GenBank에 등록된 AbMV 시퀀스 수 (2022.1.4. 기준)
: 22개 (DNA-A: 13개, DNA-B: 9개)

◎ Alignment of available sequences (DNA-A)



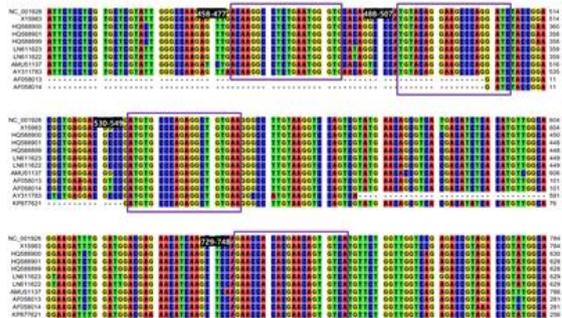
- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석(continued)

◎ Alignment of available sequences (DNA-B)



- 후보 프라이머의 설계

◎ Candidate primers designed in conserved regions of AbMV isolates (DNA-A)



검사품목에 대한 비특이적 산물 생성 여부 확인이 필요함

- 따라서, 해당 바이러스 검사법에 적용될 균주 및 검사품목(종자 및 식물체; 식물체의 경우 종자로 확보될 경우 온실에서 재배) 시료 확보
 - 타겟 균주: Abutilon mosaic virus (AbMV)
 - 비교 균주: Bean golden mosaic virus (BGMV), Squash leaf curl virus (SLCV), Tomato yellow leaf curl Thailand virus (TYLCTHV), Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), Watermelon chlorotic stunt virus (WmCSV)
 - 품목(식물체): 강낭콩 (*Phaseolus vulgaris*), 동부 (*Vigna unguiculata, siensis*), 목화 (*Gossypium hirsutum*), 무궁화 속 (*Hibiscus spp.*), 어저귀 속 (*Abutilon spp.*)

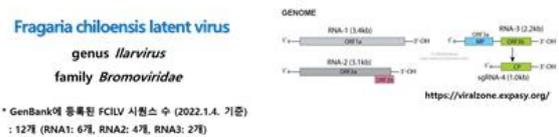
나) *Fragaria chiloensis* latent virus (FCILV) 종 특이적인 프라이머의 설계

- 현재 NCBI GenBank에서 활용가능한 12개의 FCILV 시퀀스(2022년 1월 기준)를 이용하여 in silico 분석을 통한 후보 프라이머를 설계함
- 또한, NCBI blastn 분석을 통해서 PCR검사법 후보 프라이머 시퀀스가 근연종 바이러스 및 기주식물 유래 시퀀스와의 matching 안정성 정도를 파악하였음

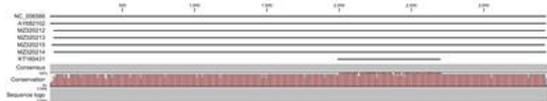
○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계
 - 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
 - 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(conserved region) 탐색
 - Blastn 분석을 통한 프라이머의 타겟 바이러스 특이도 확인
 - In vitro 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석

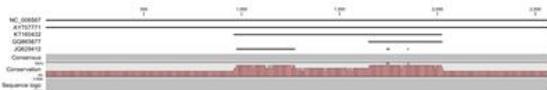


◎ Alignment of available sequences (RNA1)

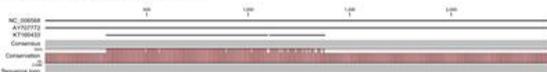


- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석(continued)

◎ Alignment of available sequences (RNA2)

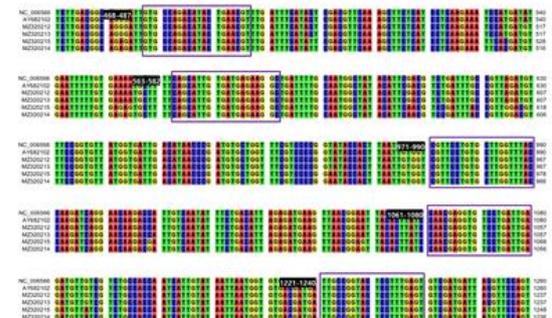


◎ Alignment of available sequences (RNA3)



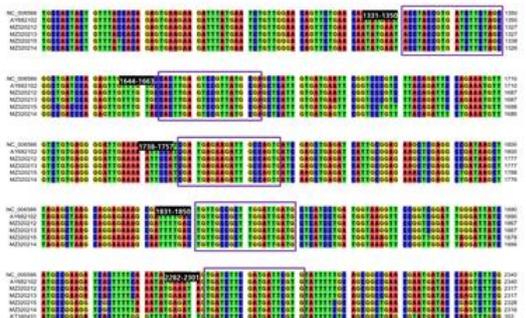
- 후보 프라이머의 설계

◎ Candidate primers designed in conserved regions of FCILV isolates (RNA1)



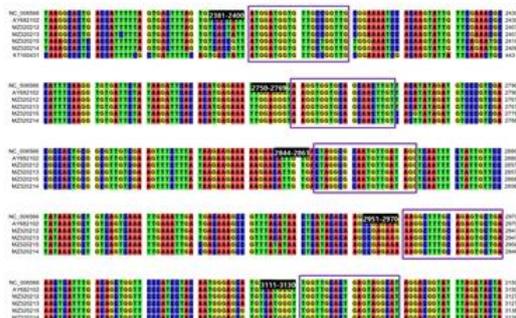
- 후보 프라이머의 설계(continued)

© Candidate primers designed in conserved regions of FCILV isolates (RNA1): continued



- 후보 프라이머의 설계(continued)

© Candidate primers designed in conserved regions of FCILV isolates (RNA1): continued



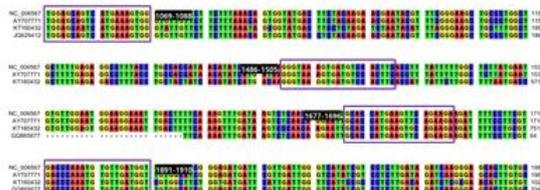
- 후보 프라이머의 설계(continued)

© Candidate primers designed in conserved regions of FCILV isolates (RNA1): continued



- 후보 프라이머의 설계(continued)

© Candidate primers designed in conserved regions of FCILV isolates (RNA2)



- 후보 프라이머 시퀀스의 blastn 분석

© Results of the NCBI BLASTn searches (primers for the diagnostics of FCILV)

No.	Query sequence	Length	Subject accession	Query coverage (%)	Identity (%)	E-value	bits
1	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000123	100	100	1e-50	36.23
2	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000124	100	100	1e-50	36.23
3	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000125	100	100	1e-50	36.23
4	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000126	100	100	1e-50	36.23
5	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000127	100	100	1e-50	36.23
6	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000128	100	100	1e-50	36.23
7	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000129	100	100	1e-50	36.23
8	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000130	100	100	1e-50	36.23
9	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000131	100	100	1e-50	36.23
10	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000132	100	100	1e-50	36.23
11	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000133	100	100	1e-50	36.23
12	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000134	100	100	1e-50	36.23
13	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000135	100	100	1e-50	36.23
14	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000136	100	100	1e-50	36.23
15	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000137	100	100	1e-50	36.23
16	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000138	100	100	1e-50	36.23
17	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000139	100	100	1e-50	36.23
18	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000140	100	100	1e-50	36.23
19	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000141	100	100	1e-50	36.23
20	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	30	AF000142	100	100	1e-50	36.23

- 후보 프라이머 세트의 조합

© Combinations of diagnostic primers for the detection of FCILV infections

Primer 1	Primer 2	Primer 3	Primer 4	Primer 5
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG
AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG	AGGAGGCTGCTAGACGCAAGGAG

Positions of primers are based on the reference genome sequences (GenBank acc. nos. NC_009058 (AF000123), NC_009057 (AF000124))

- 설계된 후보 프라이머의 조합(PCR산물의 크기는 약 300–800 bp 범위가 될 수 있도록 조합) 후 이를 검증하기 위해서는 균주(타겟 바이러스 및 근연종)에 대한 특이성 테스트 및 검사품목에 대한 비특이적 산물 생성 여부 확인이 필요함
- 따라서, 해당 바이러스 검사법에 적용될 균주 및 검사품목(종자 및 식물체; 식물체의 경우 종자로 확보될 경우 온실에서 재배) 시료 확보
 - 타겟 균주: *Fragaria chiloensis* latent virus (FCILV)
 - 비교 균주: American plum line pattern virus (APLPV), Asparagus virus 2 (AV2), Blueberry shock virus (BISHv), Potato yellowing virus (PYV), Prune dwarf virus (PDV)
 - 품목(식물체): 딸기 (*Fragaria chiloensis*)

다) Grapevine geminivirus A (GGVA) 중 특이적인 프라이머의 설계

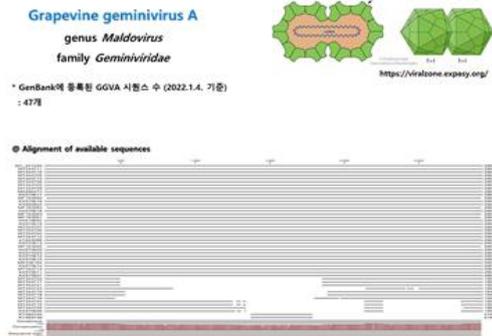
- 현재 NCBI GenBank에서 활용가능한 47개의 GGVA 시퀀스(2022년 1월 기준)를 이용하여 in silico 분석을 통한 후보 프라이머를 설계함
- 또한, NCBI blastn분석을 통해서 PCR검사법 후보 프라이머 시퀀스가 근연종 바이러스 및 기주식물 유래 시퀀스와의 matching 안정성 정도를 파악하였음

○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

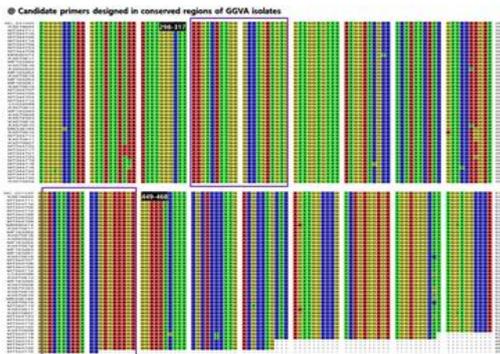
- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계

- 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
- 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(conserved region) 탐색
- Blastn 분석을 통한 프라이머의 타겟 바이러스 특이도 확인
- In vitro 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

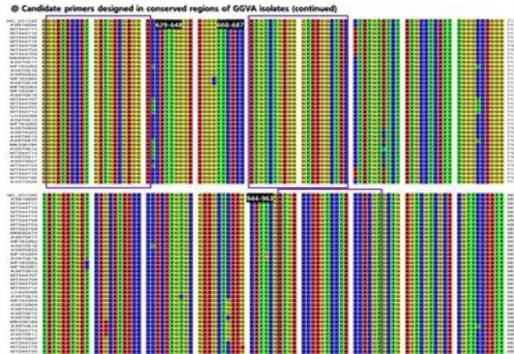
- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석



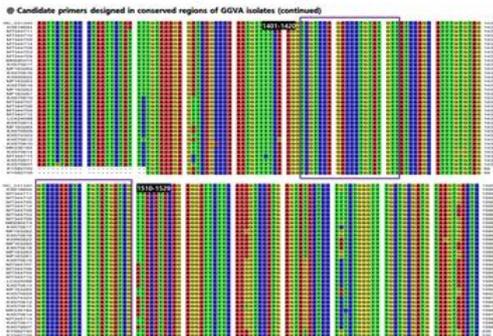
- 후보 프라이머의 설계



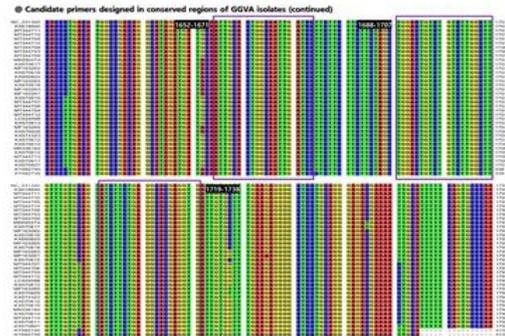
- 후보 프라이머의 설계(continued)



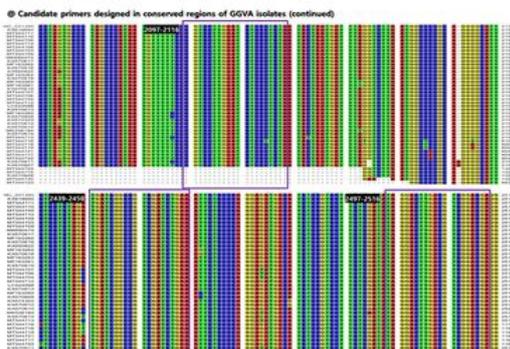
- 후보 프라이머의 설계(continued)



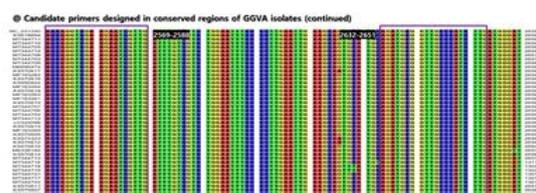
- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머 시퀀스의 blastn 분석

© Results of the NCBI BLASTn searches (primers for the diagnostics of GGVA)

Seq.	Accession	Length	Reference sequence	Similarity	Identity	E-value	NCBI
1	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
2	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
3	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
4	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
5	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
6	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
7	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
8	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
9	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
10	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
11	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
12	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
13	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
14	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
15	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
16	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
17	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
18	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
19	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA
20	AB011748.1 (GGVA)	1000	GGVA	100%	100%	0.00	GGVA

- 후보 프라이머 세트의 조합

© Combinations of diagnostic primers for the detection of GGVA infections

Seq.	Primer 1	Primer 2	Product Size (bp)	Reference
1	GGVA-F1	GGVA-R1	300	GGVA
2	GGVA-F1	GGVA-R2	400	GGVA
3	GGVA-F1	GGVA-R3	500	GGVA
4	GGVA-F1	GGVA-R4	600	GGVA
5	GGVA-F1	GGVA-R5	700	GGVA
6	GGVA-F1	GGVA-R6	800	GGVA
7	GGVA-F1	GGVA-R7	900	GGVA
8	GGVA-F1	GGVA-R8	1000	GGVA
9	GGVA-F1	GGVA-R9	1100	GGVA
10	GGVA-F1	GGVA-R10	1200	GGVA
11	GGVA-F1	GGVA-R11	1300	GGVA
12	GGVA-F1	GGVA-R12	1400	GGVA
13	GGVA-F1	GGVA-R13	1500	GGVA
14	GGVA-F1	GGVA-R14	1600	GGVA
15	GGVA-F1	GGVA-R15	1700	GGVA
16	GGVA-F1	GGVA-R16	1800	GGVA
17	GGVA-F1	GGVA-R17	1900	GGVA
18	GGVA-F1	GGVA-R18	2000	GGVA
19	GGVA-F1	GGVA-R19	2100	GGVA
20	GGVA-F1	GGVA-R20	2200	GGVA

- 설계된 후보 프라이머의 조합(PCR산물의 크기는 약 300-800 bp 범위가 될 수 있도록 조합) 후 이를 검증하기 위해서는 균주(타겟 바이러스 및 근연종)에 대한 특이성 테스트 및 검사품목에 대한 비특이적 산물 생성 여부 확인이 필요함
- 따라서, 해당 바이러스 검사법에 적용될 균주 및 검사품목(종자 및 식물체; 식물체의 경우 종자로 확보될 경우 온실에서 재배) 시료 확보
 - 타겟 균주: Grapevine geminivirus A (GGVA)
 - 비교 균주: Squash leaf curl virus (SLCV), Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), Watermelon chlorotic stunt virus (WmCSV), Wheat dwarf virus (WDV)
 - 품목(식물체): 포도 (Vitis vinifera)

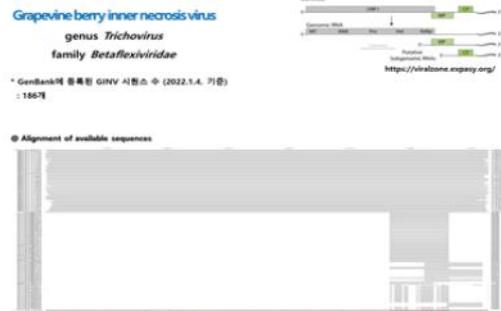
라) Grapevine berry inner necrosis virus (GINV) 중 특이적인 프라이머의 설계

- 현재 NCBI GenBank에서 활용가능한 186개의 GINV 시퀀스(2022년 1월 기준)를 이용하여 in silico 분석을 통한 후보 프라이머를 설계함
- 또한, NCBI blastn분석을 통해서 PCR검사법 후보 프라이머 시퀀스가 근연종 바이러스 및 기주식물 유래 시퀀스와의 matching 안정성 정도를 파악하였음

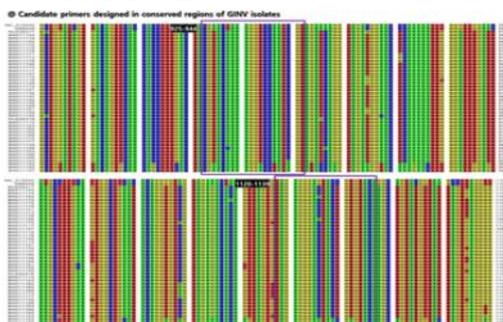
○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계
- 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
- 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(conserved region) 탐색
- Blastn 분석을 통한 프라이머의 타겟 바이러스 특이도 확인
- In vitro 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

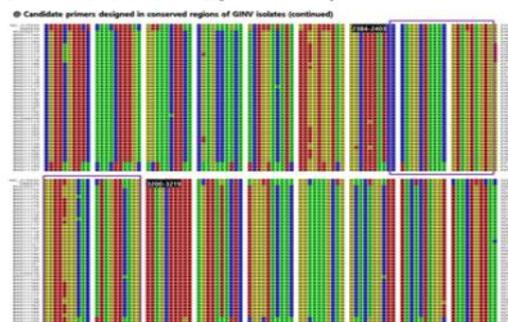
- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석



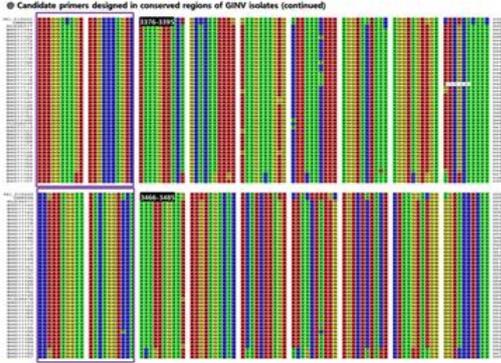
- 후보 프라이머의 설계



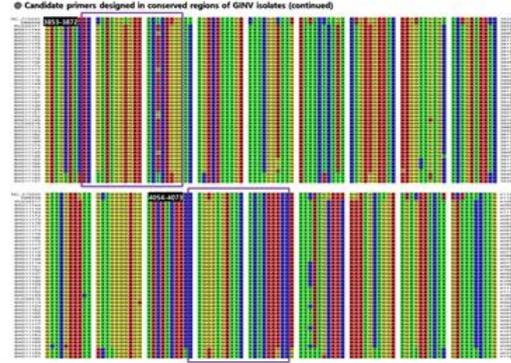
- 후보 프라이머의 설계(continued)



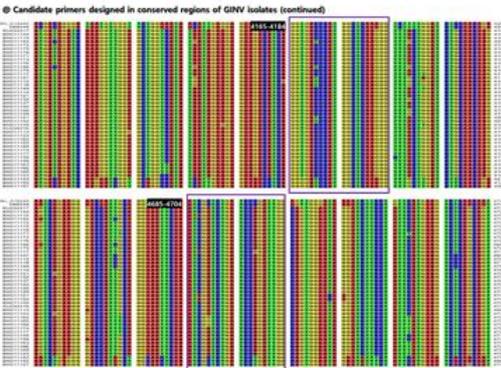
- 후보 프라이머의 설계(continued)



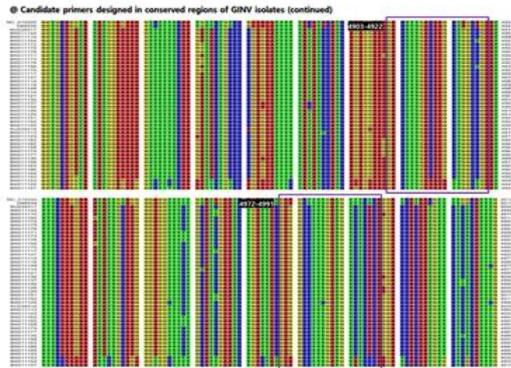
- 후보 프라이머의 설계(continued)



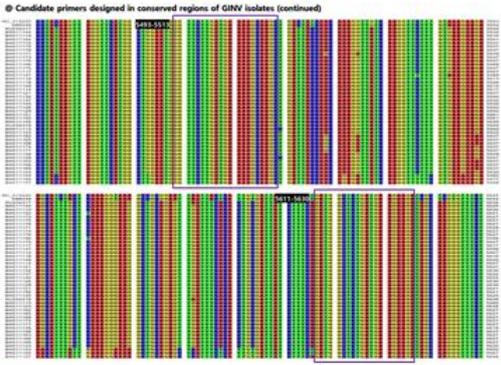
- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)



- 후보 프라이머 시퀀스의 blastn 분석

© Results of the NCBI BLASTn searches (primers for the diagnostics of GINV)

No.	Query sequence	Length	Results of the NCBI BLASTn searches				Ref.
			Subject description	The number of sequences	Identity (%)	Coverage (%)	
1	CG TACWTC ATTTT TTT TTT A TTTTCC TAAATACCTA GGTTATTG SACCTATAGA AG AAGGG CGACCTTTT SAGCTTAAA ATTA TAAAT AACTTAAAT CTATG AATAAATAT AATCT	824-844	2007	1	100	100	
			2007	1	100	100	
			2007	42	100	100	
2	ATTTTAAATTTA TTTTAAATTTTATCTAT ATTATTATTATA TTAATATATCTTCTAT ATTTTAAATTTA TTTTAAATTTTATCTAT ATTATTATTATA TTAATATATCTTCTAT	1029-1049	2007	1	100	100	
			2007	8	100	100	
			2007	29	100	100	
3	CTCTAAATTTT CAAATTAATTTTATCTAT CTCTAAATTTT CAAATTAATTTTATCTAT GAAAATTAATTTT CAAATTAATTTTATCTAT TAAATTTTCTA	1284-1304	2007	1	100	100	Zoonosis
			2007	42	100	100	
			2007	1	100	100	
4	GAAAATTTT CAAATTAATTTTATCTAT GAAAATTTT CAAATTAATTTTATCTAT GAAAATTTT CAAATTAATTTTATCTAT GAAAATTTT CAAATTAATTTTATCTAT	1309-1329	2007	1	100	100	
			2007	29	100	100	
			2007	1	100	100	
5	AAATTTT CAAATTAATTTTATCTAT AAATTTT CAAATTAATTTTATCTAT AAATTTT CAAATTAATTTTATCTAT AAATTTT CAAATTAATTTTATCTAT	1674-1694	2007	19	100	100	
			2007	74	100	100	
			2007	1	100	100	
6	CCATTAATTTTATCTAT CCATTAATTTTATCTAT CCATTAATTTTATCTAT CCATTAATTTTATCTAT	1439-1459	2007	19	100	100	Zoonosis
			2007	4	100	100	
			2007	1	100	100	
7	AATTTT CAAATTAATTTTATCTAT AATTTT CAAATTAATTTTATCTAT AATTTT CAAATTAATTTTATCTAT AATTTT CAAATTAATTTTATCTAT	1614-1634	2007	1	100	100	
			2007	18	100	100	
			2007	29	100	100	
8	CTAAATTTT CAAATTAATTTTATCTAT CTAAATTTT CAAATTAATTTTATCTAT CTAAATTTT CAAATTAATTTTATCTAT CTAAATTTT CAAATTAATTTTATCTAT	1674-1694	2007	1	100	100	
			2007	4	100	100	
			2007	1	100	100	
9	ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT	1339-1359	2007	42	100	100	Zoonosis
			2007	1	100	100	
			2007	1	100	100	
			2007	1	100	100	
			2007	1	100	100	Zoonosis
			2007	1	100	100	Zoonosis
			2007	1	100	100	Zoonosis
			2007	1	100	100	Zoonosis
			2007	1	100	100	Zoonosis
10	ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT	1634-1654	2007	1	100	100	Zoonosis
			2007	1	100	100	
			2007	1	100	100	
11	ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT	1614-1634	2007	1	100	100	
			2007	18	100	100	
			2007	1	100	100	
12	ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT	1674-1694	2007	1	100	100	Zoonosis
			2007	1	100	100	
			2007	1	100	100	
13	ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT	1634-1654	2007	18	100	100	
			2007	1	100	100	
			2007	1	100	100	
14	ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT	1634-1654	2007	42	100	100	Zoonosis
			2007	1	100	100	
			2007	1	100	100	
15	ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT ATTTTAAATTTTATCTAT	1634-1654	2007	18	100	100	Zoonosis
			2007	1	100	100	
			2007	1	100	100	

- 후보 프라이머 세트의 조합

© Combinations of diagnostic primers for the detection of GINV infections

Set	Sequence (5'-3')	Location	bp
1	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
2	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
3	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
4	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
5	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
6	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
7	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
8	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
9	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
10	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
11	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
12	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
13	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
14	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
15	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
16	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
17	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
18	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
19	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478
20	GGG-AGG-GTT-TGA-TGA-AAT-TGG CCG-TGG-GAT-TCC-CCG-TAT-TGT	3330-3338 3670-3680	478

* Positions of primers are based on the reference genome sequence (GenBank acc. no. NC_015329.2) (68688).

- 설계된 후보 프라이머의 조합(PCR산물의 크기는 약 300-800 bp 범위가 될 수 있도록 조합) 후 이를 검증하기 위해서는 균주(타겟 바이러스 및 근연종)에 대한 특이성 테스트 및 검사품목에 대한 비특이적 산물 생성 여부 확인이 필요함
- 따라서, 해당 바이러스 검사법에 적용될 균주 및 검사품목(종자 및 식물체; 식물체의 경우 종자로 확보될 경우 온실에서 재배) 시료 확보
 - 타겟 균주: Grapevine berry inner necrosis virus (GINV)
 - 비교 균주: Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV), Apple stem grooving virus (ASGV), Grapevine virus A (GVA), Grapevine virus B (GVB)
 - 품목(식물체): 포도 (*Vitis vinifera*)

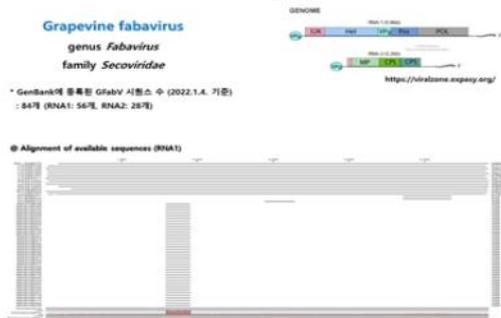
마) Grapevine fabavirus (GFabV) 종 특이적인 프라이머의 설계

- 현재 NCBI GenBank에서 활용가능한 84개의 GFabV 시퀀스(2022년 1월 기준)를 이용하여 in silico 분석을 통한 후보 프라이머를 설계함
- 또한, NCBI blastn분석을 통해서 PCR검사법 후보 프라이머 시퀀스가 근연종 바이러스 및 기주식물 유래 시퀀스와의 matching 안정성 정도를 파악하였음

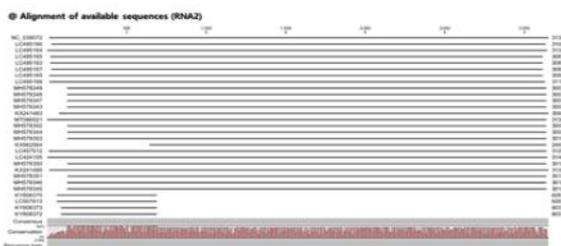
○ 후보 프라이머 세트의 설계 및 조합

- 모든 분리주를 포괄하며 특이성을 갖춘 프라이머의 설계
- 해당 바이러스의 모든 분리주 염기서열 수집
- 분리주 시퀀스 alignment를 통해 다양한 변이를 포괄할 수 있는 후보 프라이머 시퀀스 영역(conserved region) 탐색
- Blastn 분석을 통한 프라이머의 타겟 바이러스 특이도 확인
- In vitro 검증을 실시할 후보 프라이머 세트의 조합

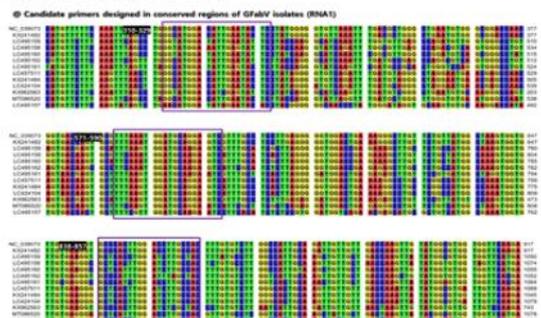
- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석



- 분리주 시퀀스의 확보 및 alignment 분석(continued)

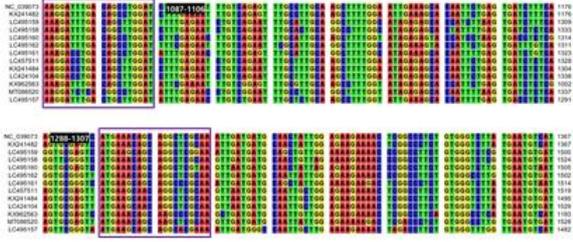


- 후보 프라이머의 설계



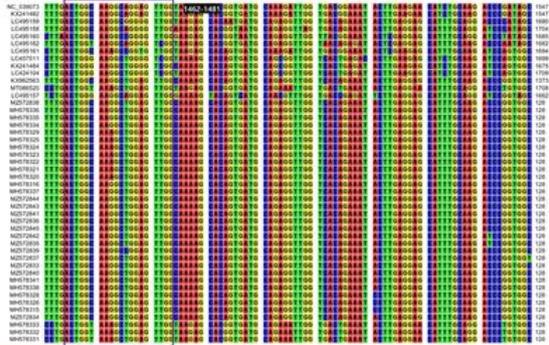
- 후보 프라이머의 설계(continued)

① Candidate primers designed in conserved regions of GfabV isolates (RNA1; continued)



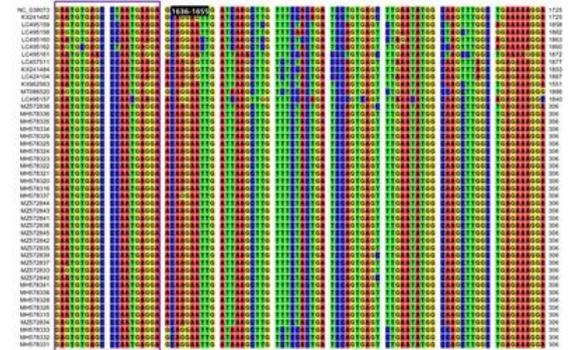
- 후보 프라이머의 설계(continued)

② Candidate primers designed in conserved regions of GfabV isolates (RNA1; continued)



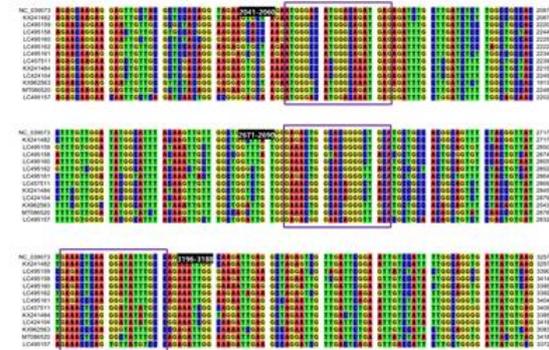
- 후보 프라이머의 설계(continued)

① Candidate primers designed in conserved regions of GfabV isolates (RNA1; continued)



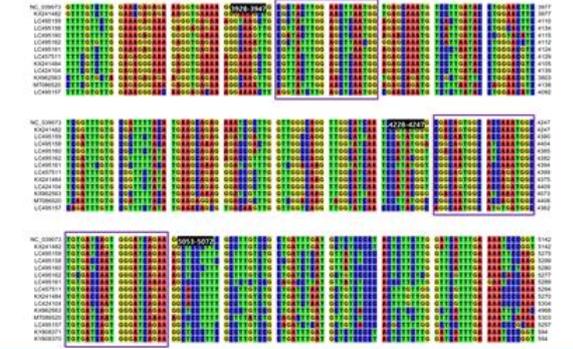
- 후보 프라이머의 설계(continued)

② Candidate primers designed in conserved regions of GfabV isolates (RNA1; continued)



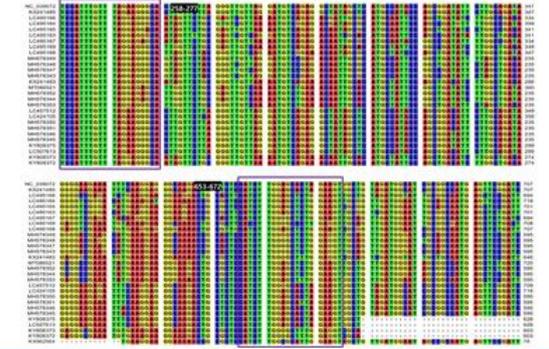
- 후보 프라이머의 설계(continued)

① Candidate primers designed in conserved regions of GfabV isolates (RNA1; continued)



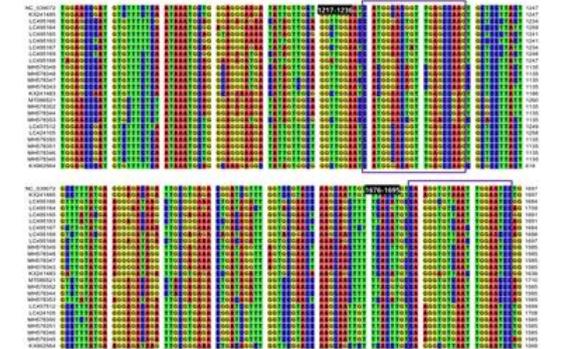
- 후보 프라이머의 설계(continued)

② Candidate primers designed in conserved regions of GfabV isolates (RNA2)



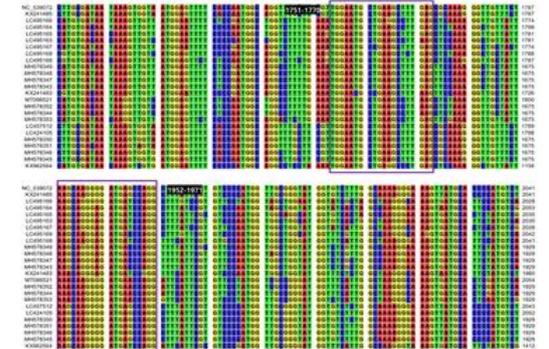
- 후보 프라이머의 설계(continued)

① Candidate primers designed in conserved regions of GfabV isolates (RNA2; continued)



- 후보 프라이머의 설계(continued)

② Candidate primers designed in conserved regions of GfabV isolates (RNA2; continued)



- 5종 검사대상 식물을 이용하여 3개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 2개 (no. 18, 34) 프라이머세트가 선발되었음
- AbMV 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머의 검증(4단계)
- Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 시료 확보 불가로 1단계 검증 생략함

○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

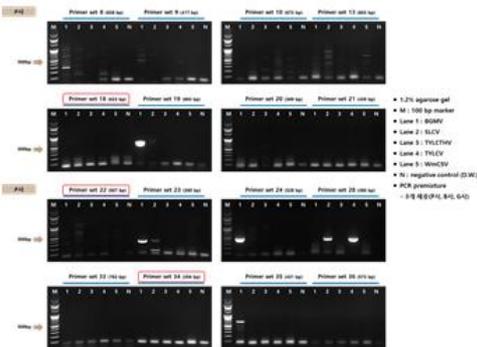
- 1단계 검증

◎ Validation of candidate primers designed for detection of AbMV

* Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 감염시료 확보 불가로 후보 프라이머 1단계 검증 생략

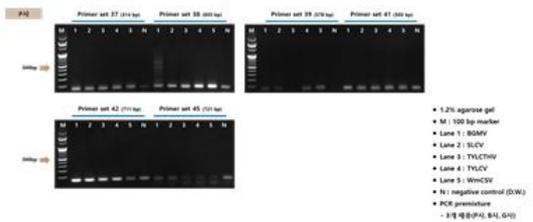
- 2단계 검증

◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses



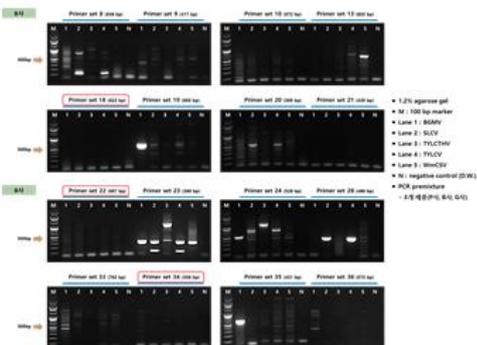
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses (continued)



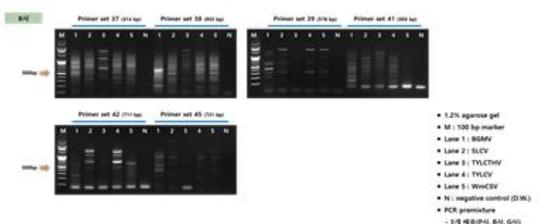
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses (continued)



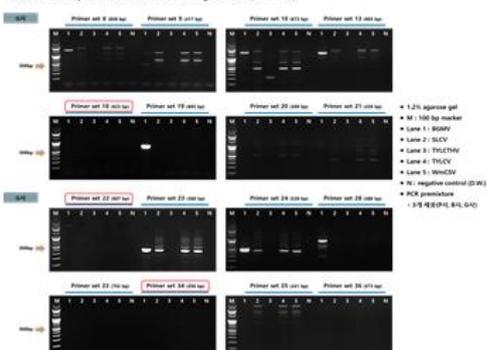
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses (continued)



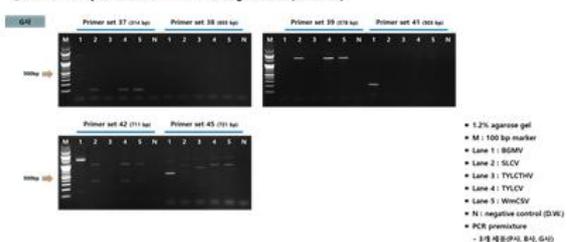
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses (continued)



- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses (continued)

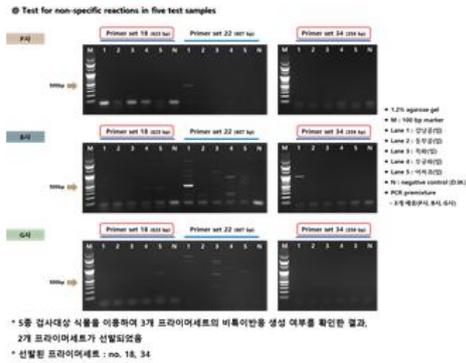


* 5종 근연 바이러스를 이용하여 22개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과,

3개 프라이머세트가 선발되었음

* 선발된 프라이머세트 : no. 18, 22, 34

- 3단계 검증



- 4단계 검증

◎ Concentration-dependent amplification test of the two finally selected primer sets

* Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 감염시료 확보 불가로 후보 프라이머 4단계 검증 생략

- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

Abutilon mosaic virus (AbMV)

1st screening test	2nd screening test	3rd screening test	4th screening test																																																																																																																																																
- Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 감염시료 확보 불가로 후보 프라이머 1단계 검증 생략	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Primer set</th> <th>P1</th> <th>P2</th> <th>결과</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>#18</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#19</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#20</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#21</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#22</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#23</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#24</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#25</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#26</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#27</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#28</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#29</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#30</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#31</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#32</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#33</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#34</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> </tbody> </table>	Primer set	P1	P2	결과	#18	X	X	X	#19	X	X	X	#20	X	X	X	#21	X	X	X	#22	X	X	X	#23	X	X	X	#24	X	X	X	#25	X	X	X	#26	X	X	X	#27	X	X	X	#28	X	X	X	#29	X	X	X	#30	X	X	X	#31	X	X	X	#32	X	X	X	#33	X	X	X	#34	X	X	X	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Primer set</th> <th>P1</th> <th>P2</th> <th>결과</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>#18</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td></tr> <tr><td>#19</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#20</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#21</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#22</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#23</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#24</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td></tr> <tr><td>#25</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#26</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#27</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#28</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#29</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#30</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#31</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#32</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#33</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#34</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> </tbody> </table>	Primer set	P1	P2	결과	#18	O	O	O	#19	X	X	X	#20	X	X	X	#21	X	X	X	#22	X	X	X	#23	X	X	X	#24	O	O	O	#25	X	X	X	#26	X	X	X	#27	X	X	X	#28	X	X	X	#29	X	X	X	#30	X	X	X	#31	X	X	X	#32	X	X	X	#33	X	X	X	#34	X	X	X	- Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 감염시료 확보 불가로 후보 프라이머 4단계 검증 생략
Primer set	P1	P2	결과																																																																																																																																																
#18	X	X	X																																																																																																																																																
#19	X	X	X																																																																																																																																																
#20	X	X	X																																																																																																																																																
#21	X	X	X																																																																																																																																																
#22	X	X	X																																																																																																																																																
#23	X	X	X																																																																																																																																																
#24	X	X	X																																																																																																																																																
#25	X	X	X																																																																																																																																																
#26	X	X	X																																																																																																																																																
#27	X	X	X																																																																																																																																																
#28	X	X	X																																																																																																																																																
#29	X	X	X																																																																																																																																																
#30	X	X	X																																																																																																																																																
#31	X	X	X																																																																																																																																																
#32	X	X	X																																																																																																																																																
#33	X	X	X																																																																																																																																																
#34	X	X	X																																																																																																																																																
Primer set	P1	P2	결과																																																																																																																																																
#18	O	O	O																																																																																																																																																
#19	X	X	X																																																																																																																																																
#20	X	X	X																																																																																																																																																
#21	X	X	X																																																																																																																																																
#22	X	X	X																																																																																																																																																
#23	X	X	X																																																																																																																																																
#24	O	O	O																																																																																																																																																
#25	X	X	X																																																																																																																																																
#26	X	X	X																																																																																																																																																
#27	X	X	X																																																																																																																																																
#28	X	X	X																																																																																																																																																
#29	X	X	X																																																																																																																																																
#30	X	X	X																																																																																																																																																
#31	X	X	X																																																																																																																																																
#32	X	X	X																																																																																																																																																
#33	X	X	X																																																																																																																																																
#34	X	X	X																																																																																																																																																

* 5종 검사대상 식물 이용
 * 22개 프라이머세트 검증
 * 3개 프라이머세트 선발

나) Fragaria chiloensis latent virus (FCILV) 후보 프라이머의 검증 및 선발

- FCILV 양성 및 음성 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(1단계)
 - Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 시료 확보 불가로 1단계 검증 생략함
- FCILV 근연종 바이러스를 이용한 후보 프라이머의 검증(2단계)
 - 5종 근연 바이러스를 이용하여 21개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 9개 (no. 19, 20, 26, 27, 28, 30, 31, 32, 34) 프라이머세트가 선발되었음
- FCILV 검사대상 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(3단계)
 - 1종 검사대상 식물을 이용하여 9개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 5개 (no. 19, 26, 28, 30, 34) 프라이머세트가 선발되었음
- FCILV 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머의 검증(4단계)
 - Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 시료 확보 불가로 1단계 검증 생략함

○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

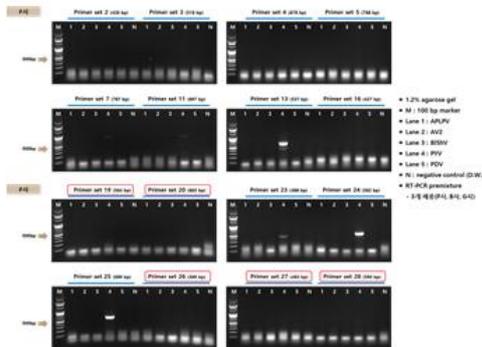
- 1단계 검증

◎ Validation of candidate primers designed for detection of FCILV

* Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 감염시료 확보 불가로 후보 프라이머 1단계 검증 생략

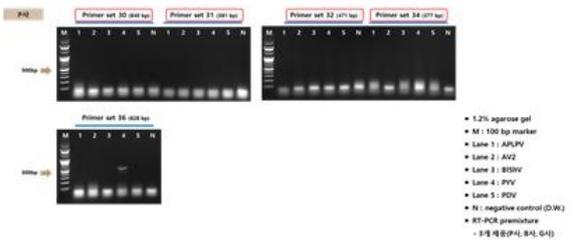
- 2단계 검증

◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses



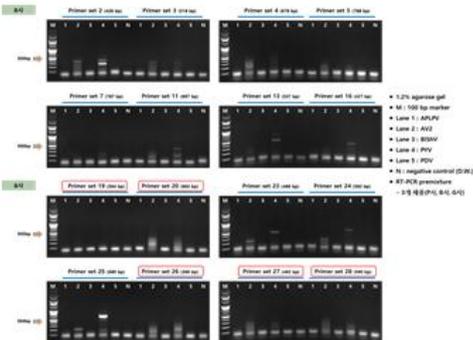
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses (continued)



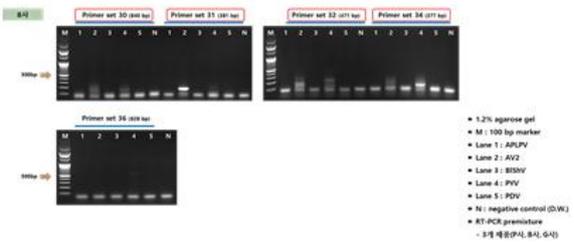
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses (continued)



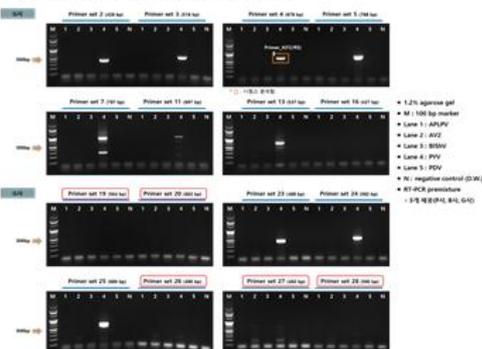
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses (continued)



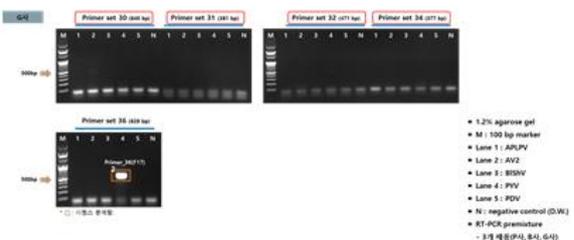
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses (continued)



- 2단계 검증(continued)

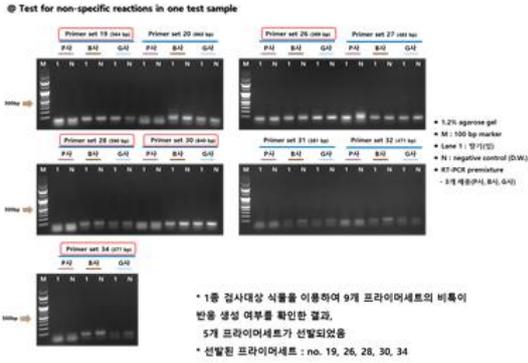
◎ Test for non-specific reactions in five non-target viruses (continued)



* 5종 근연 바이러스를 이용하여 21개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 9개 프라이머세트가 선발되었음

* 선발된 프라이머세트 : no. 19, 20, 26, 27, 28, 30, 31, 32, 34

- 3단계 검증



- 4단계 검증

◎ Concentration-dependent amplification test of the five finally selected primer sets

* Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 감염시료 확보 불가로 후보 프라이머 4단계 검증 생략

- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

Fragaria chiloensis latent virus (FCILV)

1st screening test	2nd screening test	3rd screening test	4th screening test																																																																																																																																																																																
- Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 감염시료 확보 불가로 후보 프라이머 1단계 검증 생략	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Primer set</th> <th>F1</th> <th>B/S</th> <th>G/S</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>#19</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#20</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#26</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#28</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#34</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#35</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#36</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#37</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#38</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#39</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#40</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#41</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#42</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#43</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#44</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#45</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#46</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#47</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#48</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#49</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#50</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> </tbody> </table>	Primer set	F1	B/S	G/S	#19	○	○	○	#20	○	○	○	#26	○	○	○	#28	○	○	○	#34	○	○	○	#35	○	○	○	#36	○	○	○	#37	○	○	○	#38	○	○	○	#39	○	○	○	#40	○	○	○	#41	○	○	○	#42	○	○	○	#43	○	○	○	#44	○	○	○	#45	○	○	○	#46	○	○	○	#47	○	○	○	#48	○	○	○	#49	○	○	○	#50	○	○	○	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Primer set</th> <th>F1</th> <th>B/S</th> <th>G/S</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>#19</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#20</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#26</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#28</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#34</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#35</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#36</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#37</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#38</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#39</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#40</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#41</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#42</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#43</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#44</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#45</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#46</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#47</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#48</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#49</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> <tr><td>#50</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr> </tbody> </table>	Primer set	F1	B/S	G/S	#19	○	○	○	#20	○	○	○	#26	○	○	○	#28	○	○	○	#34	○	○	○	#35	○	○	○	#36	○	○	○	#37	○	○	○	#38	○	○	○	#39	○	○	○	#40	○	○	○	#41	○	○	○	#42	○	○	○	#43	○	○	○	#44	○	○	○	#45	○	○	○	#46	○	○	○	#47	○	○	○	#48	○	○	○	#49	○	○	○	#50	○	○	○	- Agdia, DSMZ, ATCC 등 자원기관으로부터 감염시료 확보 불가로 후보 프라이머 1단계 검증 생략
Primer set	F1	B/S	G/S																																																																																																																																																																																
#19	○	○	○																																																																																																																																																																																
#20	○	○	○																																																																																																																																																																																
#26	○	○	○																																																																																																																																																																																
#28	○	○	○																																																																																																																																																																																
#34	○	○	○																																																																																																																																																																																
#35	○	○	○																																																																																																																																																																																
#36	○	○	○																																																																																																																																																																																
#37	○	○	○																																																																																																																																																																																
#38	○	○	○																																																																																																																																																																																
#39	○	○	○																																																																																																																																																																																
#40	○	○	○																																																																																																																																																																																
#41	○	○	○																																																																																																																																																																																
#42	○	○	○																																																																																																																																																																																
#43	○	○	○																																																																																																																																																																																
#44	○	○	○																																																																																																																																																																																
#45	○	○	○																																																																																																																																																																																
#46	○	○	○																																																																																																																																																																																
#47	○	○	○																																																																																																																																																																																
#48	○	○	○																																																																																																																																																																																
#49	○	○	○																																																																																																																																																																																
#50	○	○	○																																																																																																																																																																																
Primer set	F1	B/S	G/S																																																																																																																																																																																
#19	○	○	○																																																																																																																																																																																
#20	○	○	○																																																																																																																																																																																
#26	○	○	○																																																																																																																																																																																
#28	○	○	○																																																																																																																																																																																
#34	○	○	○																																																																																																																																																																																
#35	○	○	○																																																																																																																																																																																
#36	○	○	○																																																																																																																																																																																
#37	○	○	○																																																																																																																																																																																
#38	○	○	○																																																																																																																																																																																
#39	○	○	○																																																																																																																																																																																
#40	○	○	○																																																																																																																																																																																
#41	○	○	○																																																																																																																																																																																
#42	○	○	○																																																																																																																																																																																
#43	○	○	○																																																																																																																																																																																
#44	○	○	○																																																																																																																																																																																
#45	○	○	○																																																																																																																																																																																
#46	○	○	○																																																																																																																																																																																
#47	○	○	○																																																																																																																																																																																
#48	○	○	○																																																																																																																																																																																
#49	○	○	○																																																																																																																																																																																
#50	○	○	○																																																																																																																																																																																
		<ul style="list-style-type: none"> - 1종 검사대상 식물 이용 - 9개 프라이머세트 검증 - 5개 프라이머세트 선발 																																																																																																																																																																																	
	<ul style="list-style-type: none"> - 5종 근연바이러스 이용 - 21개 프라이머세트 검증 - 9개 프라이머세트 선발 																																																																																																																																																																																		

- 다) Grapevine geminivirus A (GGVA) 후보 프라이머의 검증 및 선발
 - GGVA 양성 및 음성 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(1단계)
 - GGVA감염 시료를 이용하여 22개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 22개 (no. 1~6, 8~23) 프라이머세트가 선발되었음
 - GGVA 근연종 바이러스를 이용한 후보 프라이머의 검증(2단계)
 - 4종 근연 바이러스를 이용하여 22개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 3개 (no. 16, 17, 18) 프라이머세트가 선발되었음
 - GGVA 검사대상 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(3단계)
 - 1종 검사대상 식물을 이용하여 3개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 3개 (no. 16, 17, 18) 프라이머세트가 선발되었음
 - GGVA 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머의 검증(4단계)
 - 최종 선발된 모든 프라이머 세트는 핵산(total RNA) 농도 10-3 ng에서도 타겟 밴드를 확인할 수 있는 정도의 높은 감도를 보임

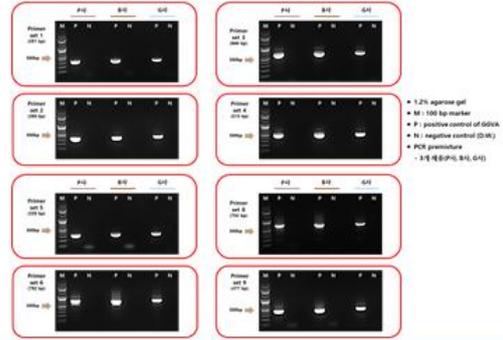
○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

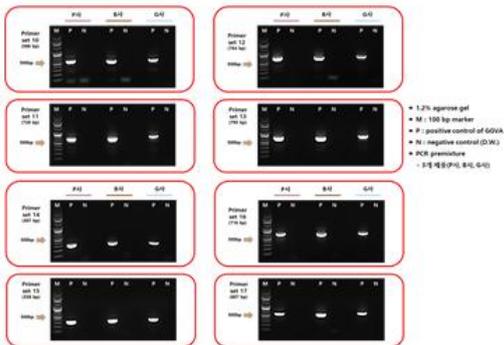
- 1단계 검증

◎ Validation of candidate primers designed for detection of GGVA



- 1단계 검증(continued)

◎ Validation of candidate primers designed for detection of GGVA (continued)



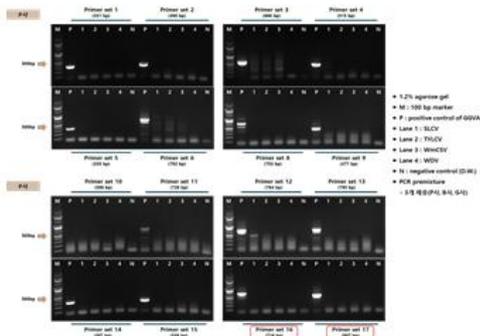
- 1단계 검증(continued)

◎ Validation of candidate primers designed for detection of GGVA (continued)



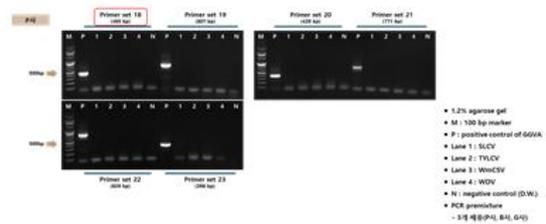
- 2단계 검증

◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses



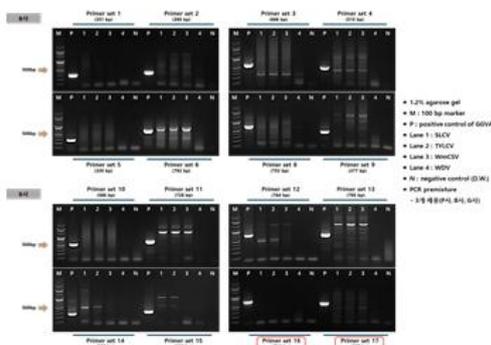
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses (continued)



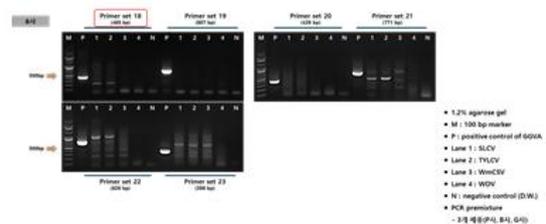
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses (continued)



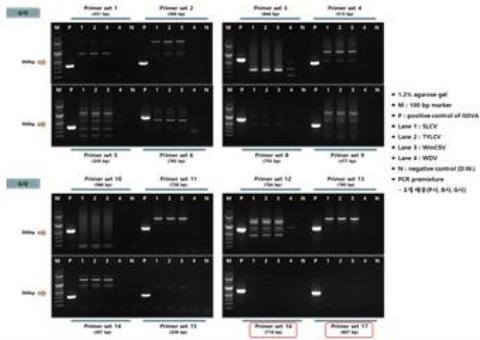
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses (continued)



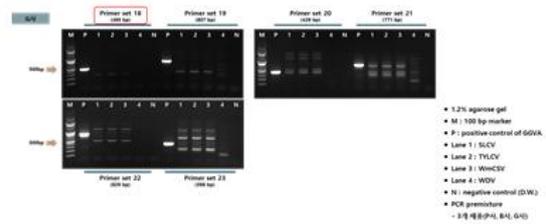
- 2단계 검증(continued)

◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses (continued)



- 2단계 검증(continued)

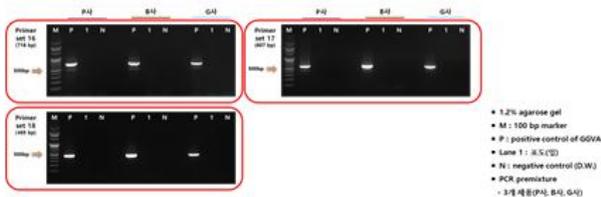
◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses (continued)



* 4종 근연 바이러스를 이용하여 22개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 3개 프라이머세트가 선발되었음
 * 선발된 프라이머세트 : no. 16, 17, 18

- 3단계 검증

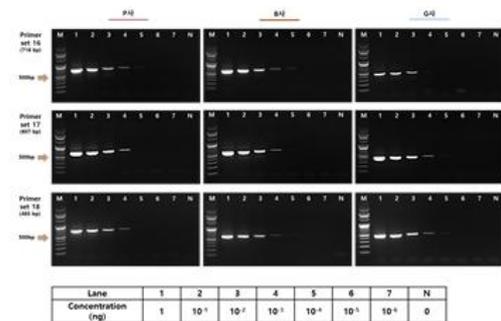
◎ Test for non-specific reactions in one test sample



* 1종 검사대상 식물을 이용하여 3개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 3개 프라이머세트가 선발되었음
 * 선발된 프라이머세트 : no. 16, 17, 18

- 4단계 검증

◎ Concentration-dependent amplification test of the three finally selected primer sets



- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

Grapevine geminivirus (GGVA)

1st screening test				2nd screening test				3rd screening test				4th screening test			
Primer set	PS	B	G	Primer set	PS	B	G	Primer set	PS	B	G	Primer set	PS	B	G
#1	○	○	○	#1	○	○	○	#10	○	○	○	#17	○	○	○
#2	○	○	○	#2	○	○	○	#11	○	○	○	#18	○	○	○
#3	○	○	○	#3	○	○	○	#12	○	○	○	#19	○	○	○
#4	○	○	○	#4	○	○	○	#13	○	○	○	#20	○	○	○
#5	○	○	○	#5	○	○	○	#14	○	○	○	#21	○	○	○
#6	○	○	○	#6	○	○	○	#15	○	○	○	#22	○	○	○
#7	○	○	○	#7	○	○	○	#16	○	○	○	#23	○	○	○
#8	○	○	○	#8	○	○	○	#17	○	○	○	#24	○	○	○
#9	○	○	○	#9	○	○	○	#18	○	○	○	#25	○	○	○
#10	○	○	○	#10	○	○	○	#19	○	○	○	#26	○	○	○
#11	○	○	○	#11	○	○	○	#20	○	○	○	#27	○	○	○
#12	○	○	○	#12	○	○	○	#21	○	○	○	#28	○	○	○
#13	○	○	○	#13	○	○	○	#22	○	○	○	#29	○	○	○
#14	○	○	○	#14	○	○	○	#23	○	○	○	#30	○	○	○
#15	○	○	○	#15	○	○	○	#24	○	○	○	#31	○	○	○
#16	○	○	○	#16	○	○	○	#25	○	○	○	#32	○	○	○
#17	○	○	○	#17	○	○	○	#26	○	○	○	#33	○	○	○
#18	○	○	○	#18	○	○	○	#27	○	○	○	#34	○	○	○
#19	○	○	○	#19	○	○	○	#28	○	○	○	#35	○	○	○
#20	○	○	○	#20	○	○	○	#29	○	○	○	#36	○	○	○
#21	○	○	○	#21	○	○	○	#30	○	○	○	#37	○	○	○
#22	○	○	○	#22	○	○	○	#31	○	○	○	#38	○	○	○
#23	○	○	○	#23	○	○	○	#32	○	○	○	#39	○	○	○

- 1종 검사대상 식물 이용
 - 23개 프라이머세트 검증
 - 22개 프라이머세트 선발

- 4종 근연바이러스 이용
 - 22개 프라이머세트 검증
 - 3개 프라이머세트 선발

- 10⁻¹ 이하의 핵산 (total RNA) 농도에서도 진단됨

- 라) Grapevine berry inner necrosis virus (GINV) 후보 프라이머의 검증 및 선발
 - GINV 양성 및 음성 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(1단계)
 - GINV감염 시료를 이용하여 13개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 4개 (no. 17, 18, 19, 20) 프라이머세트가 선발되었음
 - GINV 근연종 바이러스를 이용한 후보 프라이머의 검증(2단계)
 - 4종 근연 바이러스를 이용하여 4개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 2개 (no. 19, 20) 프라이머세트가 선발되었음
 - GINV 검사대상 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(3단계)
 - 1종 검사대상 식물을 이용하여 2개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 2개 (no. 19, 20) 프라이머세트가 선발되었음
 - GINV 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머의 검증(4단계)

- 최종 선발된 모든 프라이머 세트는 핵산(total RNA) 농도 10-1 ng에서도 타겟 밴드를 확인할 수 있는 정도의 높은 감도를 보임

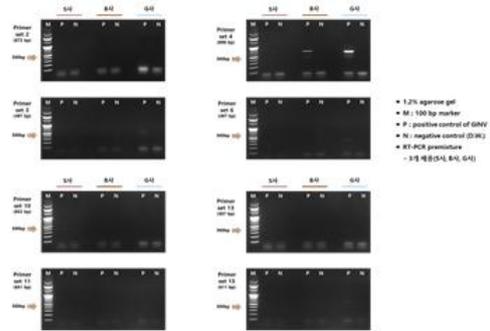
○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

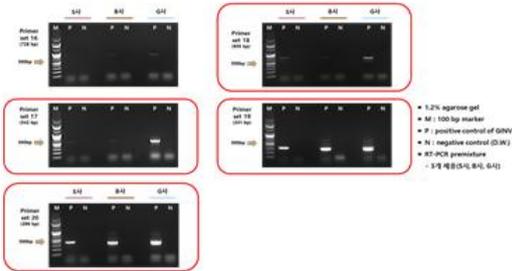
- 1단계 검증

◎ Validation of candidate primers designed for detection of GINV



- 1단계 검증(continued)

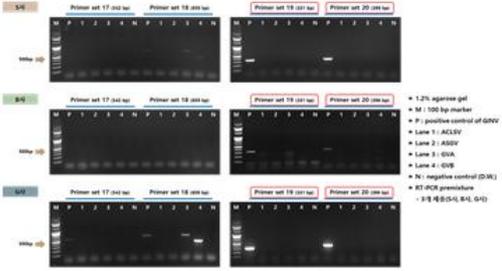
◎ Validation of candidate primers designed for detection of GINV (continued)



* GINV 감염 시료를 이용하여 13개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 4개 프라이머세트가 선발됨
* 선발된 프라이머세트 : no. 17, 18, 19, 20

- 2단계 검증

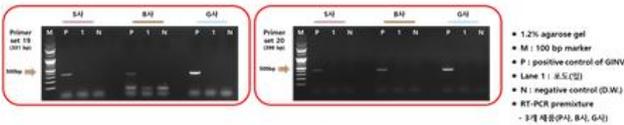
◎ Test for non-specific reactions in four non-target viruses



* 4종 근연 바이러스를 이용하여 4개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 2개 프라이머세트가 선발되었음
* 선발된 프라이머세트 : no. 19, 20

- 3단계 검증

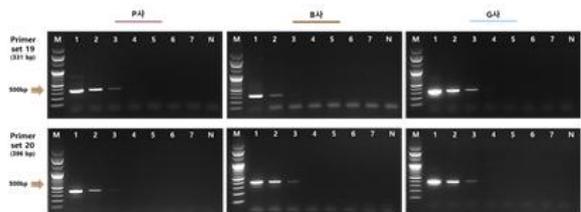
◎ Test for non-specific reactions in one test sample



* 1종 검사대상 식물을 이용하여 2개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 2개 프라이머세트가 선발되었음
* 선발된 프라이머세트 : no. 19, 20

- 4단계 검증

◎ Concentration-dependent amplification test of the two finally selected primer sets



Lane	1	2	3	4	5	6	7	N
Concentration (ng)	10	1	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	0

- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

Grapevine berry inner necrosis virus (GINV)

1st screening test	2nd screening test	3rd screening test	4th screening test																																																																																																																																																																
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Primer set</th> <th>P</th> <th>N</th> <th>B4</th> <th>G4</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>#1</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#2</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#3</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#4</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#5</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#6</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#7</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#8</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#9</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#10</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#11</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#12</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#13</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#14</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#15</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#16</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#17</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td></tr> <tr><td>#18</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td></tr> <tr><td>#19</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td></tr> <tr><td>#20</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td></tr> </tbody> </table>	Primer set	P	N	B4	G4	#1	X	X	X	X	#2	X	X	X	X	#3	X	X	X	X	#4	X	X	X	X	#5	X	X	X	X	#6	X	X	X	X	#7	X	X	X	X	#8	X	X	X	X	#9	X	X	X	X	#10	X	X	X	X	#11	X	X	X	X	#12	X	X	X	X	#13	X	X	X	X	#14	X	X	X	X	#15	X	X	X	X	#16	X	X	X	X	#17	O	O	O	O	#18	O	O	O	O	#19	O	O	O	O	#20	O	O	O	O	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Primer set</th> <th>P</th> <th>N</th> <th>B4</th> <th>G4</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>#11</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#15</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td><td>X</td></tr> <tr><td>#19</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td></tr> <tr><td>#20</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td></tr> </tbody> </table>	Primer set	P	N	B4	G4	#11	X	X	X	X	#15	X	X	X	X	#19	O	O	O	O	#20	O	O	O	O	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Primer set</th> <th>P</th> <th>N</th> <th>B4</th> <th>G4</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>#19</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td></tr> <tr><td>#20</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td></tr> </tbody> </table>	Primer set	P	N	B4	G4	#19	O	O	O	O	#20	O	O	O	O	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Primer set</th> <th>P</th> <th>N</th> <th>B4</th> <th>G4</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>#19</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td></tr> <tr><td>#20</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td><td>O</td></tr> </tbody> </table>	Primer set	P	N	B4	G4	#19	O	O	O	O	#20	O	O	O	O
Primer set	P	N	B4	G4																																																																																																																																																															
#1	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#2	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#3	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#4	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#5	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#6	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#7	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#8	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#9	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#10	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#11	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#12	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#13	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#14	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#15	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#16	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#17	O	O	O	O																																																																																																																																																															
#18	O	O	O	O																																																																																																																																																															
#19	O	O	O	O																																																																																																																																																															
#20	O	O	O	O																																																																																																																																																															
Primer set	P	N	B4	G4																																																																																																																																																															
#11	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#15	X	X	X	X																																																																																																																																																															
#19	O	O	O	O																																																																																																																																																															
#20	O	O	O	O																																																																																																																																																															
Primer set	P	N	B4	G4																																																																																																																																																															
#19	O	O	O	O																																																																																																																																																															
#20	O	O	O	O																																																																																																																																																															
Primer set	P	N	B4	G4																																																																																																																																																															
#19	O	O	O	O																																																																																																																																																															
#20	O	O	O	O																																																																																																																																																															

- GINV 감염 시료 이용
- 13개 프라이머세트 검증
- 6개 프라이머세트 선발

- 1종 검사대상 식물 이용
- 2개 프라이머세트 검증
- 2개 프라이머세트 선발

- 10⁻¹ 이하의 핵산 (total RNA) 농도에서도 진단됨

- 마) Grapevine fabavirus (GFabV) 후보 프라이머의 검증 및 선발
- GFabV 양성 및 음성 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(1단계)
 - GFabV감염 시료를 이용하여 21개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 7개 (no. 4, 5, 6, 8, 9, 13, 22) 프라이머세트가 선발되었음
 - GFabV 근연종 바이러스를 이용한 후보 프라이머의 검증(2단계)
 - 2종 근연 바이러스를 이용하여 7개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 2개 (no. 5, 8) 프라이머세트가 선발되었음
 - GFabV 검사대상 시료를 이용한 후보 프라이머의 검증(3단계)
 - 1종 검사대상 식물을 이용하여 2개 프라이머세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 2개 (no. 5, 8) 프라이머세트가 선발되었음
 - GFabV 감염시료 핵산(total RNA) 농도에 따른 선발 프라이머의 검증(4단계)
 - 최종 선발된 모든 프라이머 세트는 핵산(total RNA) 농도 1 ng에서도 타겟 밴드를 확인할 수 있는 정도의 높은 감도를 보임

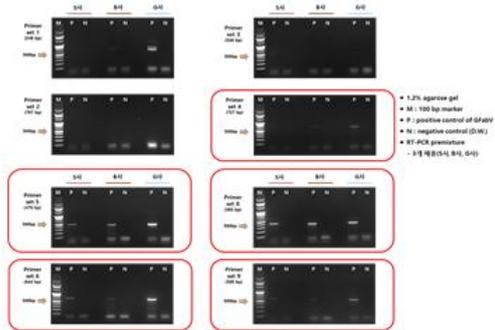
○ 후보 프라이머 세트의 검증 및 선발

- 특이도 및 민감도 검증을 통한 최적 프라이머 세트의 선발

- 1단계 검증 : 대상 바이러스와의 특이적 반응 여부 확인
- 2단계 검증 : 근연종 바이러스들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 3단계 검증 : 검사 대상 품목들과의 비특이적 반응 여부 확인
- 4단계 검증 : 핵산 농도 구배 테스트를 통한 최종 선발 프라이머 세트들의 민감도 확인

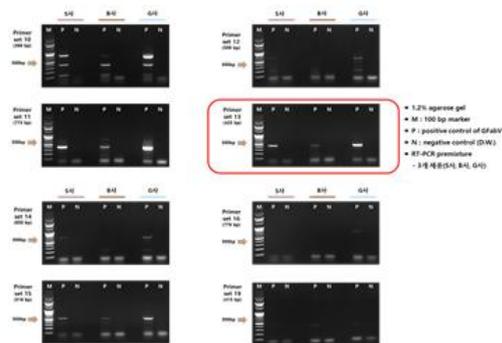
- 1단계 검증

◎ Validation of candidate primers designed for detection of GFabV



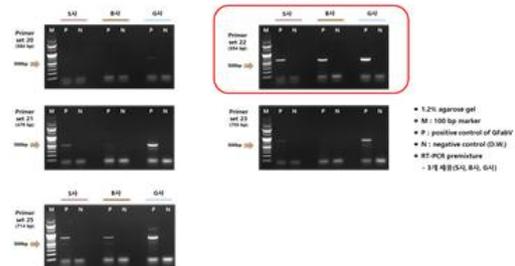
- 1단계 검증(continued)

◎ Validation of candidate primers designed for detection of GFabV (continued)



- 1단계 검증(continued)

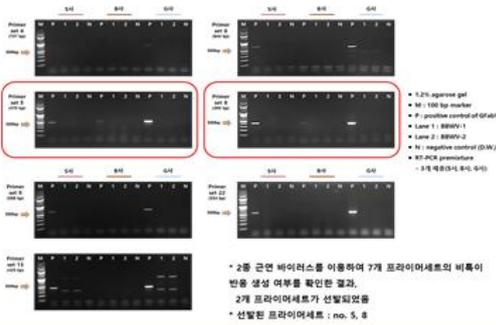
◎ Validation of candidate primers designed for detection of GFabV (continued)



* GFabV감염 시료를 이용하여 21개 후보 프라이머세트를 검증한 결과, 7개 프라이머세트가 선발됨
 * 선발된 프라이머세트 : no. 4, 5, 6, 8, 9, 13, 22

- 2단계 검증

Test for non-specific reactions in two non-target viruses



- 3단계 검증

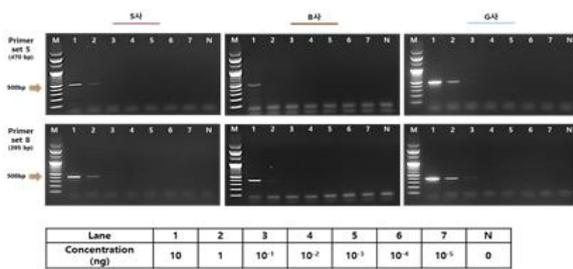
Test for non-specific reactions in one test sample



* 1중 검사대상 식물을 이용하여 2개 프라이머 세트의 비특이반응 생성 여부를 확인한 결과, 2개 프라이머 세트가 선발되었음
 * 선발된 프라이머 세트 : no. 5, 8

- 4단계 검증

Concentration-dependent amplification test of the two finally selected primer sets



- 후보 프라이머 세트 검증의 단계별 결과 요약

Grapevine fabavirus (GFAV)

1st screening test				2nd screening test				3rd screening test				4th screening test					
Primer set	P1	P2	Q	P1	P2	Q	Q	Primer set	P1	P2	Q	Q	Primer set	P1	P2	Q	Q
#1	X	X	X	#1	O	X	O	#1	O	O	O	O	#1	O	O	O	O
#2	O	X	X	#2	O	O	O	#2	O	O	O	O	#2	O	O	O	O
#3	O	O	X	#3	O	O	O	#3	O	O	O	O	#3	O	O	O	O
#4	O	O	O	#4	O	O	O	#4	O	O	O	O	#4	O	O	O	O
#5	O	O	O	#5	O	O	O	#5	O	O	O	O	#5	O	O	O	O
#6	O	O	O	#6	O	O	O	#6	X	X	X	X	#6	X	X	X	X
#7	O	O	O	#7	O	O	O	#7	O	O	O	O	#7	O	O	O	O
#8	O	O	O	#8	O	O	O	#8	O	O	O	O	#8	O	O	O	O
#9	O	O	O	#9	O	O	O	#9	O	O	O	O	#9	O	O	O	O
#10	O	O	O	#10	O	O	O	#10	O	O	O	O	#10	O	O	O	O
#11	X	X	X	#11	O	O	O	#11	O	O	O	O	#11	O	O	O	O
#12	O	X	X	#12	O	X	O	#12	O	X	O	O	#12	O	X	O	O
#13	O	X	X	#13	O	X	O	#13	O	X	O	O	#13	O	X	O	O
#14	O	X	X	#14	O	X	O	#14	O	X	O	O	#14	O	X	O	O
#15	O	X	X	#15	O	X	O	#15	O	X	O	O	#15	O	X	O	O
#16	O	X	X	#16	O	X	O	#16	O	X	O	O	#16	O	X	O	O
#17	O	X	X	#17	O	X	O	#17	O	X	O	O	#17	O	X	O	O
#18	O	X	X	#18	O	X	O	#18	O	X	O	O	#18	O	X	O	O
#19	O	X	X	#19	O	X	O	#19	O	X	O	O	#19	O	X	O	O
#20	O	X	X	#20	O	X	O	#20	O	X	O	O	#20	O	X	O	O
#21	O	X	X	#21	O	X	O	#21	O	X	O	O	#21	O	X	O	O
#22	O	X	X	#22	O	X	O	#22	O	X	O	O	#22	O	X	O	O
#23	O	X	X	#23	O	X	O	#23	O	X	O	O	#23	O	X	O	O
#24	O	X	X	#24	O	X	O	#24	O	X	O	O	#24	O	X	O	O
#25	O	X	X	#25	O	X	O	#25	O	X	O	O	#25	O	X	O	O

- 1중 검사대상 식물 이용
 - 2개 프라이머 세트 검증
 - 2개 프라이머 세트 선발

- 1중 근연바이러스 이용
 - 7개 프라이머 세트 검증
 - 2개 프라이머 세트 선발

- 10⁻⁴ 이하의 역전 (basal RNA) 농도에서도 진단됨

- GFAV 감염 시료 이용
 - 21개 프라이머 세트 검증
 - 7개 프라이머 세트 선발

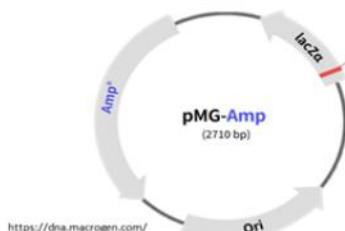
3) 5종 식물바이러스 PCR검사법에 활용 가능한 양성대조군 클론의 개발 및 검증

대상: '22년 연구 대상 5종 바이러스(Abutilon mosaic virus, Fragaria chiloensis latent virus, Grapevine geminivirus A, Grapevine berry inner necrosis virus, Grapevine fabavirus)에 대한 최종 선발된 PCR 검사법용 프라이머 세트

연구방법: DNA 합성기술을 활용하여 최종 선발된 모든 프라이머 세트에 동시 이용 가능한 클론 설계

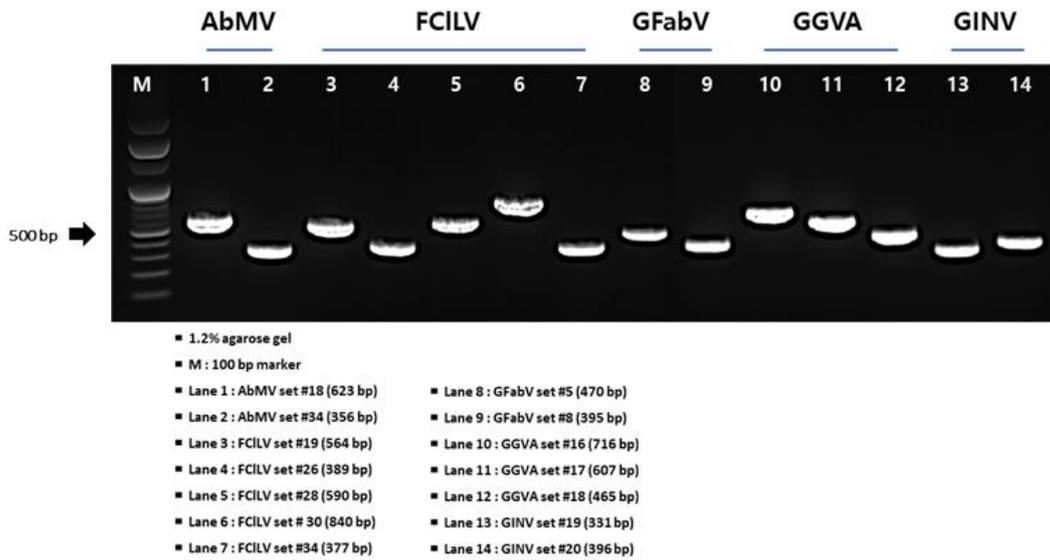
가) 5종 식물바이러스 PCR검사법에 활용 가능한 '묶음형 양성대조군 클론'의 설계

- 하나의 '묶음형 양성대조군 클론'으로 최종 선발된 14개 프라이머 세트에 활용이 가능하도록 설계됨



Vector : pMG-Amp (2,710 bp)
 Insert length : 915 bp
 Total length : 3,625 bp

나) 5종 식물바이러스 PCR검사법에 활용 가능한 ‘뭉음형 양성대조군 클론’의 검증
 - 하나의 ‘뭉음형 양성대조군 클론’으로 최종 선발된 14개 프라이머 세트에 활용이 가능한지에 대한 검증 결과, 모든 프라이머 세트에 대해서 잘 작동되었음



2-2. 제1협동 연구 수행 과정 및 수행 내용 [서울여자대학교 산학협력단]

<1차년도 연구내용>

- 1) 기존 검사법(프라이머)에 대한 유전자 기반 적정성 검토
 - 가) 바이러스 6종에 대한 최신 유전자 정보 확보

[표] 바이러스 6종에 대한 최신 유전자 정보

바이러스	유전자 정보 (NCBI accession no.)
APMoV	APMoV C NC_038744, APMoV Huancayo MN148892, APMoV Lm MN176102, APMoV PV-0057 KJ746645, APMoV VP22 M81775, APMoV VP42 M83536
CSNV	CSNV PD4412741 NC_027719, CSNV HiCh06A L1 AB600873, CSNV Kr LC126118, CSNV NIB-V38 MF093685, CSNV TcCh07 KF493771
INSV	INSV NC_003624, INSV Basil-A KX790323, INSV HDL GU112504, INSV J AB109100, INSV Pepe LC384872, INSV Phalaenopsis GQ336989, INSV YSMi-SH FN400773, YSMi-WX FN400772
IYSV	IYSV NC_029800, IYSV KC_122192, IYSV 302-12 JX861126, IYSV 622-SRB EU750697, IYSV AA0A-Onion MG676230, IYSV Brooks JQ973064, IYSV Egyptian KT225547, IYSV On-Cbt EU310291, IYSV onion FJ785835, IYSV LeIM MF431885
PMTV	PMTV Sw NC_003724, PMTV CO2 KR857353, PMTV CO3 KR857356, PMTV CO5 KR857362, PMTV Idaho 264 MK539874, PMTV J21_P106 KU955494, PMTV Maine MK539870, PMTV Maryland KY284863
TNV	TNV-D Hungarian NC_003487, TNV-D Manitoban MF158986, TNV-D DP FJ666328

미국 국립생물정보센터(National Center for Biotechnology Information, NCBI)에 등록된 6종 바이러스(APMoV, CSNV, INSV, IYSV, PMTV, TNV)들의 염기서열들을[표]와 같이 확보함. 확보된 6종 바이러스들의 염기서열들은 기존 검사법에서 사용되고 있는 프라이머들의 염기서열들과 비교하여 프라이머의 적정성을 확인하는 데 활용되었음.

나) *In silico* 기반 분석을 통한 프라이머 적정성 점검

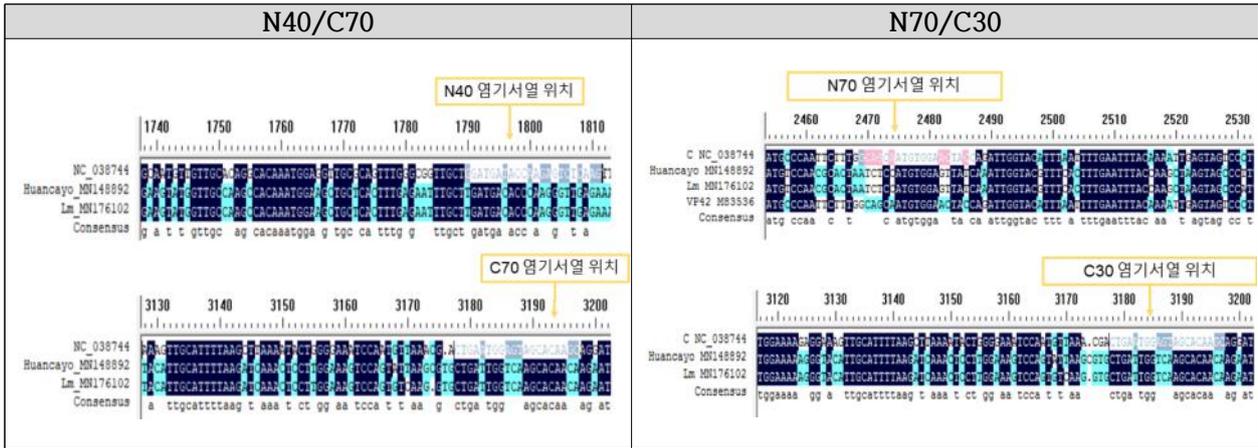
[표] 6종 바이러스들에 대한 기존 검사법에서 사용되고 있는 프라이머 정보

바이러스	점검대상 검사법(프라이머)	
	프라이머수	프라이머명
APMoV	2세트	APMoV-C70/N40, APMoV-C30/N70
CSNV	3	CSNV-N5/N3, CSNV-UP1/LO1, CSNV-UP2/LO2
INSV	8	INcpF(B) 602-F/R, INS 395-F/R, INncp A 348-F/R, Inncp 341 F/R, INSV_F6/R2, INSV_F2/R4, INSV_F1/R3, INSV_F1/R5
IYSV	2	IYS-C60/N10, IYS-C40/N30
PMTV	2	PMT-C60/N40, PMT-C50/N50
TNV	1	TNV-PN1/PC2

APMoV 프라이머 적정성 검증

[표] APMoV 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	중폭크기 (bp)
Andean potato mottle virus (APMoV)	N40	GGATGATACCAAGAGTCTCAAG	315
	C70	CACACAACGCTTTCTTCAG	
	N70	GCAGCAATGTGGAACCTACC	732
	C30	GCTTGTGCTACTCCATTCAG	



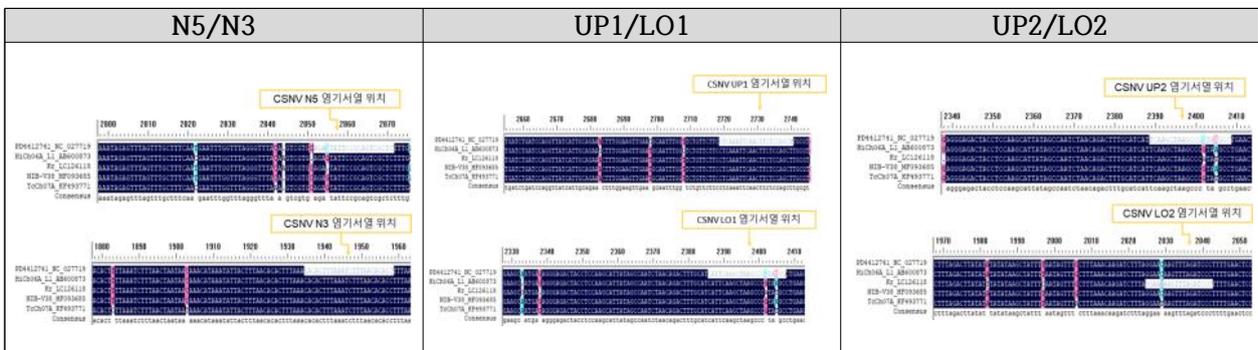
<그림> *In silico* 기반 분석을 통한 APMoV 프라이머 적정성 분석결과

APMoV 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 확보된 최신 APMoV isolates 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. 그 결과 <그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들은 최신 APMoV isolates 염기서열들을 대상으로 alignment 분석결과와 비교하였을 때 APMoV isolates 염기서열들 중 같은 염기서열을 가지고 있는 위치보다는 서로다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 기존 APMoV 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들은 다시 제작할 필요가 있음.

□ CNSV 프라이머 적정성 검정

[표] CNSV 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	중폭크기 (bp)
Chrysanthemum stem necrosis orthospovirus (CNSV)	CNSV N5	GAGCGACTGCGGAATACTCT	940
	CNSV N3	GACACACTTTAAATCTTTAACACACC	
	CNSV UP1	AGCTGGAGAAGTTGAATTTGAG	356
	CNSV LO1	CATTCAAGCTAAGCCCGTAAGC	
	CNSV UP2	GGCTTACGGGCTTAGCTTGA	384
	CNSV LO2	GGAACAAGTTTAGATCCC	



<그림> *In silico* 기반 분석을 통한 CNSV 프라이머 적정성 분석결과

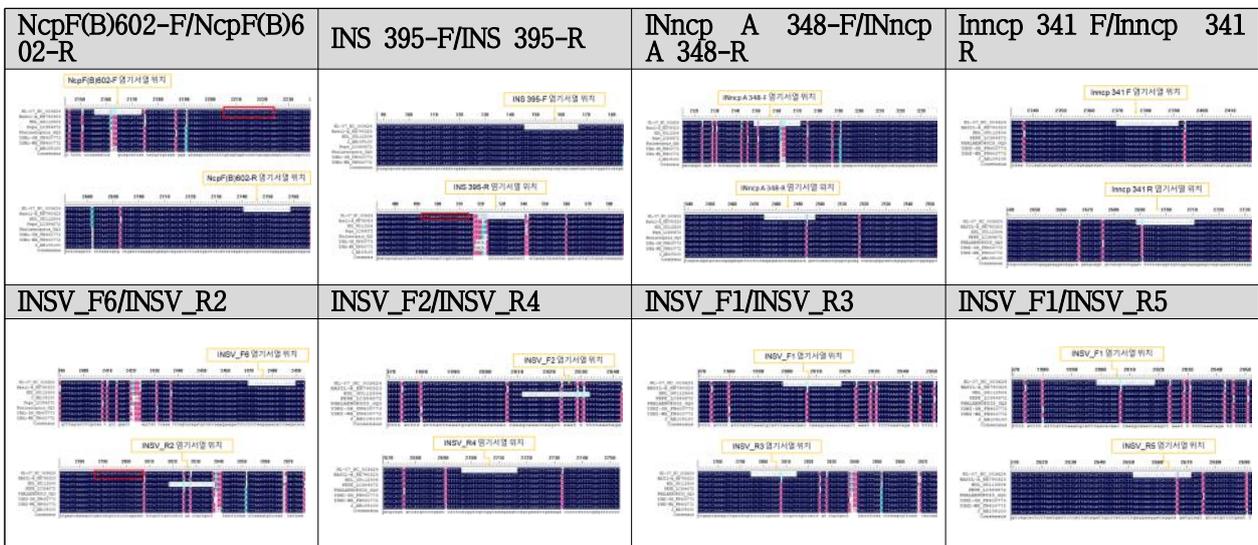
CNSV 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 확보된 최신 CNSV isolates 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. 그 결과<그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들 중 N5, LO1, UP2, LO2들은 최신 CNSV isolates 염기서열들을 대상으로 alignment 분석결과와 비교하였을 때 CNSV isolates 염기서열들 중

같은 염기서열을 가지고 있는 위치보다는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 기존 CNSV 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들 중 N5, LO1, UP2, LO2들은 다시 제작할 필요가 있음.

□ INSV 프라이머 적정성 검정

[표] INSV 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	중폭크기 (bp)
Impatiens necrotic spot orthotospovirus (INSV)	NcpF(B)602-F	AAATCAATAGTAGCATT	602
	NcpF(B)602-R	CTTCCTCAAGAATAGGCA	
	INS 395-F	TTCGGGTAAAGCAGTAGTAGA	395
	INS 395-R	AATTATTTGGAGGGAAGATGTC	
	INncp A 348-F	TTCCCAAATCAATAGTAGCAT	348
	INncp A 348-R	ATCCTGTGTCTTGGGTGTTCTCT	
	Inncp 341 F	TCCTAAGAGAACACCCAAGACA	341
	Inncp 341 R	TTACCAACAACCGTGAAAAGAT	
	INSV_F6	TCCTAAGAGAACACCCAAGA	468
	INSV_R2	AAGTCAGCAGATCAAGATGA	
	INSV_F2	GCAAACCAAGCTTAAATCTCT	704
	INSV_R4	ACTTCTTTACCAACAACCGT	
	INSV_F1	AACACAACACAAAGCAAACC	775
	INSV_R3	AGCAAAGATTACCAAGGAGA	
	INSV_F1	AACACAACACAAAGCAAACC	670
INSV_R5	CATCTTGCCTATCCTTCCTC		



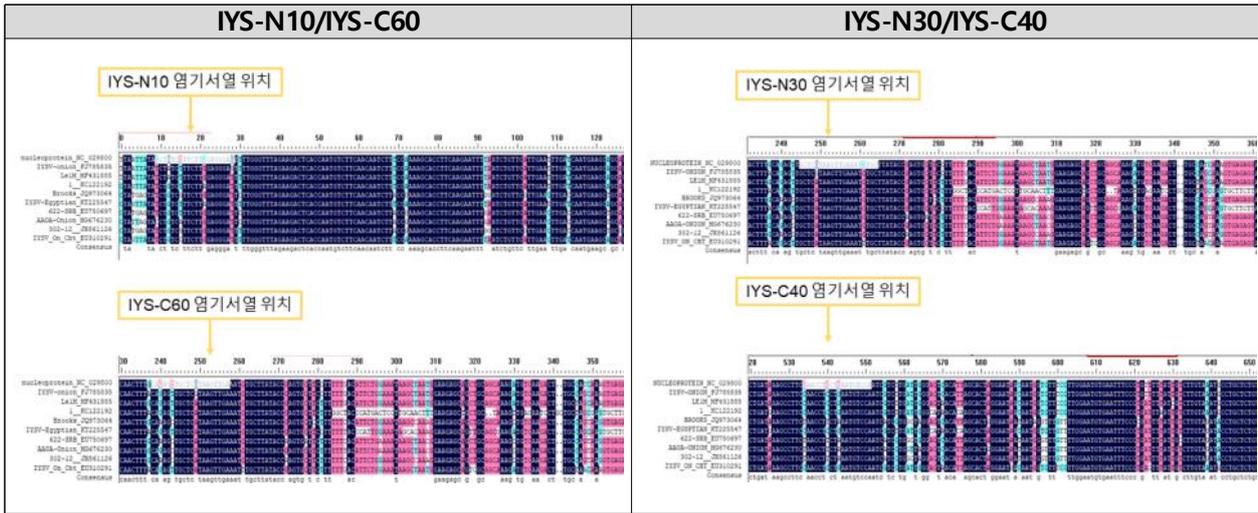
<그림> *In silico* 기반 분석을 통한 INSV 프라이머 적정성 분석결과

INSV 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 확보된 최신 INSV isolates 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. 그 결과<그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들 중 NcpF(B)602-F, INS 395-R, INncp A 348-F, INncp A 348-R, Inncp 341 R, INSV_R2, INSV_F2, INSV_F1, INSV_R3, INSV_R5들은 최신 INSV isolates 염기서열들을 대상으로 alignment 분석결과와 비교하였을 때 INSV isolates 염기서열들 중 같은 염기서열을 가지고 있는 위치보다는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 기존 INSV 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들 중 NcpF(B)602-F, INS 395-R, INncp A 348-F, INncp A 348-R, Inncp 341 R, INSV_R2, INSV_F2, INSV_F1, INSV_R3, INSV_R5들은 다시 제작할 필요가 있음.

□ IYSV 프라이머 적정성 검증

[표] IYSV 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' → 3')	중폭크기 (bp)
Iris yellow orthotospovirus (IYSV)	IYS-N10	TCTATCTTTCTTGGAGGGAG	249
	IYS-C60	TCAACTTACGAGCAACTCTG	
	IYS-N30	GCTCGTAAGTTGAGAATCTGC	307
	IYS-C40	TGGACATTTCAGGAGGTTG	



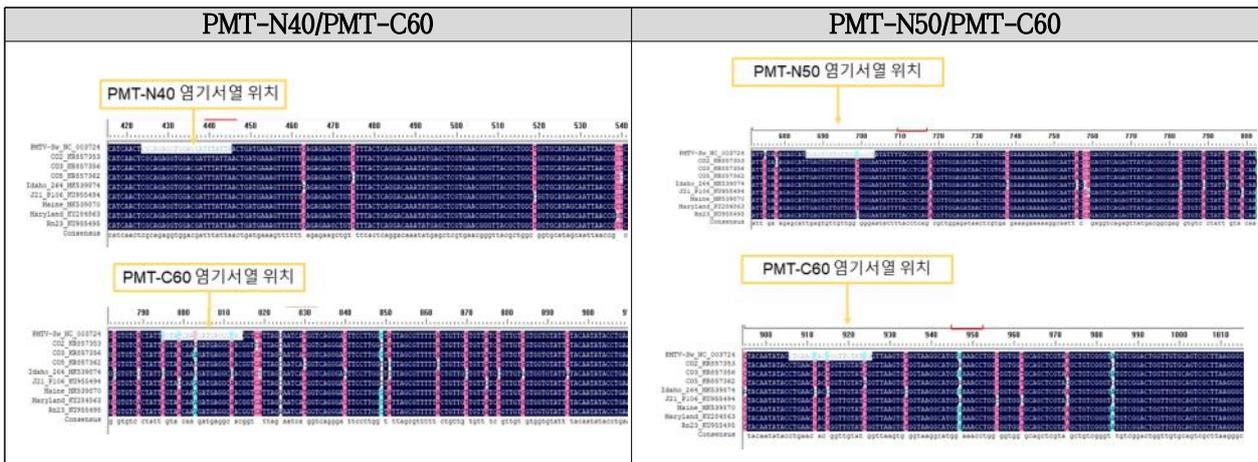
<그림> In silico 기반 분석을 통한 IYSV 프라이머 적정성 분석결과

IYSV 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 확보된 최신 IYSV isolates 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. 그 결과<그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들은 최신 IYSV isolates 염기서열들을 대상으로 alignment 분석결과와 비교하였을 때 IYSV isolates 염기서열들 중 같은 염기서열을 가지고 있는 위치 보다는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 기존 IYSV 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들은 다시 제작할 필요가 있음.

□ PMTV 프라이머 적정성 검증

[표] PMTV 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' → 3')	중폭크기 (bp)
Potato mop-top virus (PMTV)	PMT-N40	CGCAGAGGTGGACGATTTATTA	393
	PMT-C60	GTTGCCTCATCTTTGCTACG	
	PMT-N50	TGAGTGTGTTGGTGGGA	276
	PMT-C60	CGATACAACCACTCGTTCAG	



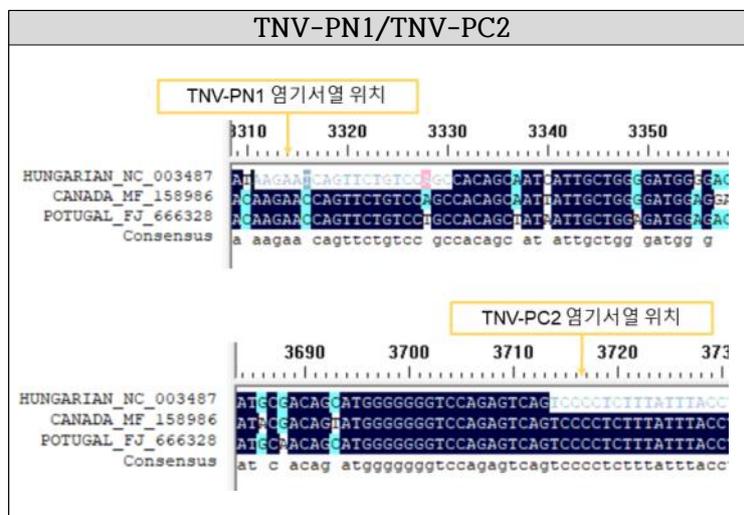
<그림> *In silico* 기반 분석을 통한 PMTV 프라이머 적정성 분석결과

PMTV 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 확보된 최신 PMTV isolates 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. 그 결과<그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들은 최신 PMTV isolates 염기서열들을 대상으로 alignment 분석결과와 비교하였을 때 PMTV isolates 염기서열들 중 PMT-C60, PMT-N50, PMT-C60들은 같은 염기서열을 가지고 있는 위치보다는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 기존 PMTV 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들은 PMT-N40을 제외하고 다시 제작할 필요가 있음.

□ TNV 프라이머 적정성 검증

[표] TNV 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' → 3')	중폭크기 (bp)
Tobacco necrosis virus A Tobacco necrosis virus D (TNV)	TNV-PN1	AAGAATCAGTTCTGTCCAGC	180
	TNV-PC2	CTAGGTAAATAAAGAGGGGA	



<그림> *In silico* 기반 분석을 통한 TNV 프라이머 적정성 분석결과

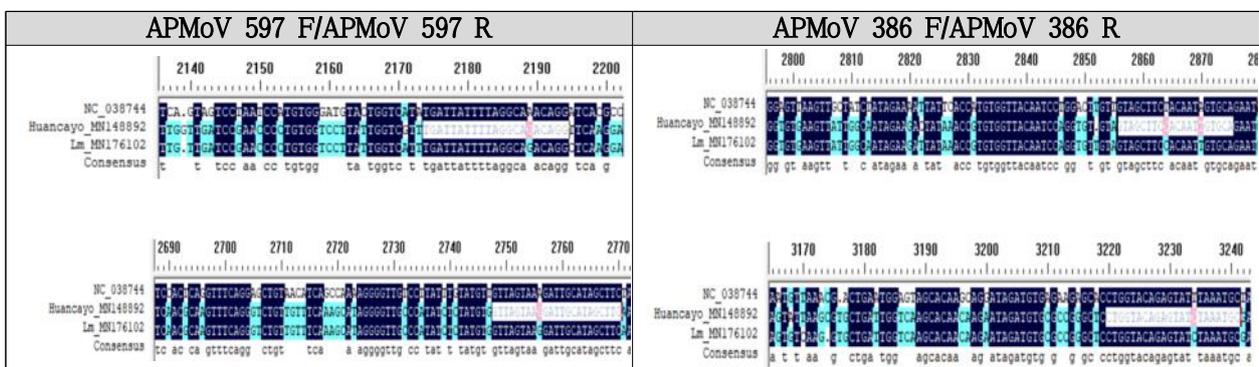
TNV 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 확보된 최신

TNV-D isolates 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. 그 결과<그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들은 최신 TNV-D isolates 염기서열들을 대상으로 alignment 분석결과와 비교하였을 때 TNV-D isolates 염기서열들 중 같은 염기서열을 가지고 있는 위치보다는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 기존 TNV 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들은 다시 제작할 필요가 있음.

다) 신규 프라이머 제작

In silico 기반 분석을 통하여 6종 바이러스들(APMoV, CSNV, INSV, IYSV, PMTV, TNV)에 대한 새로운 프라이머 위치를 선정하여 제작하였음.

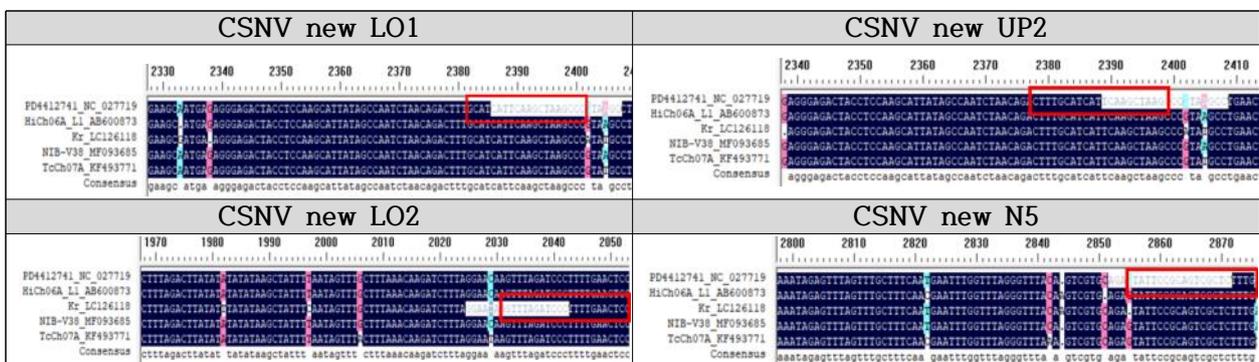
□ APMoV 신규 프라이머 제작



<그림> APMoV 신규 프라이머 위치 선정

확보된 최신 APMoV isolates 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, APMoV 바이러스들은 서로 다른 염기서열을 가지고 있어 프라이머를 제작하기 위한 완벽하게 일치한 염기서열 위치가 없었음. 따라서 APMoV isolates 사이에 가장 일치하는 염기서열을 보이는 위치를 선정하여 신규 프라이머를 제작하였음<그림>.

□ CSNV 신규 프라이머 제작

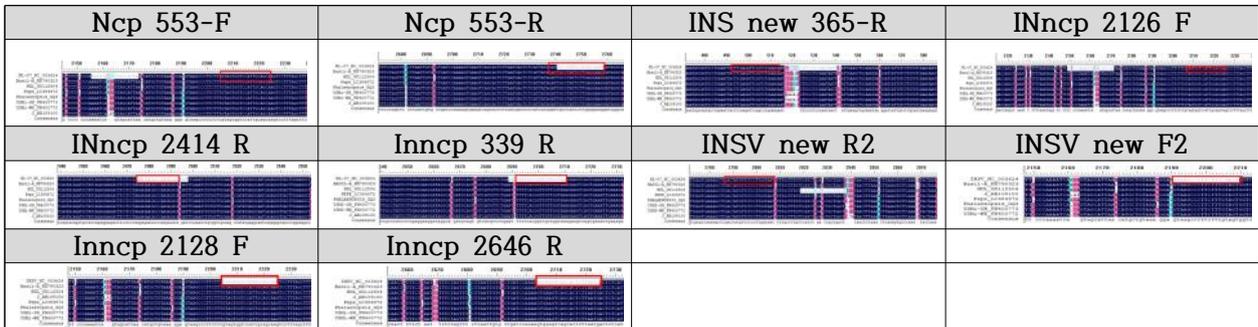


<그림> CSNV 신규 프라이머 위치 선정. 흰색으로 채워진 칸: 기존 프라이머 위치, 붉은색칸: 신규 프라이머 위치.

확보된 최신 CSNV isolates 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, 기존 제작된 프라이머들의 위치는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치로 제작되어 있었음. 따라서 기존에 제작된 부위

근처에서 일치한 염기서열을 가지고 있는 부위를 대상으로 신규 프라이머를 제작하였음<그림>. 여기에서 보여주지 않은 기존 CSNV 프라이머들(CSNV UP1, CSNV N3)은 Tm 값 조정하기 위해 기존 염기서열 길이에서 1~2 mer를 삭제하였으며, 일부 염기서열 오류 부분을 수정하여 제작하였음.

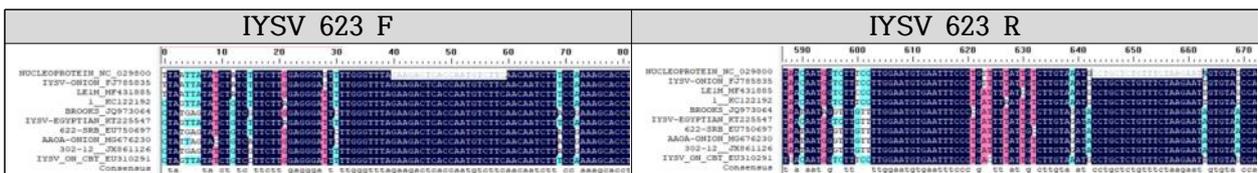
□ INSV 신규 프라이머 제작



<그림> INSV 신규 프라이머 위치 선정. 흰색으로 채워진 칸: 기존 프라이머 위치, 붉은색칸: 신규 프라이머 위치.

확보된 최신 INSV isolates 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, 기존 제작된 프라이머들의 위치는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치로 제작되어 있었음. 따라서 기존에 제작된 부위 근처에서 일치한 염기서열을 가지고 있는 부위 또는 다른 부위에서 일치한 염기서열 부위를 중심으로 신규 프라이머를 제작하였음<그림>. 여기에서 보여주지 않은 기존 INSV 프라이머들(INS 365-F, Inncp 339 F, INSV new F6)은 Tm 값 조정하기 위해 기존 염기서열 길이에서 1~2 mer를 삭제하여 제작하였음.

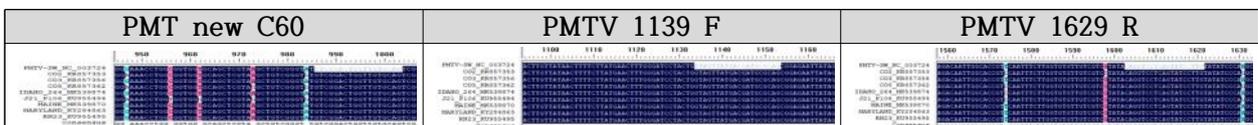
□ IYSV 신규 프라이머 제작



<그림> IYSV 신규 프라이머 위치 선정. 흰색으로 채워진 칸: 신규 프라이머 위치.

확보된 최신 IYSV isolates 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, 기존 제작된 프라이머들의 위치는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치로 제작되어 있었음. 따라서 일치한 염기서열을 가지고 있는 부위 중심으로 신규 프라이머를 제작하였음<그림>.

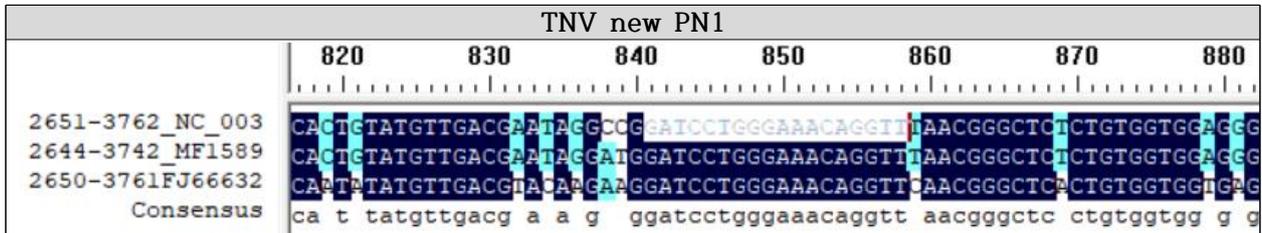
□ PMTV 신규 프라이머 제작



<그림> PMTV 신규 프라이머 위치 선정. 흰색으로 채워진 칸: 신규 프라이머 위치.

확보된 최신 PMTV isolates 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, 기존 제작된 프라이머들의 위치는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치로 제작되어 있었음. 따라서 기존 제작된 부위 중 근처에 일치한 염기서열을 가지고 있는 부위 또는 다른 일치한 염기서열을 가지고 있는 부위를 중심으로 신규 프라이머를 제작하였음<그림>.

□ TNV 신규 프라이머 제작

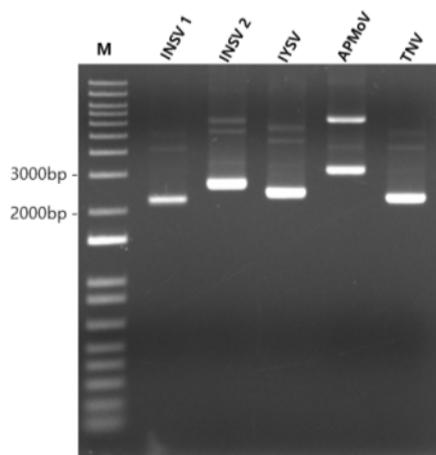


<그림> TNV 신규 프라이머 위치 선정. 흰색으로 채워진 칸: 신규 프라이머 위치.

확보된 최신 TNV-D isolates 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, 기존 제작된 프라이머들 중 한 개의 위치는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치로 제작되어 있었음. 따라서 일치한 염기서열을 가지고 있는 부위를 중심으로 신규 프라이머를 제작하였음.

다) 표준양성시료 확보

6종 바이러스들에 대한 검사법에서 사용될 표준양성 시료들을 *in silico* 분석을 기반으로 최적의 염기서열을 확보하여 DNA 합성 후 클로닝 과정을 거쳐 안정화된 표준양성 시료들을 확보하였음. 현재 4종(APMoV, INSV, IYSV, TNV) 바이러스들은 표준양성 시료들을 확보하였고, CNSV와 PMTV는 제작하고 있음.



<그림> 완성된 표준양성시료 전기영동 결과.

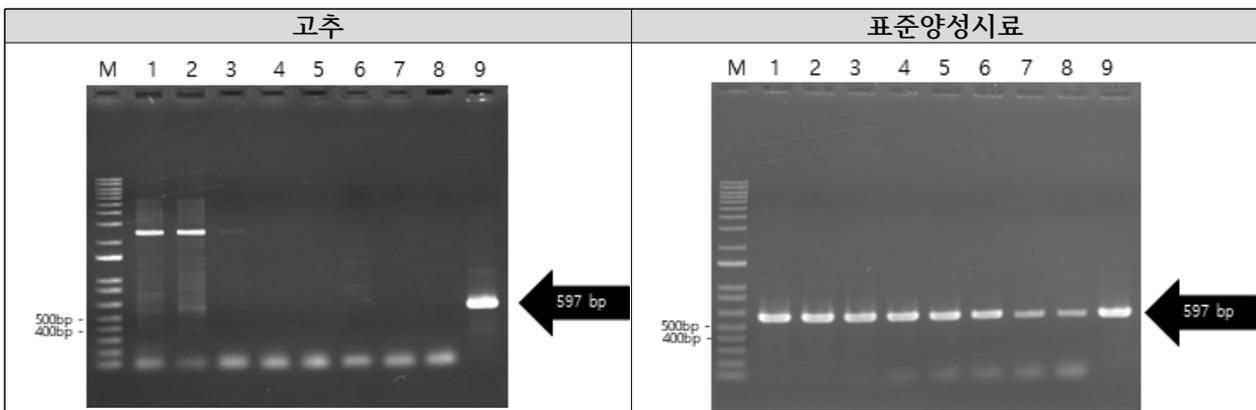
라) 기주식물별 프라이머 적용 및 검사법의 적정성 검증

6종 바이러스들이 감염되는 기주식물들(오이, 호박, 고추, 동부콩, 아마릴리스, 히야신스, 국화 등)을 대상으로 RNeasy Plant mini kit(Qiagen)를 사용하여 total RNA를 분리한 후, hexTaer를 이용하여 cDNA를 합성하여 PCR를 수행하였음.



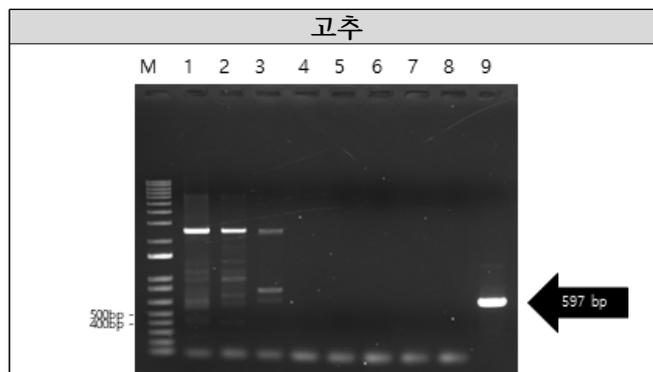
<그림> 기주식물로부터 PCR 수행 과정.

- APMoV 검정 프라이머 기주식물별 적용 결과
- APMoV 597 F/ APMoV 597 R(Ta: 58 °C)



<그림> APMoV 597 F/ APMoV 597 R 을 사용하여 고추에서 PCR(Ta: 58 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

- APMoV 597 F/ APMoV 597 R (Ta: 60 °C)

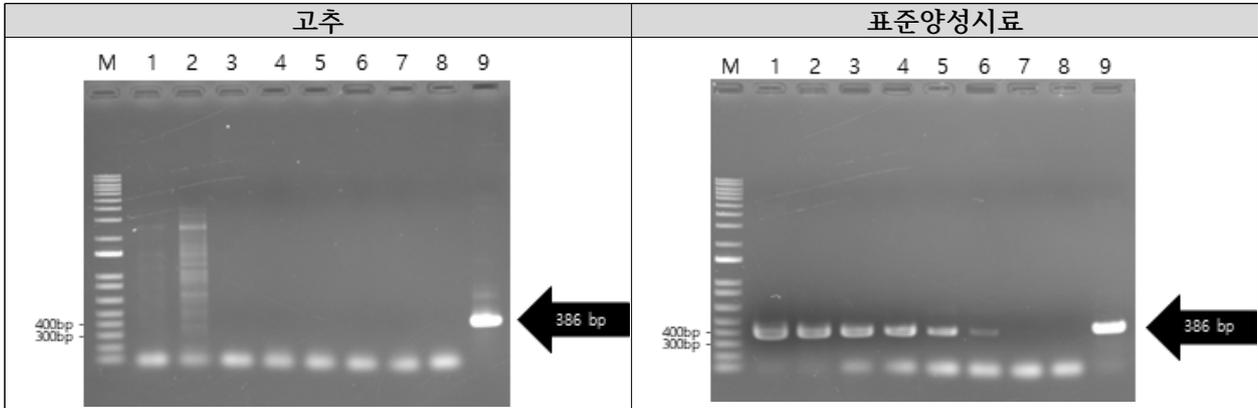


<그림> APMoV 597 F/ APMoV 597 R 을 사용하여 고추에서 PCR (Ta: 60 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

APMoV 597 F/ APMoV 597 R 신규 프라이머로 고추를 대상으로 비특이적 반응이 보이는지 확인하였음. Ta 58 °C에서 비특이적 반응이 목표로 한 위치 근처에서 증폭된 DNA 밴드가 보여 Ta 60°C로 온

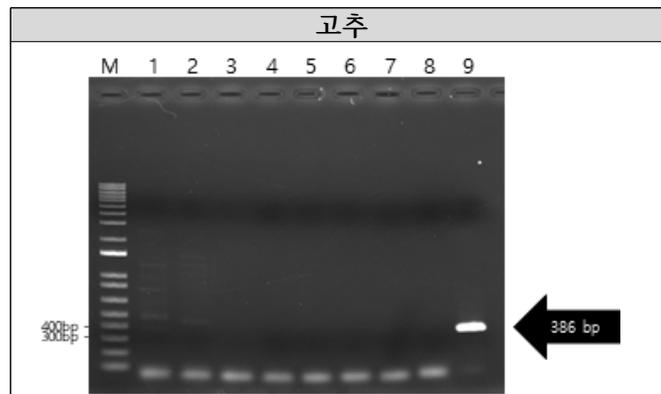
도를 조절하여 다시 하였음. 그 결과 Ta 60 °C에서 목표로 한 위치 근처에 비특이적 반응이 사라진 것을 확인하였음. 따라서 APMoV 597 F/ APMoV 597 R 신규 프라이머는 Ta 60 °C로 사용하여 PCR 을 수행해야 함.

- APMoV 386 F/ APMoV 386 R (Ta: 58 °C)



<그림> APMoV 386 F/ APMoV 386 R 을 사용하여 고추에서 PCR(Ta: 58 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fiswher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

- APMoV 386 F/ APMoV 386 R (Ta: 60 °C)

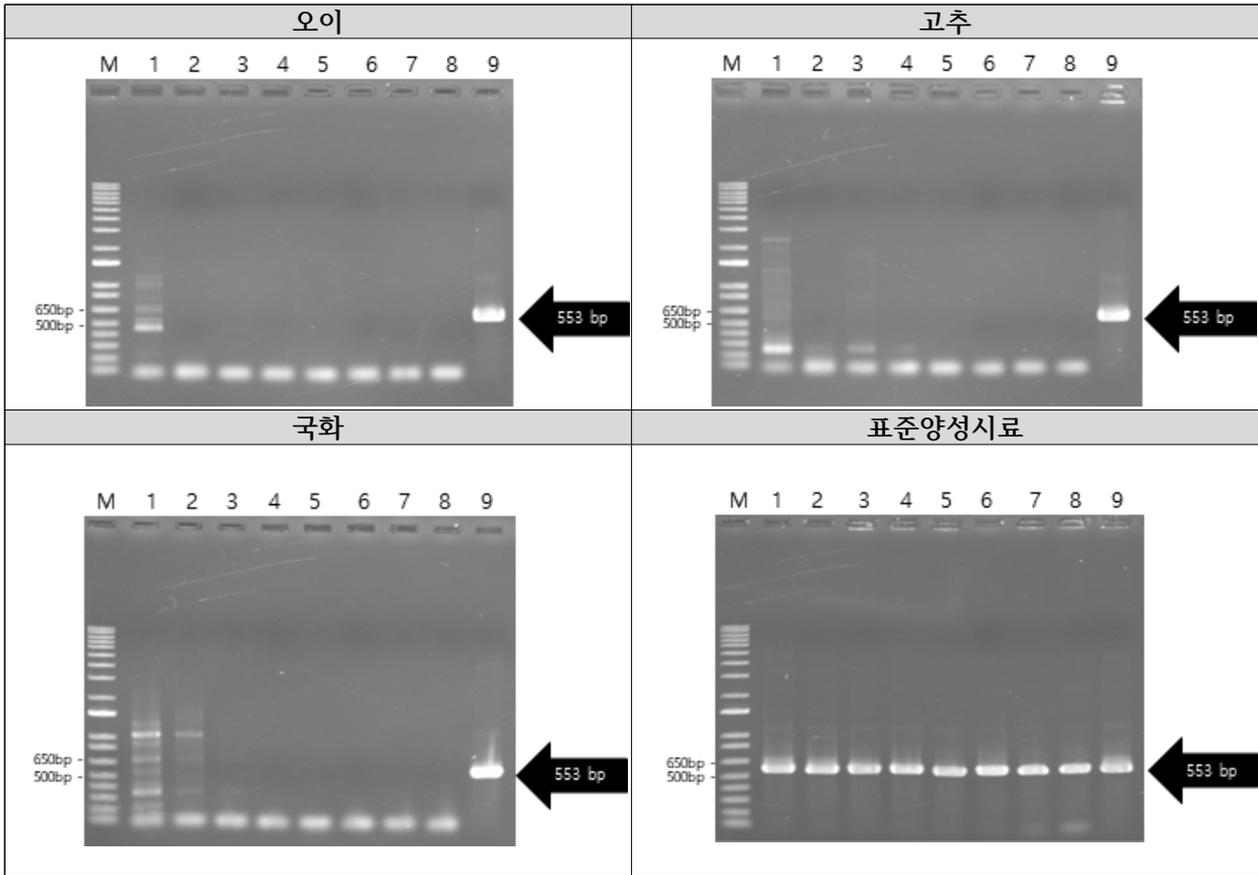


<그림> APMoV 5386 F/ APMoV 386 R을 사용하여 고추에서 PCR(Ta: 60 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

APMoV 386 F/ APMoV 386 R 신규 프라이머로 고추를 대상으로 비특이적 반응이 보이는지 확인하였음. Ta 58 °C에서 비특이적 반응이 목표로 한 위치 근처에서 증폭된 DNA 밴드가 보여 Ta 60°C로 온도를 조절하여 다시 하였음. 그 결과 Ta 60 °C에서 목표로 한 위치 근처에 비특이적 반응이 사라진 것을 확인하였음. 따라서 APMoV 597 F/ APMoV 597 R 신규 프라이머는 Ta 60 °C로 사용하여 PCR 을 수행해야 함.

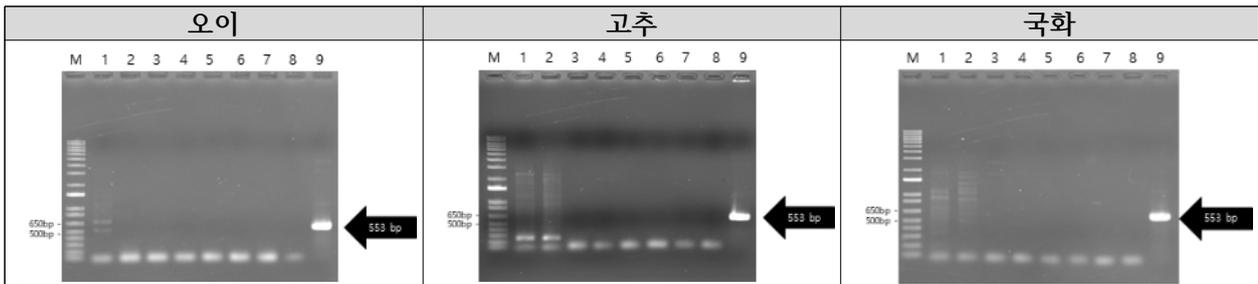
□ INSV 검정 프라이머 기주식물별 적용 결과

- INSV Ncp 553 F/ Ncp 553 R (Ta: 58 °C)



<그림> INSV Ncp 553 F/ Ncp 553 R을 사용하여 기주별 PCR (Ta: 58 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

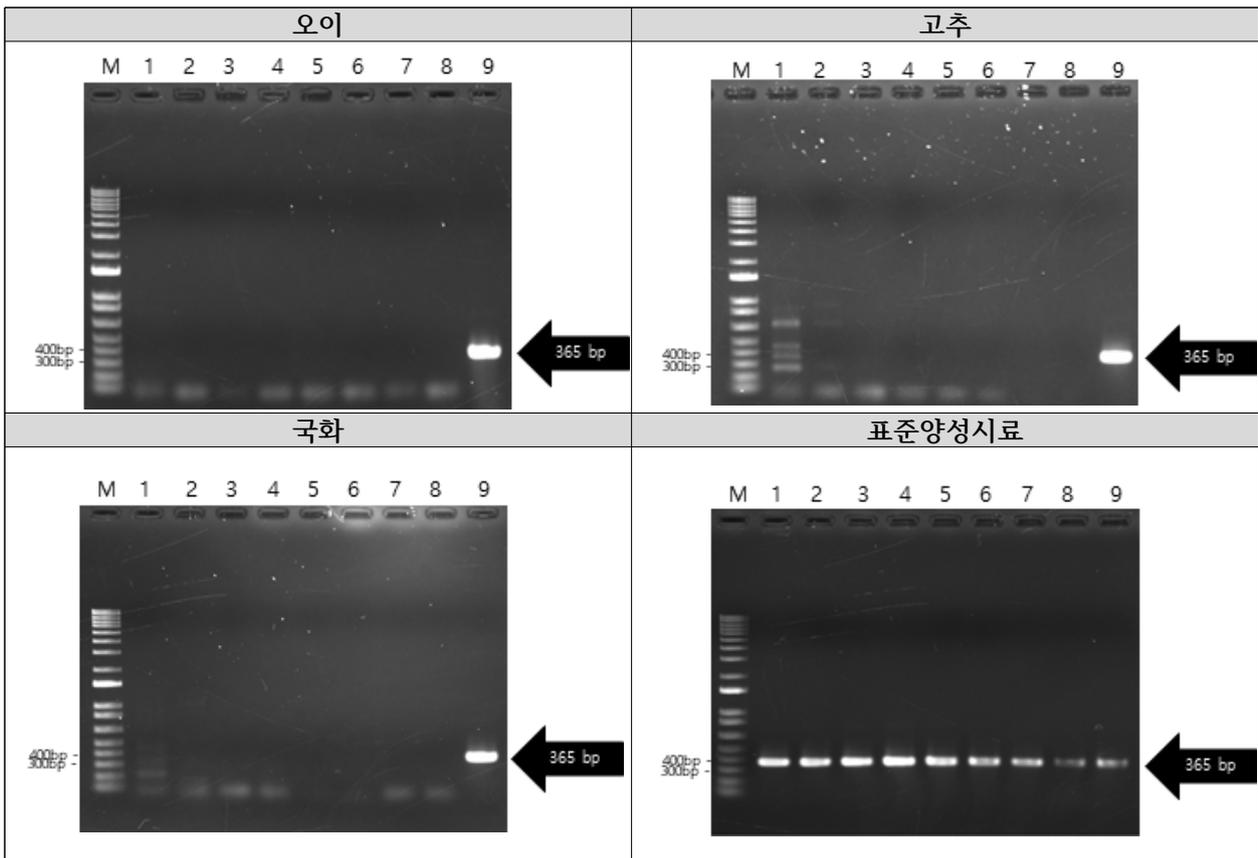
- INSV Ncp 553 F/ Ncp 553 R (Ta: 60 °C)



<그림> INSV Ncp 553 F/ Ncp 553 R을 사용하여 기주별 PCR(Ta: 60 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

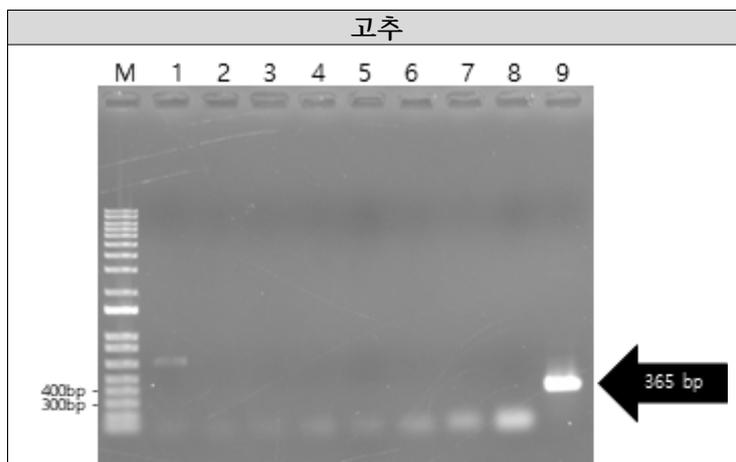
INSV Ncp 553 F/ Ncp 553 R 신규 프라이머로 오이, 고추, 백합 기주들을 대상으로 비특이적 반응이 보이는지 확인하였음. Ta 57 °C에서 비특이적 반응이 목표로 한 위치 근처에서 증폭된 DNA 밴드가 보여 Ta 60 °C로 온도를 조절하여 다시 하였음. 그 결과 Ta 60 °C에서 목표로 한 위치 근처에 비특이적 반응이 사라진 것을 확인하였음. 따라서 INSV Ncp 553 F/ Ncp 553 R 신규 프라이머는 Ta 60 °C로 사용하여 PCR을 수행해야 함.

- INS 365 F/ INS new 365 R (Ta: 56 °C)



<그림> INSV INS 365 F/ INS new 365 R 을 사용하여 기주별 PCR(Ta: 56 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

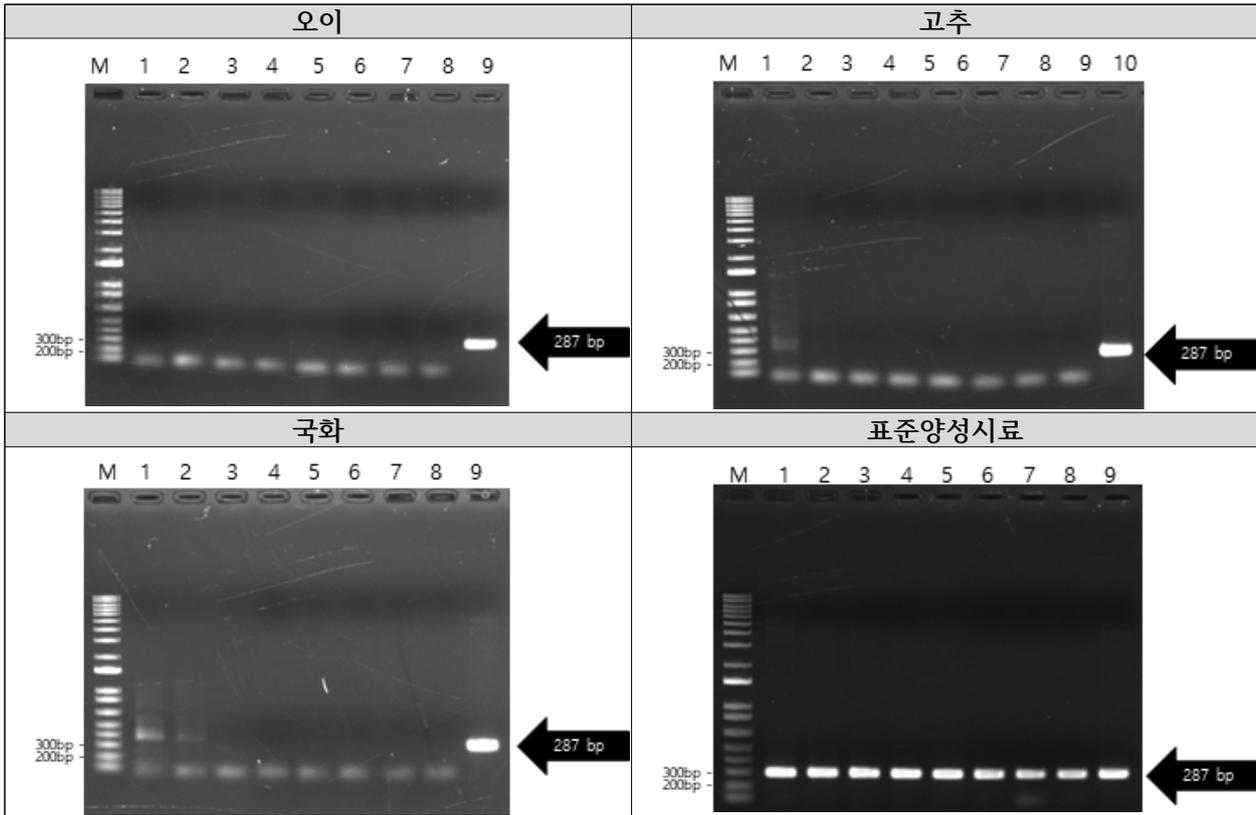
- INSV INS 365 F/ INS new 365 R (Ta: 58 °C)



<그림> INSV INS 365 F/ INS new 365 R 을 사용하여 고추에서 PCR(Ta: 58 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

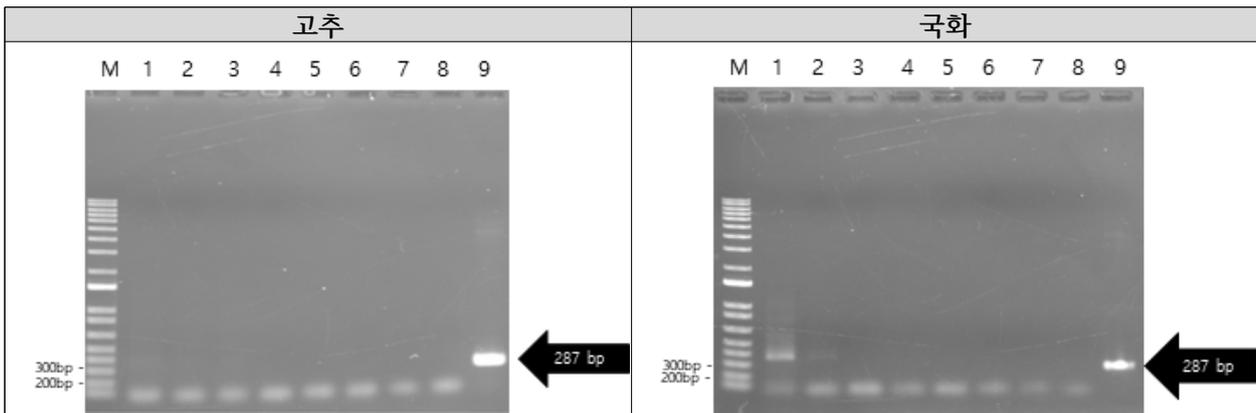
INSV INS 365 F/ INS new 365 R 프라이머로 오이, 고추, 백합 기주들을 대상으로 비특이적 반응이 보이는지 확인하였음. Ta 56 °C에서 오이, 국화에서는 비특이적 반응이 보이지 않았으나, 고추에서는 목표로 한 위치 근처에서 증폭된 DNA 밴드가 보여 Ta 58°C로 온도를 조절하여 다시 하였음. 그 결과 Ta 58 °C에서 목표로 한 위치 근처에 비특이적 반응이 사라진 것을 확인하였음. 따라서 INSV INS 365 F/ INS new 365 R 신규 프라이머는 고추에서 Ta 58 °C로 사용하여 PCR을 수행해야 함.

- INncp 2126 F/ INncp 2414 R (Ta: 58 °C)



<그림> INncp 2126 F/ INncp 2414 R 을 사용하여 기주별 PCR(Ta: 58 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

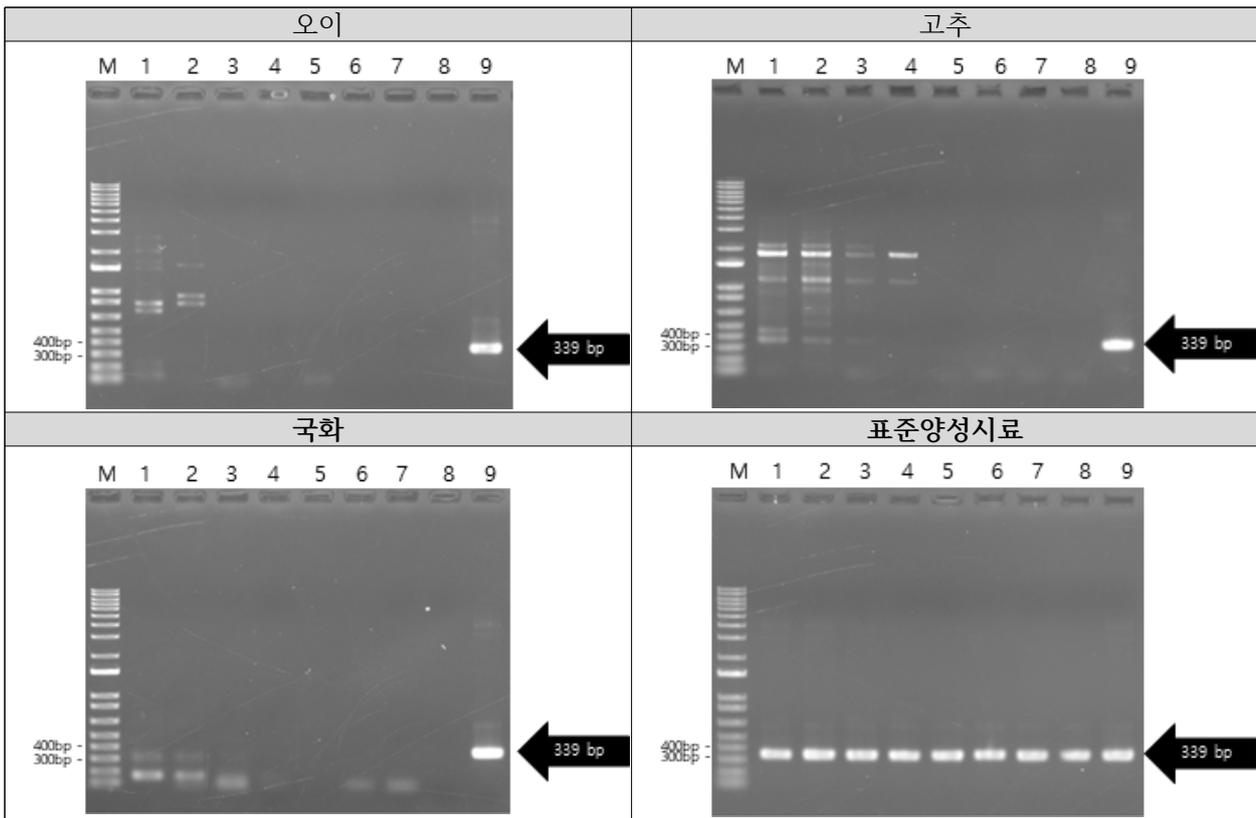
- INncp 2126 F/ INncp 2414 R (Ta: 60 °C)



<그림> INncp 2126 F/ INncp 2414 R 을 사용하여 고추와 국화에서 PCR(Ta: 60 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

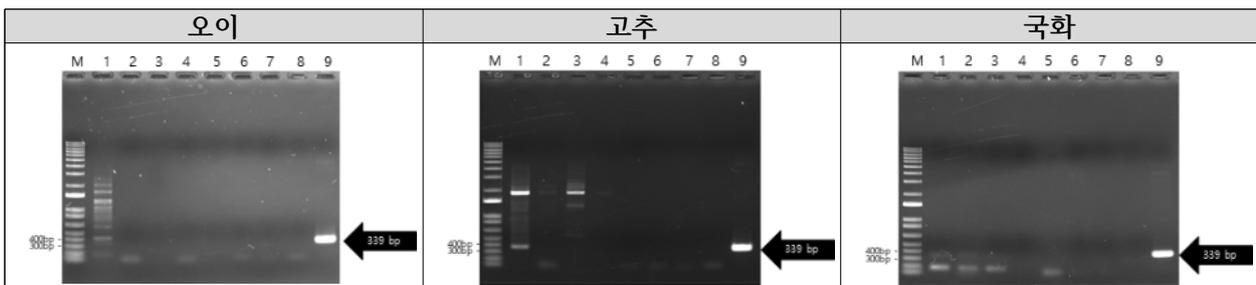
INncp 2126 F/ INncp 2414 R 신규 프라이머로 오이, 고추, 백합 기주들을 대상으로 비특이적 반응이 보이는지 확인하였음. Ta 58 °C에서 오이는 비특이적 반응이 보이지 않았으나, 고추와 국화에서는 목표로 한 위치 근처에서 증폭된 DNA 밴드가 보여 Ta 60°C로 온도를 조절하여 다시 하였음. 그 결과 Ta 60 °C에서 목표로 한 위치 근처에 비특이적 반응이 사라진 것을 확인하였음. 따라서 INncp 2126 F/ INncp 2414 R신규 프라이머는 고추와 국화에서 Ta 60 °C로 사용하여 PCR을 수행해야 함.

- Inncp 339 F/ INncp 339 R (Ta: 54 °C)



<그림> Inncp 339 F/ INncp 339 R 을 사용하여 기주별 PCR(Ta: 54 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

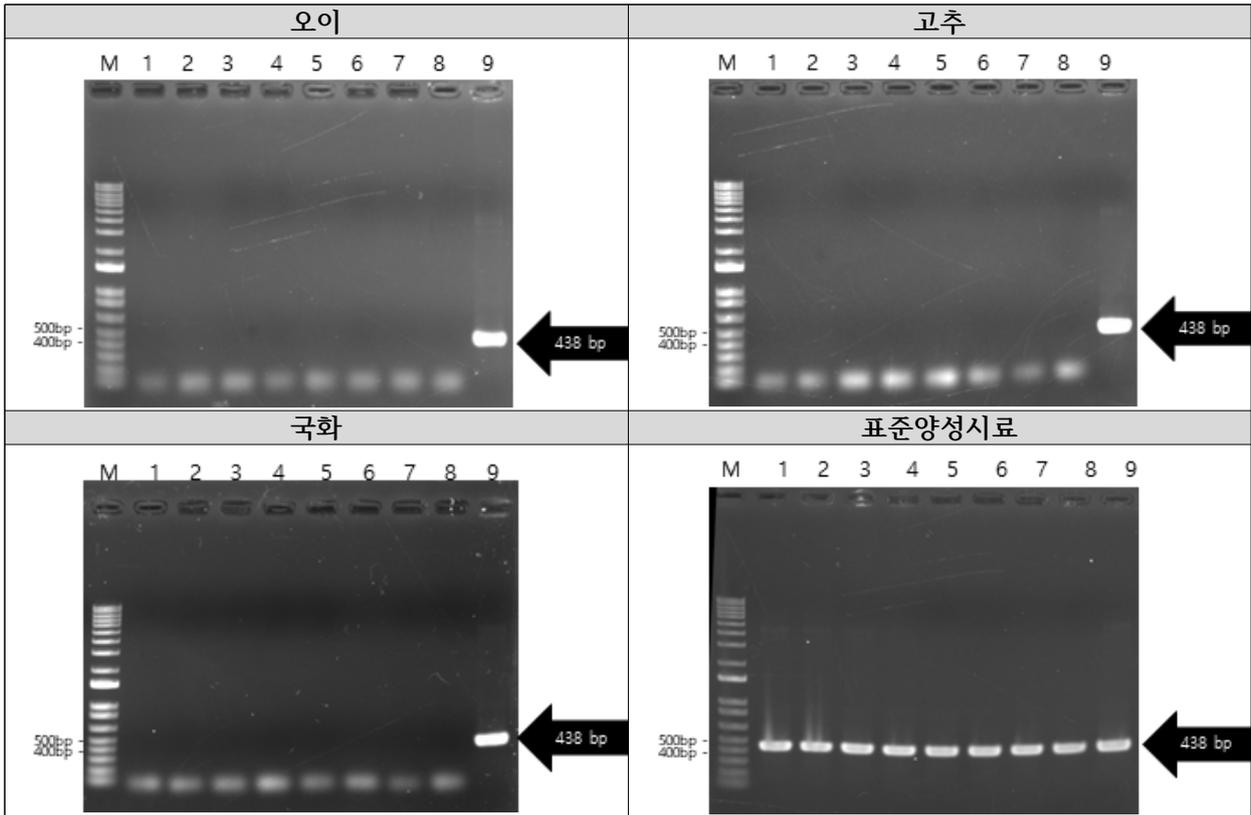
- Inncp 339 F/ INncp 339 R (Ta: 56 °C)



<그림> Inncp 339 F/ INncp 339 R 을 사용하여 오이, 고추, 국화에서 PCR(Ta: 56 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

Inncp 339 F/ INncp 339 R 신규 프라이머로 오이, 고추, 국화 기주들을 대상으로 비특이적 반응이 보이는지 확인하였음. Ta 54 °C에서 비특이적 반응이 보여 Ta 56°C로 온도를 조절하여 다시 하였음. 그 결과 Ta 56 °C에서 목표로 한 위치 근처에 비특이적 반응이 사라진 것을 확인하였음. 따라서 Inncp 339 F/ INncp 339 R 신규 프라이머는 Ta 56 °C로 사용하여 PCR을 수행해야 함.

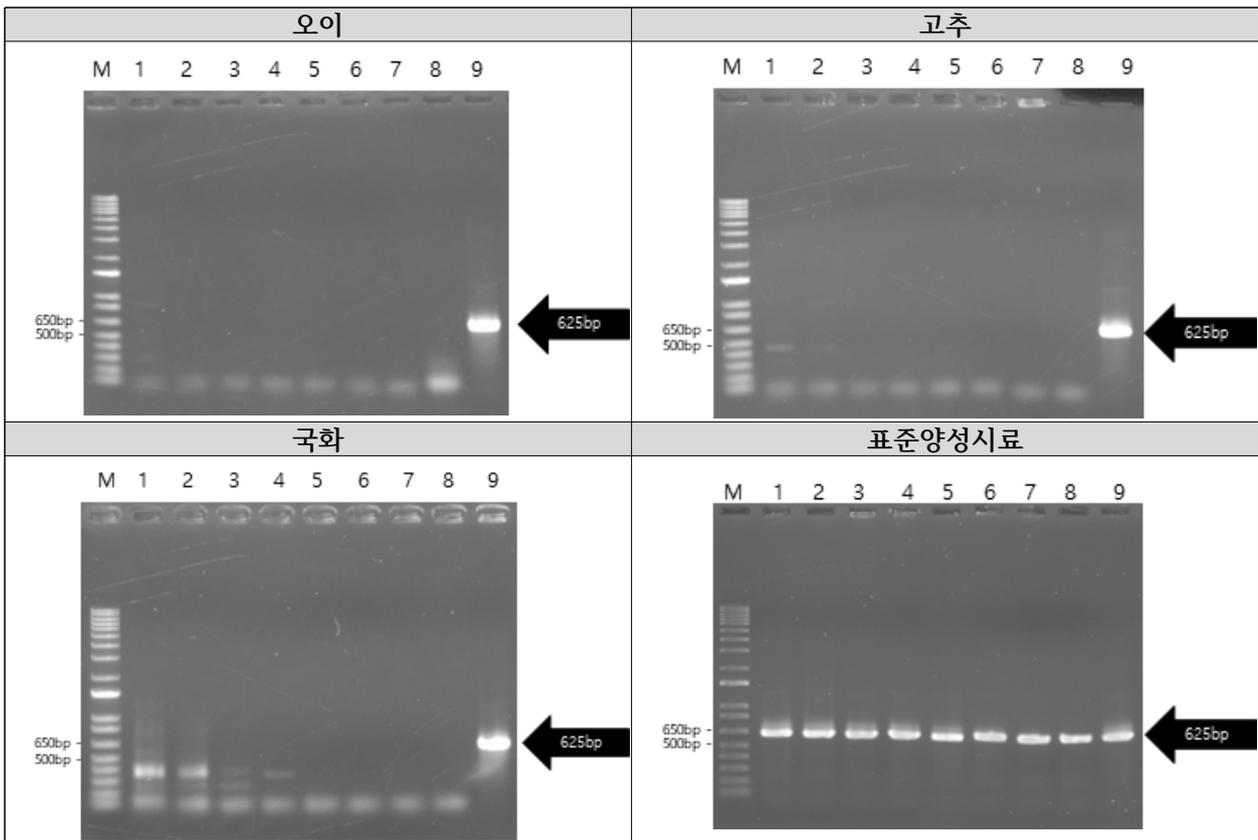
- INSV new F6/ INSV new R2 (Ta: 54 °C)



<그림> INSV new F6/ INSV new R2 을 사용하여 기주별 PCR(Ta: 54 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

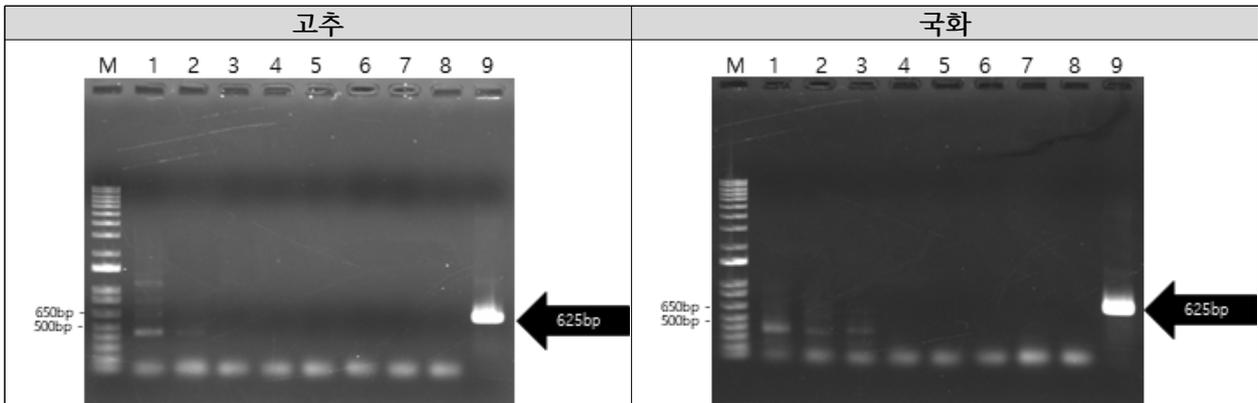
INSV new F6/ INSV new R2 신규 프라이머로 오이, 고추, 백합 기주들을 대상으로 비특이적 반응이 보이는지 확인하였음. Ta 54 °C에서 비특이적 반응이 보이지 않고 목표로 한 위치 밴드만 보이는 것을 확인하였음. 따라서 INSV new F6/ INSV new R2 신규 프라이머는 Ta 55 °C로 사용하여 PCR을 수행해야 함.

- INSV new F2/ INSV new R4 (Ta: 55 °C)



<그림> INSV new F2/ INSV new R4 을 사용하여 기주별 PCR(Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

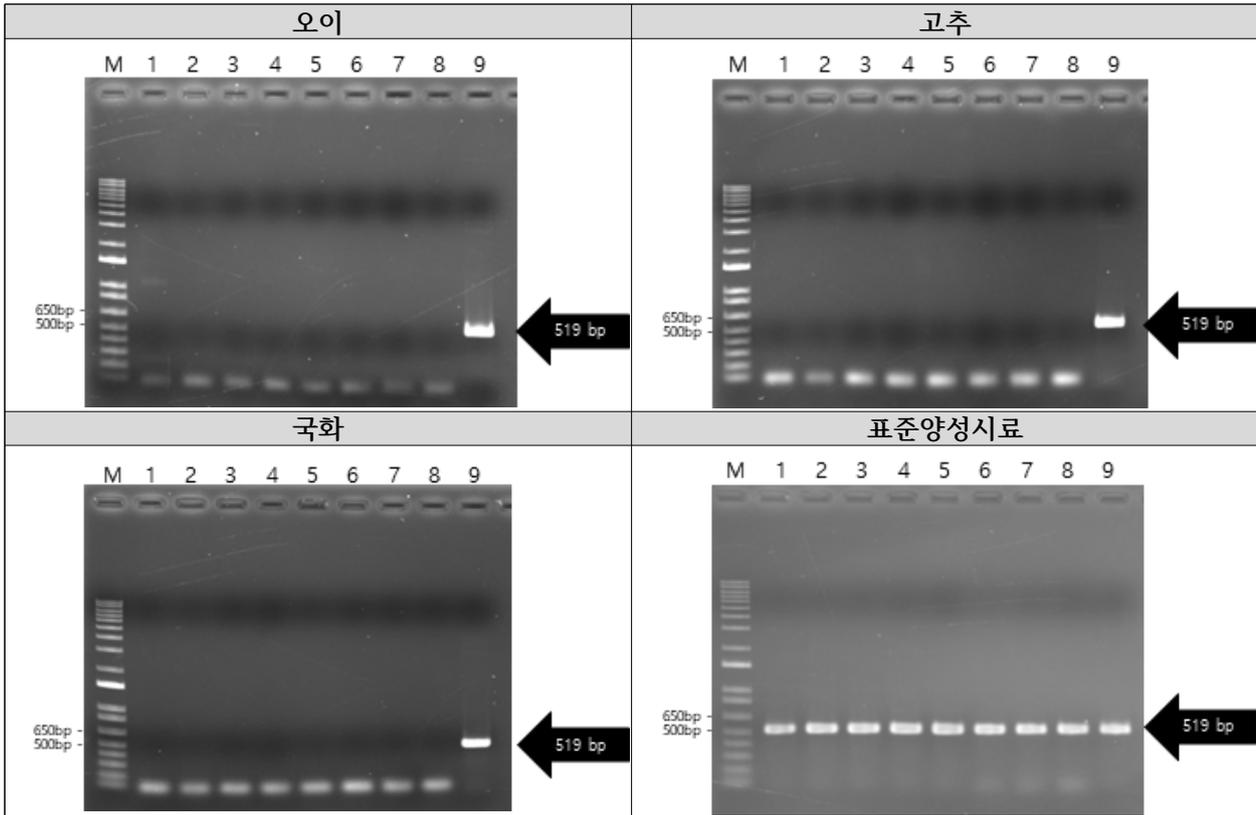
- INSV new F2/ INSV new R4 (Ta: 60 °C)



<그림> INSV new F2/ INSV new R4 을 사용하여 기주별 PCR(Ta: 60°C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

INSV new F2/ INSV new R4 신규 프라이머로 오이, 고추, 백합 기주들을 대상으로 비특이적 반응이 보이는지 확인하였음. Ta 55 °C에서 고추와 국화에서 목표한 위치 근처에서 비특이적 반응이 보여 Ta 60°C로 온도를 조절하여 다시 하였음. 그 결과 Ta 60 °C에서 목표로 한 위치 근처에 비특이적 반응이 사라진 것을 확인하였음. 따라서 INSV new F2/ INSV new R4 신규 프라이머는 고추와 국화에서 Ta 60 °C로 사용하여 PCR을 수행해야 함.

- Inncp 2128 F/ Inncp 2646 R(Ta: 58 °C)

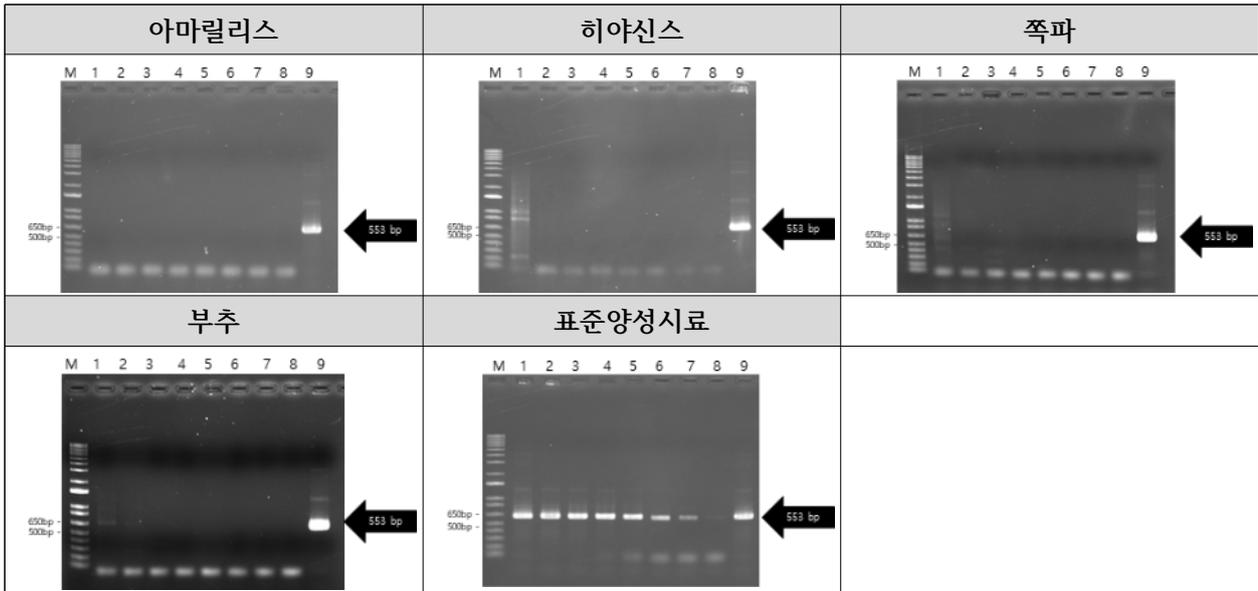


<그림> Inncp 2128 F/ Inncp 2646 R 을 사용하여 기주별 PCR(Ta: 58°C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

Inncp 2128 F/ Inncp 2646 R 신규 프라이머로 오이, 고추, 백합 기주들을 대상으로 비특이적 반응이 보이는지 확인하였음. 그 결과 Ta 58 °C에서 비특이적 반응이 보이지 않고 목표로 한 위치 밴드만 보이는 것을 확인하였음. 따라서 Inncp 2128 F/ Inncp 2646 R 신규 프라이머는 고추와 국화에서 Ta 58 °C로 사용하여 PCR을 수행해야 함.

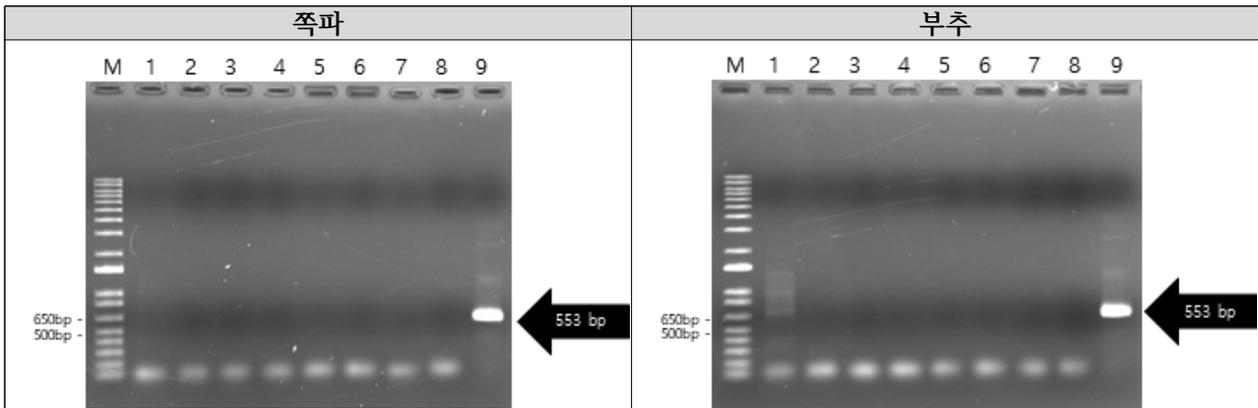
□ IYSV 검정 프라이머 기주식물별 적용 결과

- IYSV 623 F/ IYSV 623 R(Ta: 54 °C)



<그림> IYSV 623 F/ IYSV 623 R 을 사용하여 기주별 PCR(Ta: 58℃) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

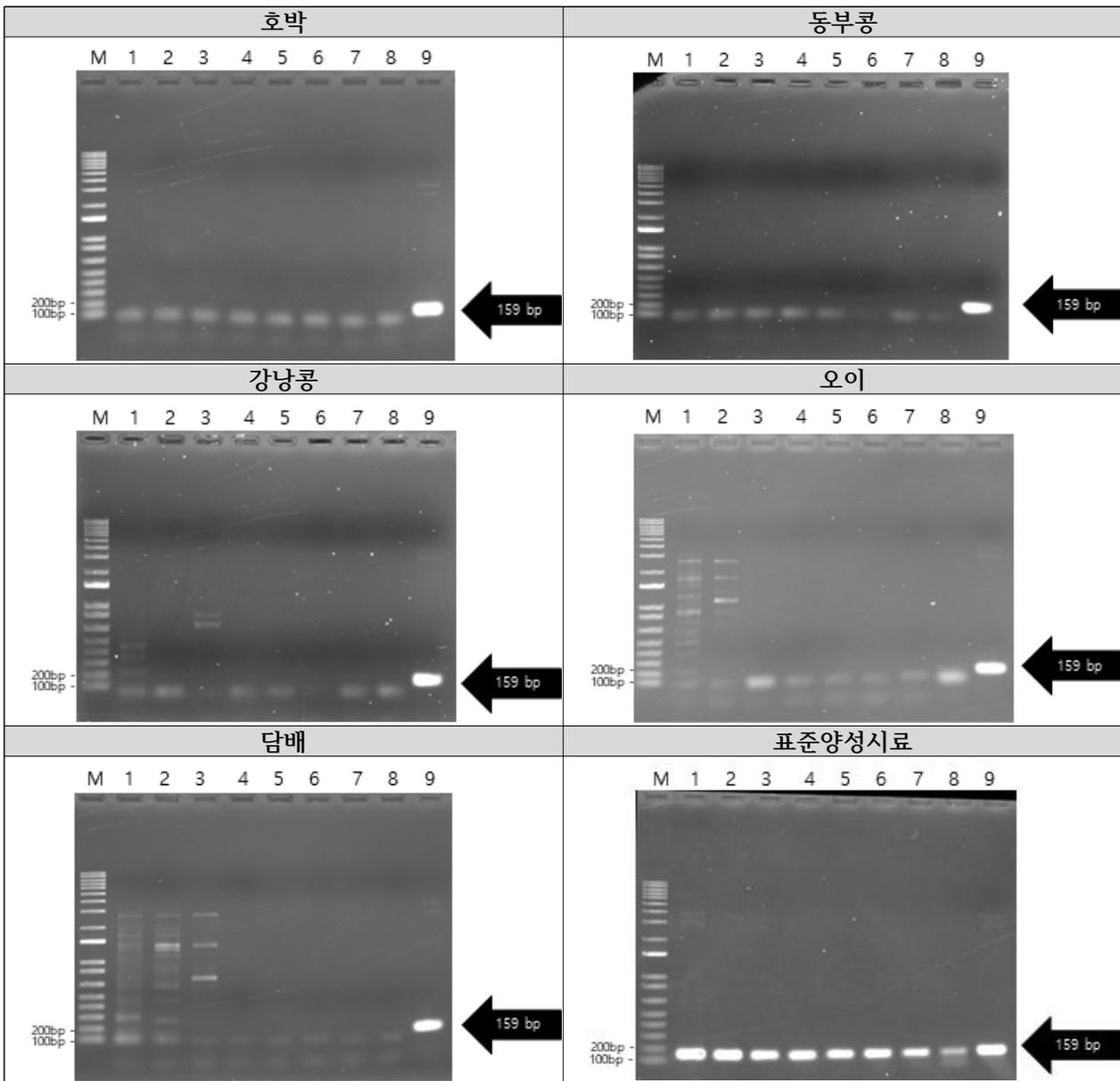
- IYSV 623 F/ IYSV 623 R (Ta: 56 °C)



<그림> IYSV 623 F/ IYSV 623 R 을 사용하여 쪽파와 부추에서 PCR(Ta: 56℃) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

IYSV 623 F/ IYSV 623 R 신규 프라이머로 아마릴리스, 히야신스, 쪽파, 부추 같은 기주들을 대상으로 비특이적 반응이 보이는지 확인하였음. Ta 54℃에서 쪽파와 부추에서 목표로 한 위치 근처에서 비특이적인 증폭된 DNA 밴드가 보여 Ta 56℃로 온도를 조절하여 다시 PCR을 하였음. 그 결과 목표로 한 위치 근처에 비특이적인 반응이 사라진 것을 확인하였고, IYSV 623 F/ IYSV 623 R 신규 프라이머는 쪽파와 부추에서는 Ta 58 °C로 사용하여 PCR을 수행해야 함.

- TNV 검정 프라이머 기주식물별 적용 결과
 - TNV new P1/ TNV new PC2 (Ta: 55 °C)



<그림> NV new P1/ TNV new PC2을 사용하여 기주별 PCR(Ta: 55℃) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

NV new P1/ TNV new PC2 신규 프라이머로 호박, 동부콩, 강낭콩, 오이, 담배 같은 기주들을 대상으로 비특이적 반응이 보이는지 확인하였음. Ta 55℃에서 호박과 동부콩에서는 비특이적 반응이 보이지 않았음. 그러나 강낭콩, 오이, 담배에서는 비특이적 반응이 보이나 목표한 위치와는 다른 위치에 나타나는 것으로 분석됨. 강낭콩, 오이, 담배는 온도를 조절하여 비특이적 반응이 보이지 않는 조건을 확립할 예정임.

<2차년도 연구내용>

- 1) 기존 검사법 (프라이머)에 대한 유전자 기반 적정성 검토
 - 가) 바이러스 6종에 대한 최신 유전자 정보 확보

바이러스	유전자 정보 (NCBI accession no.)
Plum pox virus (PPV)	NAT NC_001445, DIDERON GU461890, W HQ670748, WINDONA KC347608, REC KF472134, D KU508427, VPM KU948432, OU32 LC375064, SVN1 LC375132, Y8 LC494687, M LC494717, T MF346290, MARCUS MF371004, CR MG736816, C MH311859, D MK372985, TKMSAP1 MN603423
Blueberry red ringspot virus (BRRSV)	NC_003138, Darrow 5 HM159264, Coville 546 JF421559, BRRSV24 JN205460
Blueberry scorch virus (BIScV)	NJ-2 NC_003499, BC-1 AY941198, A-5-50 KP232980, B-10-60 KP232983, F-27-30 KP232986, H-22-20 KP232990, RC-28 KP232997
Cherry nerotic rusty mottle virus (CNRMV)	NC_002468, FC4 EU188438, FC5 EU188439, 04E36 (S1) KF030832, CH-YT-13 KR820549, Kisinevskaja KY178274, MB KY310583, Korea LC064751, LV27 LC522996, LVV LC522998, CBVC MK834273
Little cherry virus 1 (LChV-1)	NC_001836, ITMAR EU715989, YD KR080325, Taian KR736335, Jerte KX192366, Ponferrada KX192367, QLD13 LC523019, TAS16 LC523020, LVV LC523024, Kyoto-2 MG934545, P8-42 MH300061, BJ MK775591, GBVC 101 MK895512, Apr184R MN242219, Niagara-A22 MN508820
Little cherry virus 2 (LChV-2)	USA6b NC_005065, TAS16 LC523026, LV16 LC523027, LV27 LC523028, LV35 LC523029, LVV LC523030, Rube 74 MF069043, TA MG881767, GBVC 100 MK803502, GBVC 071 MK895513

미국 국립생물정보센터 (National Center for Biotechnology Information, NCBI)에 등록된 6종 바이러스 (PPV, BRRSV, BIScV, CNRMV, LChV-1, LChV-2)들의 염기서열들을 [표]와 같이 확보함. 확보된 6종 바이러스들의 염기서열들은 기존 검사법에서 사용되고 있는 프라이머들의 염기서열들과 비교하여 프라이머의 적정성을 확인하는 데 활용되었음.

나) *In silico* 기반 분석을 통한 프라이머 적정성 점검

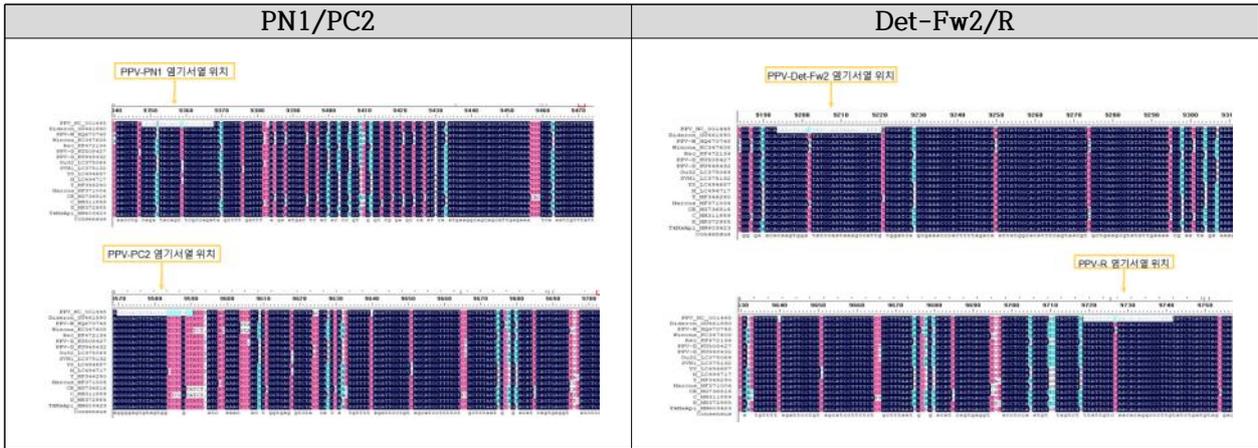
[표] 6종 바이러스들에 대한 기존 검사법에서 사용되고 있는 프라이머 정보

바이러스	점검대상 검사법(프라이머)	
	프라이머 세트	프라이머명
PPV	2	PPV-PN1/PC2, PPV-Det-Fw2/R
BRRSV	1	BR-RT402F/RT402R
BIScV	2	BIScV_F1R4, BIScV_F2/R3
CNRMV	2	CNRMV-F6/R6, CNRMV-F4/R4
LChV-1	2	LChV1_F1/R3, LChV1_F2/R4
LChV-2	2	LChV2_F2/R3, LChV2 F3/R6

PPV 프라이머 적정성 검정

[표] PPV 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	중폭크기 (bp)
Plum pox virus (PPV)	PPV-PN1	ACCGAGACCACTACTACTCCC	243
	PPV-PC2	CAGACTACAGCCTCGCCAGA	
	PPV-Det-Fw2	CAAGTGGAGTATCCAATAAAGCCATTG	547
	PPV-R	CAAGGGCCTGTGTTTCGACAATAA	



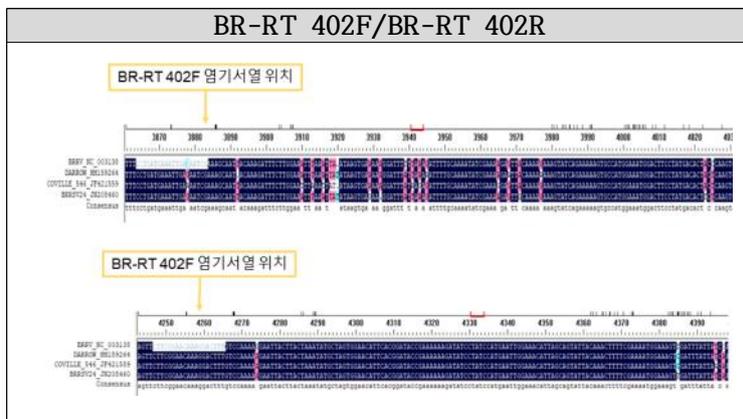
<그림> *In silico* 기반 분석을 통한 PPV 프라이머 적정성 분석결과

PPV 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 확보된 최신 PPV isolates/strains 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. 그 결과 <그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들은 최신 PPV isolates/strains 염기서열들을 대상으로 alignment 분석결과와 비교하였을 때 PPV isolates/strains 염기서열 중 같은 염기서열을 가지고 있는 위치보다는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 기존 PPV 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들은 다시 제작할 필요가 있음.

□ BRRSV 프라이머 적정성 검정

[표] BRRSV 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' a3')	중폭크기 (bp)
Blueberry red ringspot virus (BRRSV)	BR-RT402F	CCTGATGAAATTGAGAATCG	402
	BR-RT402R	AAAGTCCTTTGTTCCGAAG	



<그림> *In silico* 기반 분석을 통한 BRRSV 프라이머 적정성 분석결과

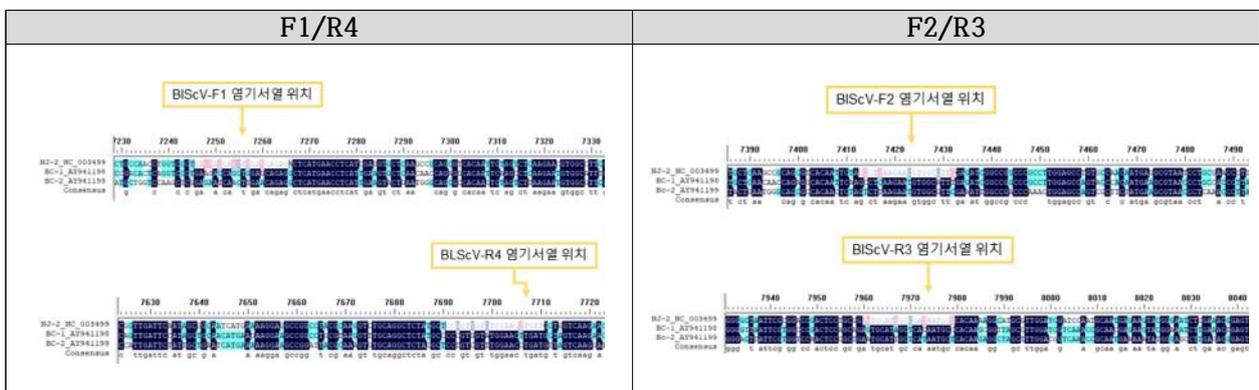
BRRSV 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 확보된 최신

BRRSV isolates/strains 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. 그 결과<그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들은 최신 BRRSV isolates/strains 염기서열들을 대상으로 alignment 분석결과와 비교하였을 때 BRRSV isolates/strains 염기서열들 중 같은 염기서열을 가지고 있는 위치보다는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 기존 BRRSV 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들은 다시 제작할 필요가 있음.

□ BISCv 프라이머 적정성 검정

[표] BISCv 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	중폭크기 (bp)
Blueberry scorch virus (BISCv)	BISCv_F1	GAGAACCAGTTGGAACAGAG	466
	BISCv_R4	ATCAAGTTCCAGACAACAGG	
	BISCv_F2	GTCTCAAGAATGTGGCTTTC	568
	BISCv_R3	AGCATTGTGGGCTATACACT	



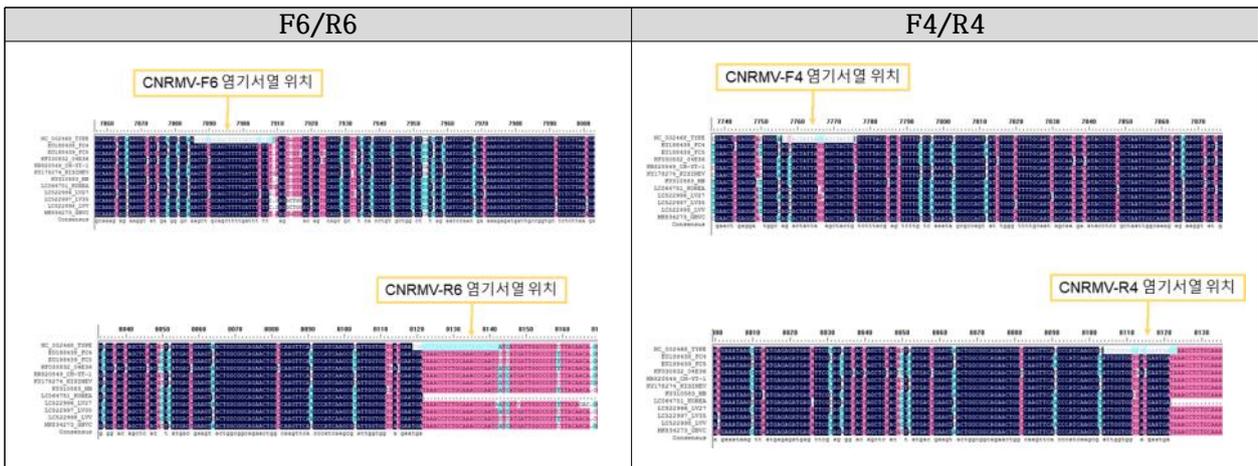
<그림> *In silico* 기반 분석을 통한 BISCv 프라이머 적정성 분석결과

BISCv 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 확보된 최신 BISCv isolates/strains 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. 그 결과 <그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들은 최신 BISCv isolates/strains 염기서열들을 대상으로 alignment 분석결과와 비교하였을 때, BISCv isolates/strains 염기서열 중 같은 염기서열을 가지고 있는 위치보다는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 기존 BISCv 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들은 다시 제작할 필요가 있음.

□ CNRMV 프라이머 적정성 검정

[표] CNRMV 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	중폭크기 (bp)
Cherry necrotic rusty mottle virus (CNRMV)	CNRMV-F6	AGTTCGCAGCYTTTGAYTTYTTTG	257
	CNRMV-R6	GAKTGGRWTTGCAGRGTTTATCA	
	CNRMV-F4	AGCACWRTTAGGAGCTACTG	370
	CNRMV-R4	TATCATTTCATCACCACCAAT	



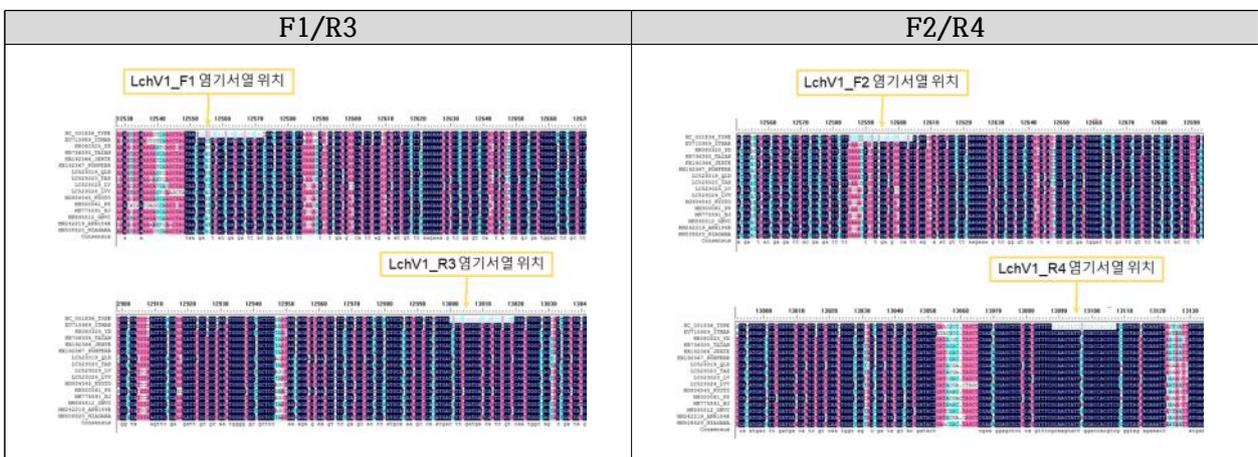
<그림> *In silico* 기반 분석을 통한 CNRMV 프라이머 적정성 분석결과

CNRMV 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 확보된 최신 CNRMV isolates/strains 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. 그 결과<그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들은 최신 CNRMV isolates/strains 염기서열들을 대상으로 alignment 분석결과와 비교하였을 때, CNRMV isolates/strains 염기서열 중 같은 염기서열을 가지고 있는 위치보다는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 기존 CNRMV 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들은 다시 제작할 필요가 있음.

□ LChV-1 프라이머 적정성 검증

[표] LChV-1 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	중폭크기 (bp)
Little cherry virus 1 (LChV-1)	LchV1_F1	GAGTTGACCGATGAGTTGAC	467
	LchV1_R3	AACGGATTGTTTCATCAAAAG	
	LchV1_F2	AAAGCTGCTTGAAGAACAACACT	523
	LchV1_R4	GACGTGGTCCTAATACTTGC	



<그림> *In silico* 기반 분석을 통한 LChV-1 프라이머 적정성 분석결과

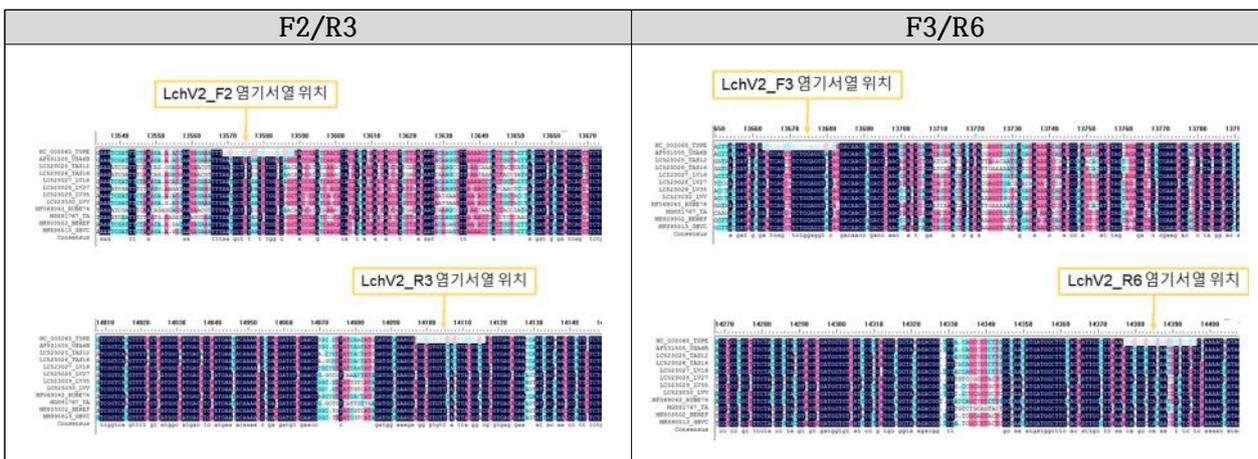
LChV-1 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 확보된 최신

LChV-1 isolates/strains 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. 그 결과<그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들은 최신 LChV-1 isolates/strains 염기서열들을 대상으로 alignment 분석결과와 비교하였을 때, LChV-1 isolates/strains 염기서열 중 같은 염기서열을 가지고 있는 위치보다는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 기존 LChV-1 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들은 다시 제작할 필요가 있음.

□ LChV-2 프라이머 적정성 검증

[표] LChV-2 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	중폭크기 (bp)
Little cherry virus 2 (LChV-2)	LchV2_F2	AATGCTTTAATTTGGTCAGG	546
	LchV2_R3	GTCCGTAACCTGAACACACCT	
	LchV2_F3	AATCAGCTTCTGGAGGTACA	523
	LchV2_R6	ACGATAGGTTTTGTGCTTGT	



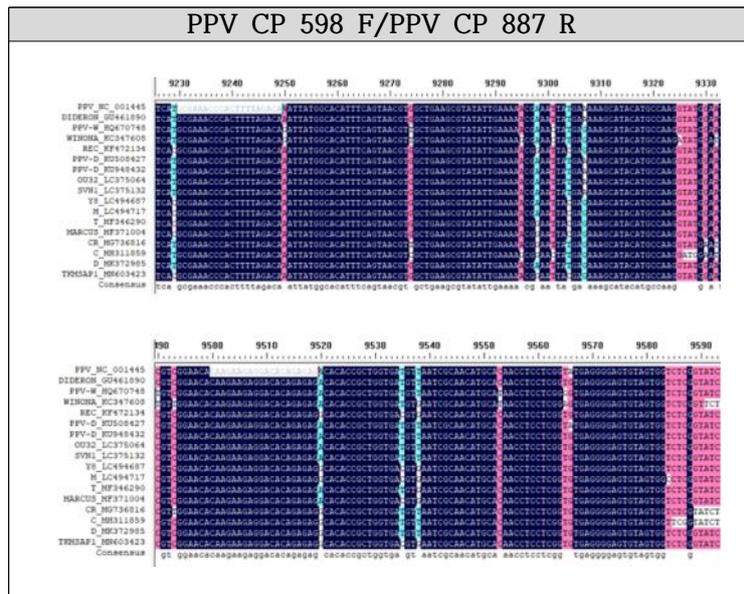
<그림> *In silico* 기반 분석을 통한 LChV-2 프라이머 적정성 분석결과

LChV-2 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 확보된 최신 LChV-2 isolates/strains 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. 그 결과<그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들은 최신 LChV-2 isolates/strains 염기서열들을 대상으로 alignment 분석결과와 비교하였을 때, LChV-2 isolates/strains 염기서열 중 같은 염기서열을 가지고 있는 위치보다는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 기존 LChV-2 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들은 다시 제작할 필요가 있음.

다) 신규 프라이머 제작

In silico 기반 분석을 통하여 6종 바이러스들 (PPV, BRRSV, BIScV, CNRMV, LChV-1, LChV-2)에 대한 새로운 프라이머 위치를 선정하여 제작하였음.

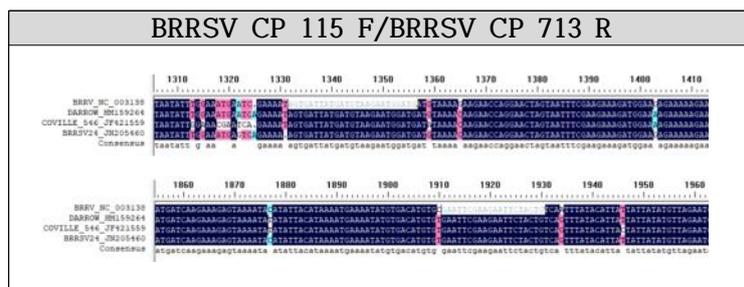
□ PPV 신규 프라이머 제작



<그림> PPV 신규 프라이머 위치 선정

확보된 최신 PPV isolates/strains의 외피 단백질 부위의 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, PPV isolates/strains 서로 같은 염기서열을 가지고 있는 부위를 선정하여 신규 프라이머를 제작하였음 <그림>.

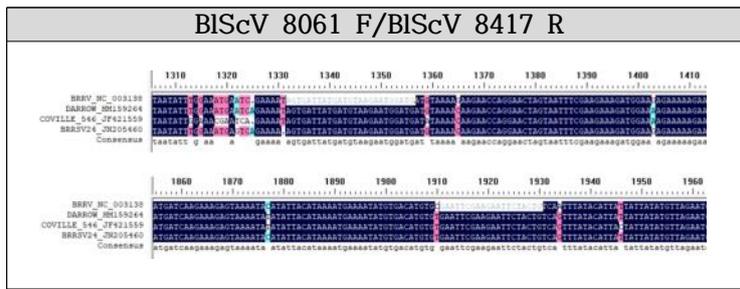
□ BRRSV 신규 프라이머 제작



<그림> BRRV 신규 프라이머 위치 선정

확보된 최신 BRRSV isolates/strains의 외피 단백질 부위의 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, BRRSV isolates/strains 서로 같은 염기서열을 가지고 있는 부위를 선정하여 신규 프라이머를 제작하였음 <그림>.

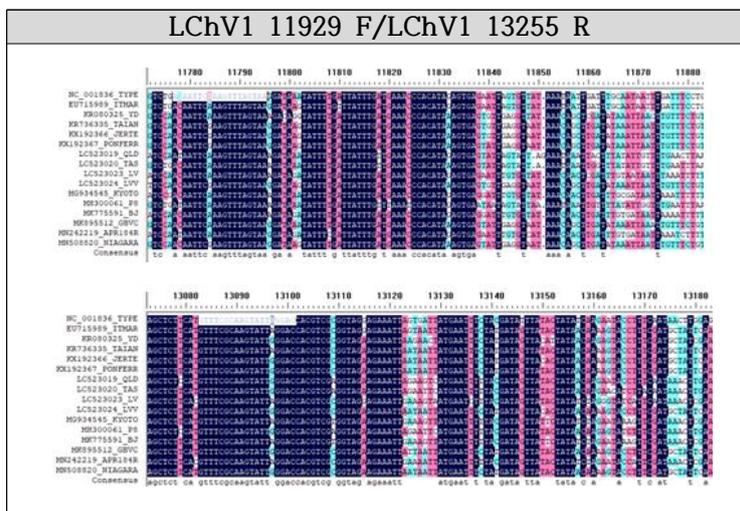
□ BIScV 신규 프라이머 제작



<그림> BRRV 신규 프라이머 위치 선정

확보된 최신 BScV isolates/strains의 전체 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, BScV isolates/strains 서로 같은 염기서열을 가지고 있는 부위를 선정하여 신규 프라이머를 제작하였음 <그림>.

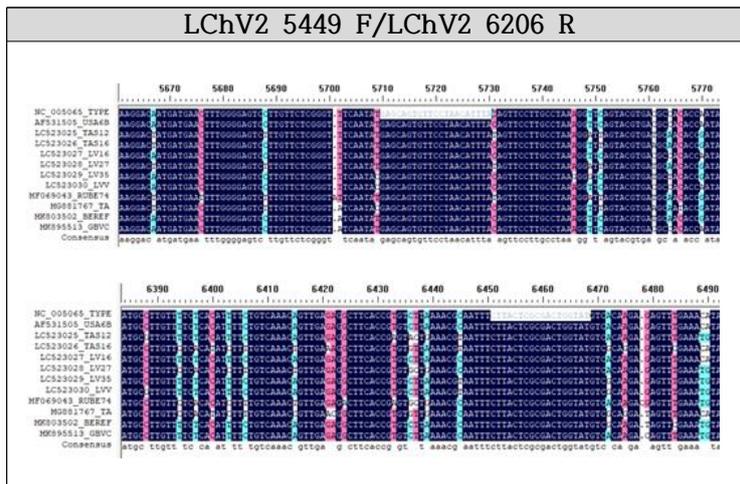
□ LChV-1 신규 프라이머 제작



<그림> LChV-1 신규 프라이머 위치 선정

확보된 최신 LChV-1 isolates/strains 전체 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, 서로 다른 염기서열을 가지고 있음. 따라서 LChV-1 isolates/strains 염기서열 중에서 가장 일치되는 부위를 선정하여 신규 프라이머를 제작하였음 <그림>.

□ LChV-2 신규 프라이머 제작

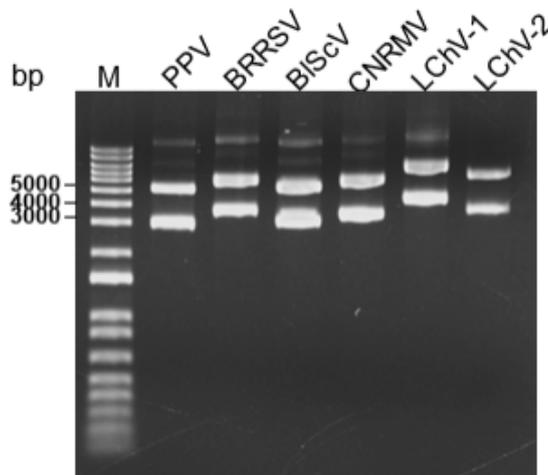


<그림> LChV-2 신규 프라이머 위치 선정

확보된 최신 LChV-2 isolates/strains의 전체 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, LChV-2 isolates/strains 서로 같은 염기서열을 가지고 있는 부위를 선정하여 신규 프라이머를 제작하였음 <그림>.

다) 표준양성시료 확보

6종 바이러스들에 대한 검사법에서 사용될 표준양성 시료들을 *in silico* 분석을 기반으로 최적의 염기서열을 확보하여 DNA 합성 후 클로닝 과정을 거쳐 안정화된 표준양성 시료들을 확보하였음.



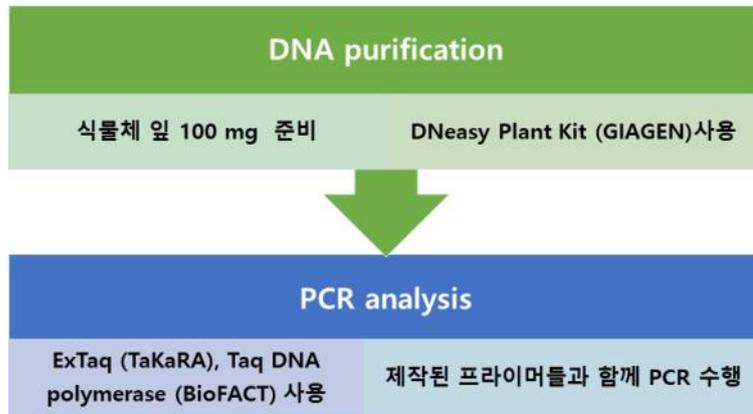
<그림> 완성된 표준양성시료 전기영동 결과. bp: base pair, M: 1 kb plus DNA ladder marker (Invitrogen, USA).

라) 기주식물별 프라이머 적용 및 검사법의 적정성 검증

6종 바이러스들이 감염되는 기주식물들(블루베리, 벚나무, 복숭아, 치커리, 클로버 등)을 대상으로 RNeasy Plant mini kit(Qiagen)를 사용하여 total RNA를 분리한 후, hexamer를 이용하여 cDNA를 합성하여 PCR를 수행하였음. 또한 BRRSV 검정을 위해 블루베리에서 DNeasy Plant Kit(Qiagen)를 사용하여 DNA를 분리한 후 PCR를 수행하였음. PCR을 수행할 때, 국내에서 생산된 Taq DNA polymerase(BioFACT)와 국외에서 생산되는 Taq DNA polymerase(rTaq, Takara)를 사용하여 비교 시험을 수행하였음. 국내산과 외국산 중합효소들의 비교실험은 진단기술에 주요하게 사용되는 중합효소를 국내산으로 대체할 가능성을 제시할 수 있음.

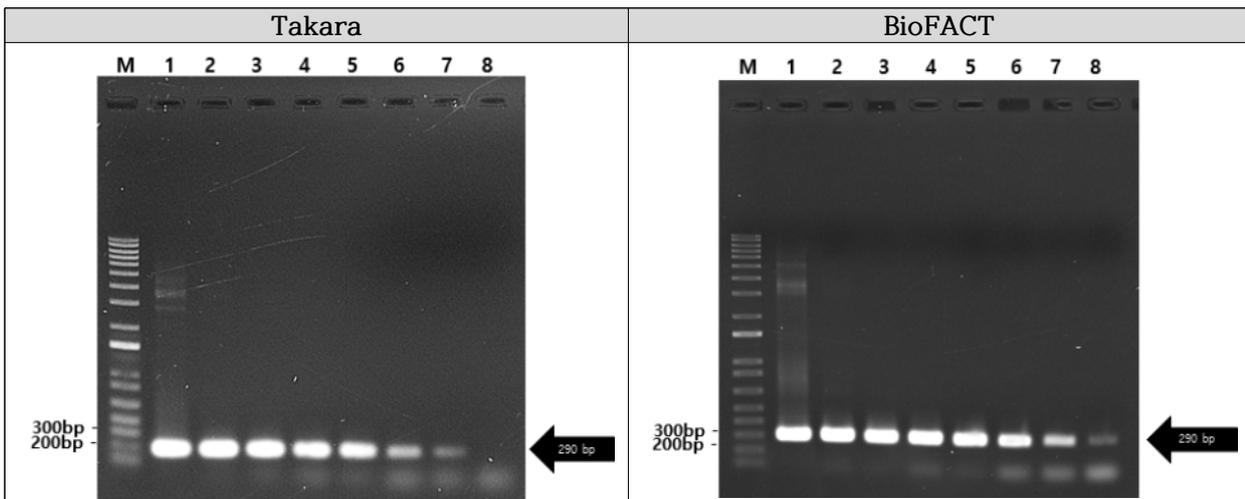


<그림> 기주식물로부터 PCR 수행 과정.



<그림> 기주식물로부터 DNA 분리하여 PCR 수행 과정.

□ PPV 검정 프라이머를 사용한 표준양성시료 검정 결과
 - PPV CP 5985 F/ PPV CP 887 R (Ta: 57 °C)

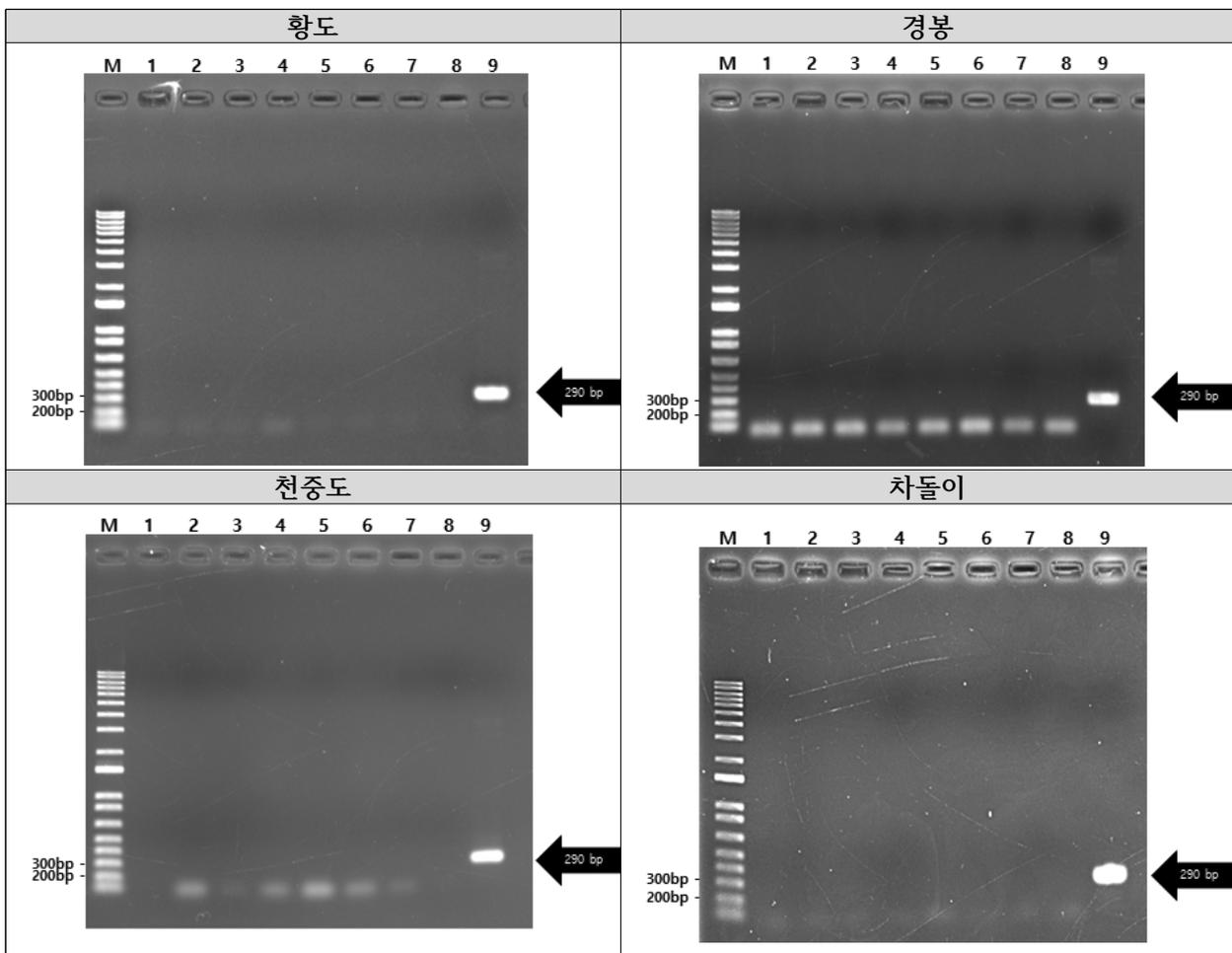


<그림> PPV CP 5985 F/ PPV CP 887 R(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 57 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

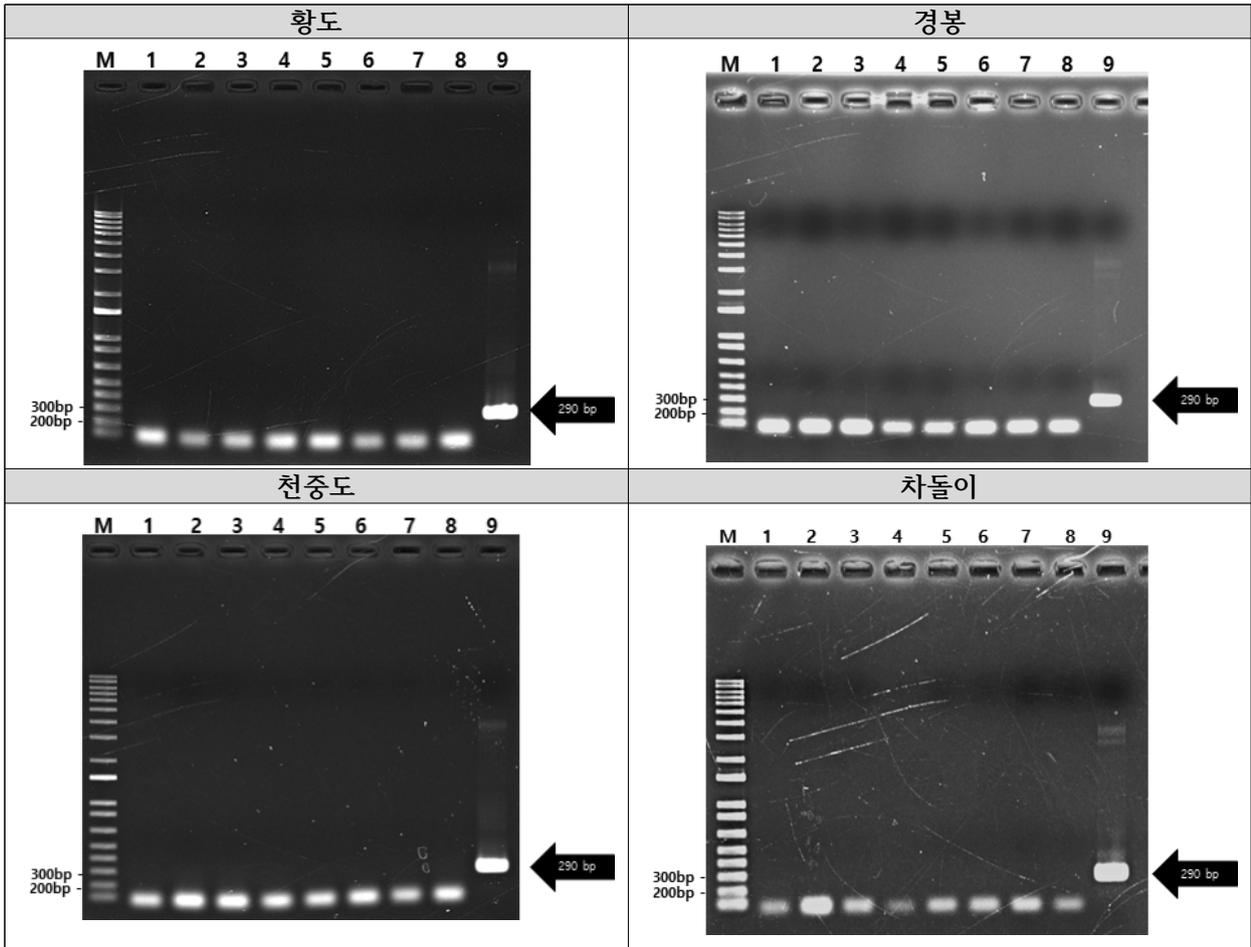
새로 보완된 PPV 바이러스 프라이머 (PPV CP 5985 F/ PPV CP 887 R)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산 (rTaq, Takara)과 국내산 (Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP (0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase (5 unit)를 사용하여 PCR (Ta: 57 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소보다 국내산 중합효소에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 좀 더 선명하게 확인할 수 있었음.

□ PPV 검정 프라이머를 사용하여 기주식물 검정결과

<복숭아>



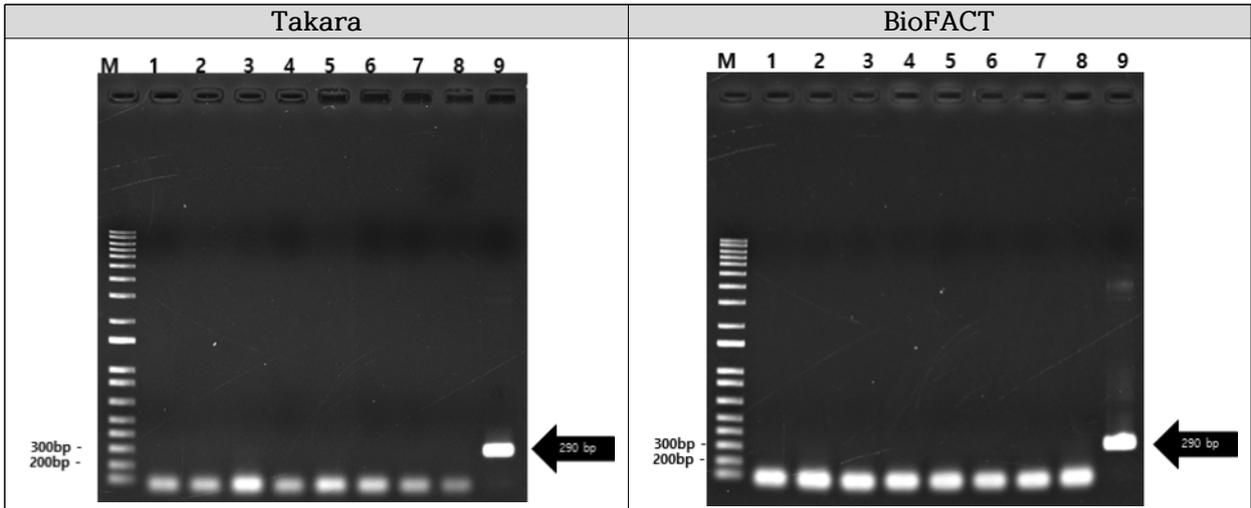
<그림> PPV CP 5985 F/ PPV CP 887 R(200 nM)와 rTaq(Takara)을 사용하여 복숭아 4종에서 PCR(Ta: 57 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.



<그림> PPV CP 5985 F/ PPV CP 887 R(200 nM)와 Taq DNA polymerase(BioFACT)을 사용하여 복숭아 4종에서 PCR (Ta: 57 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

새로 보완된 PPV 바이러스 프라이머(PPV CP 5985 F/ PPV CP 887 R)를 사용하여 PPV의 기주식물에 포함되는 복숭아 4종에 대상으로 비특이적인 반응 여부를 외국산과 국내산 종합효소들을 사용하여 비교분석을 하였음. 복숭아 4종을 RNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 1000 ng total RNA와 hexamer를 사용하여 cDNA를 합성하였음. 합성된 cDNA를 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 복숭아 4종에서는 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음. 또한, 외국산과 국내산 종합효소들의 비교 결과에서도 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음.

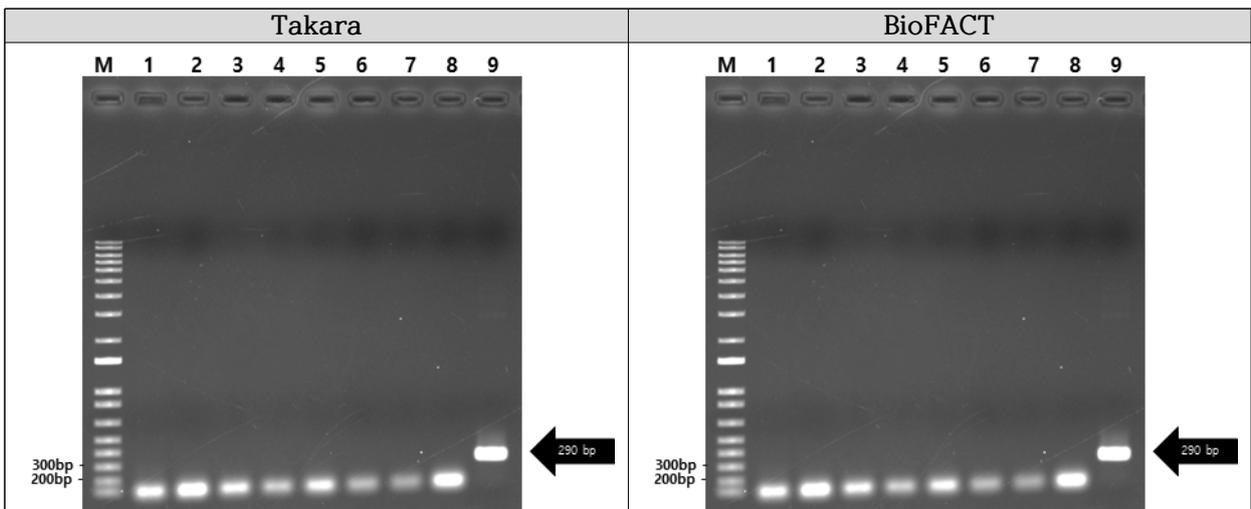
<치커리>



<그림> PPV CP 5985 F/ PPV CP 887 R(200 nM)을 사용하여 치커리에서 PCR (Ta: 57 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

PPV 바이러스 프라이머(PV CP 5985 F/ PPV CP 887 R)를 사용하여 PPV의 기주식물에 포함되는 치커리를 대상으로 비특이적인 반응 여부를 외국산과 국내산 중합효소들을 사용하여 비교분석을 하였음. 치커리를 RNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 1000 ng total RNA와 hexamer를 사용하여 cDNA를 합성하였음. 합성된 cDNA를 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 치커리에서도 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음. 또한, 외국산과 국내산 중합효소들의 비교 결과에서도 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음.

<클로버>

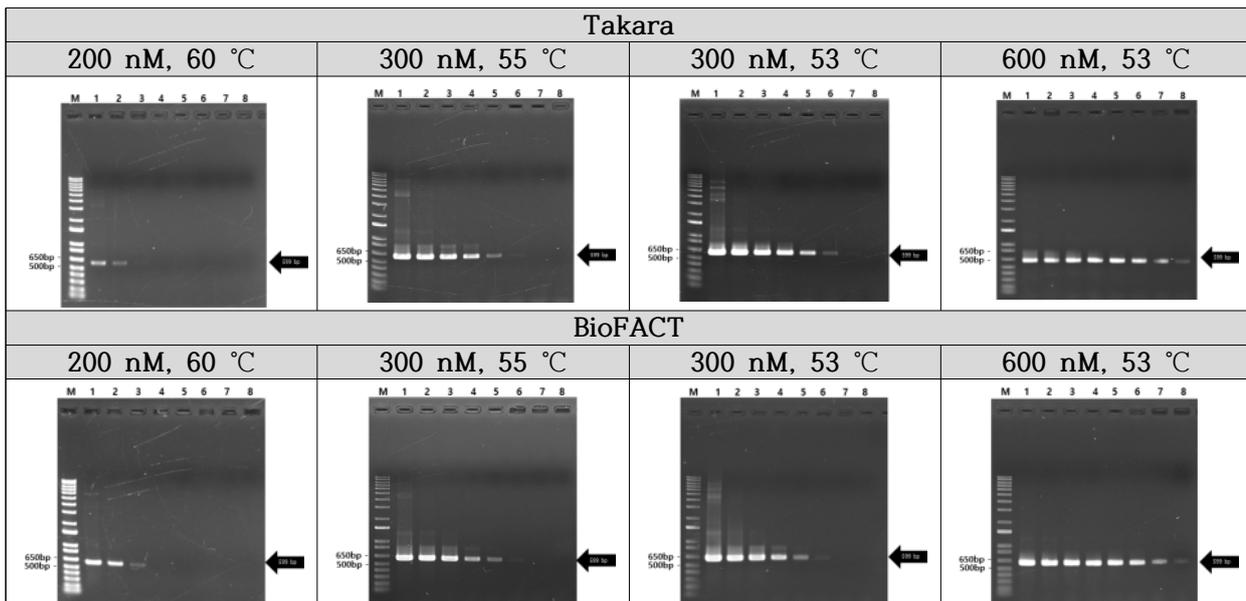


<그림> PPV CP 5985 F/ PPV CP 887 R(200 nM)을 사용하여 클로버에서 PCR(Ta: 57 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

PPV 바이러스 프라이머(PV CP 5985 F/ PPV CP 887 R)를 사용하여 PPV의 기주식물에 포함되는 클로버를 대상으로 비특이적인 반응 여부를 외국산과 국내산 중합효소들을 사용하여 비교분석을 하였

음. 치커리를 RNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 1000 ng total RNA와 hexamer를 사용하여 cDNA를 합성하였음. 합성된 cDNA를 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 클로버에서도 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음. 또한, 외국산과 국내산 중합효소들의 비교 결과에서도 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음.

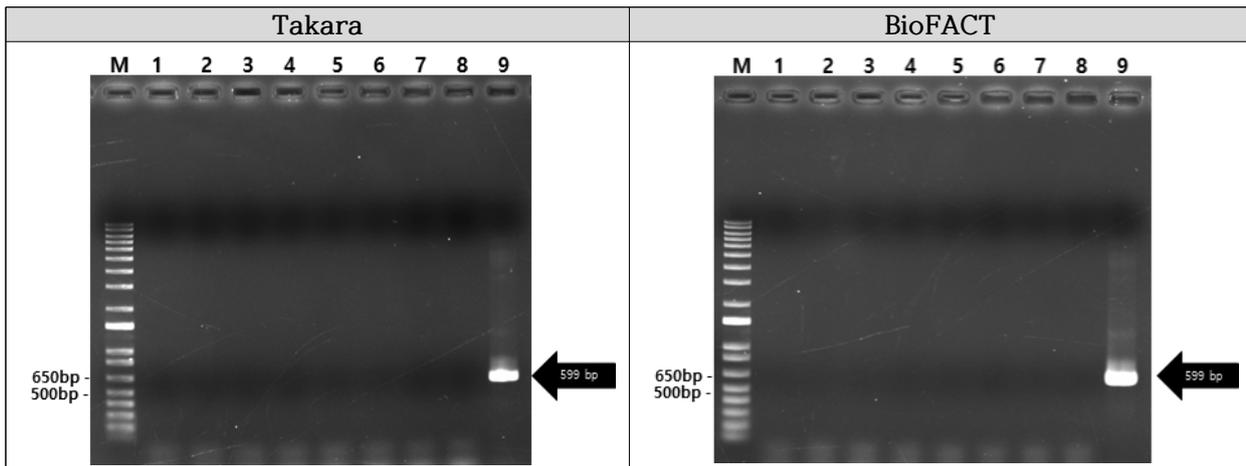
- BRRSV 검정 프라이머를 사용한 표준양성시료 검정 결과
 - BRRSV CP 115 F/ BRRSV CP 713 R



<그림> BRRSV CP 115 F/ BBR SV CP 713 R의 다양한 농도와 Ta 온도를 사용하여 표준양성시료에서 PCR 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 BRRSV 바이러스 프라이머(BRRSV CP 115 F/ BBR SV CP 713 R)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP 0.12 mM dNTP, BioFACT), 200-600 nM downstream primer, 200-600 nM upstream primer, Taq DNA polymerase (5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 53-60 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 200 nM primers(Ta: 60 °C)에서는 1 ng(rTaq, Takara) 또는 100 pg(Taq DNA polymerase, BioFACT) 표준양성시료 농도까지만 증폭된 DNA fragments가 관찰되었음. 300 nM primers(Ta: 55 °C)에서는 1 pg 표준양성시료 농도까지만 증폭된 DNA fragments가 관찰되었음. 300 nM primers(Ta: 53 °C)에서는 100 fg 표준양성시료 농도까지만 증폭된 DNA fragments가 관찰되었음. 600 nM primers(Ta: 53 °C)에서는 1 fg 표준양성시료 농도까지 증폭된 DNA fragments가 관찰되었음. 따라서 새로 보완된 BRRSV 바이러스 프라이머는 PCR을 수행할 때, 600 nM primers 농도와 53 °C 온도(Ta)를 권장함.

□ BBRV 검정 프라이머를 사용하여 기주식물 검정결과

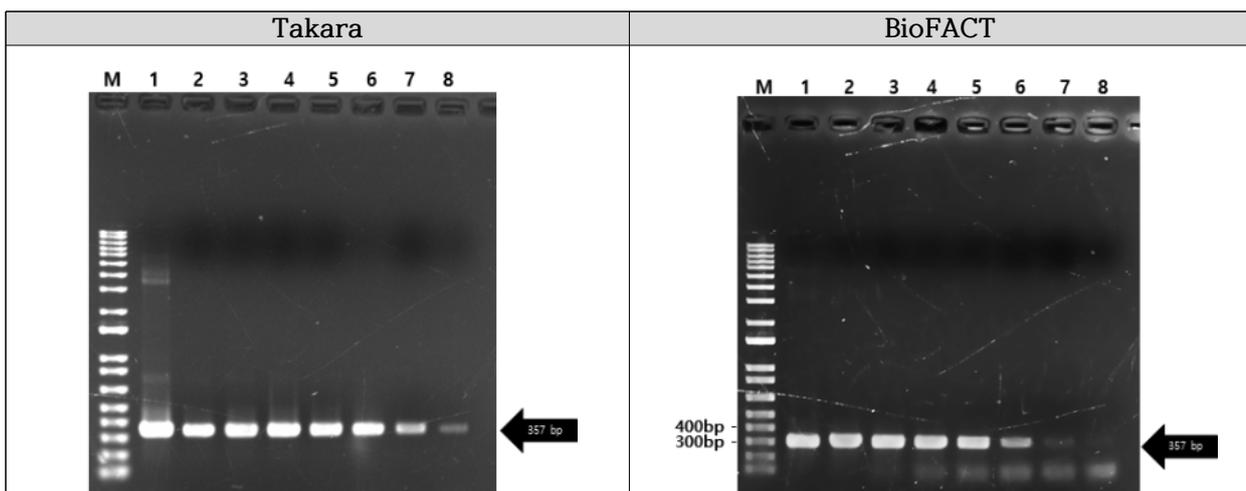


<그림> BBRV CP 115 F/ BBRV CP 713 R(600 nM)을 사용하여 블루베리에서 PCR(Ta: 53 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

BBRV 바이러스 프라이머(BBRV CP 115 F/ BBRV CP 713 R)를 사용하여 BBRV의 기주식물에 포함되는 블루베리를 대상으로 비특이적인 반응 여부를 외국산과 국내산 중합효소들을 사용하여 비교 분석을 하였음. 블루베리 식물체에서 DNeasy Plant Kit(Qiagen)를 사용하여 DNA를 추출한 후, 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 블루베리에서 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음. 또한, 외국산과 국내산 중합효소들의 비교 결과에서도 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음.

□ BIScV 검정 프라이머를 사용한 표준양성시료 검정 결과

- BIScV 8061 F/ BIScV 8417 R (Ta: 60 °C)

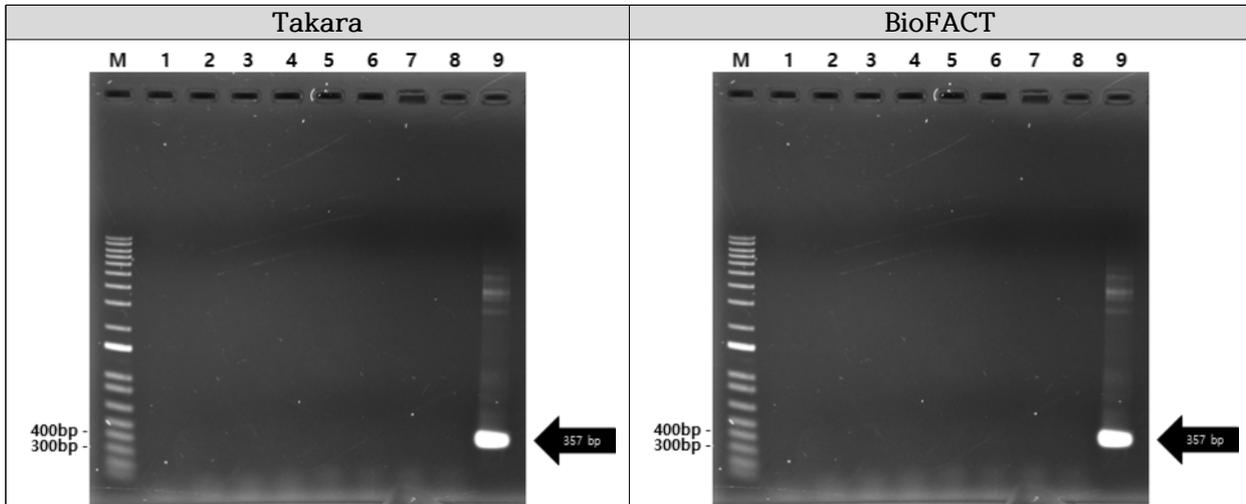


<그림> BIScV 8061 F/ BIScV 8417 R(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 60 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 BIScV 바이러스 프라이머(BIScV 8061 F/ BIScV 8417 R)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로

PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 60 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 국내산 종합 효소보다 외국산 종합효소에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 좀 더 선명하게 확인할 수 있었음.

□ BISScV 검정 프라이머를 사용하여 기주식물 검정결과

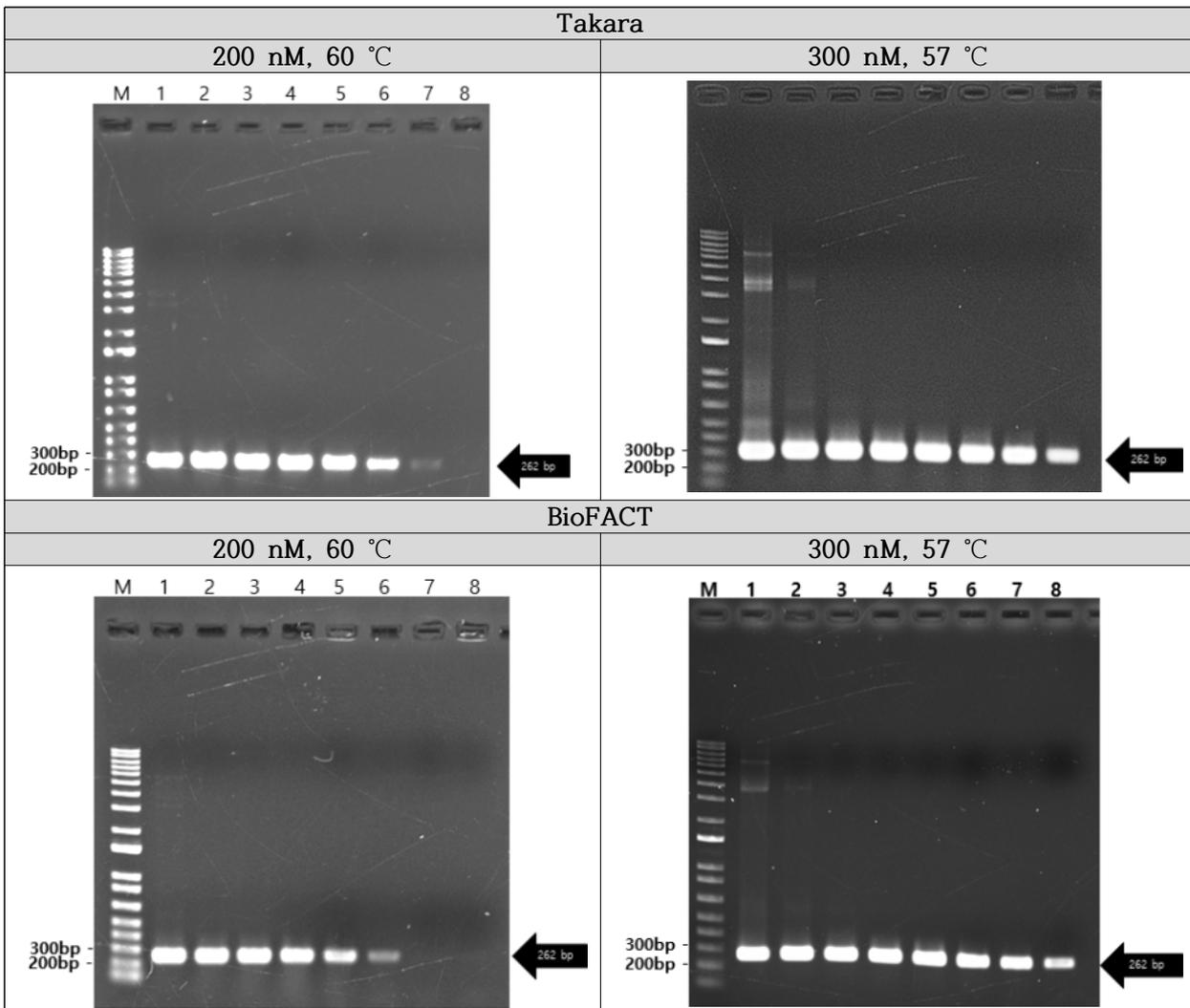


<그림> BISScV 8061 F/ BISScV 8417 R(200 nM)을 사용하여 블루베리에서 PCR(Ta: 60 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

BISScV 바이러스 프라이머 BISScV 8061 F/ BISScV 8417 R)를 사용하여 BISScV의 기주식물에 포함되는 블루베리를 대상으로 비특이적인 반응 여부를 외국산과 국내산 종합효소들을 사용하여 비교분석을 하였음. 블루베리를 RNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 1000 ng total RNA와 hexamer를 사용하여 cDNA를 합성하였음. 합성된 cDNA를 10배 연속 희석법 (10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성 시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 블루베리에서 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음. 또한, 외국산과 국내산 종합효소들의 비교 결과에서도 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음.

□ CNRMV 검정 프라이머를 사용한 표준양성시료 검정 결과

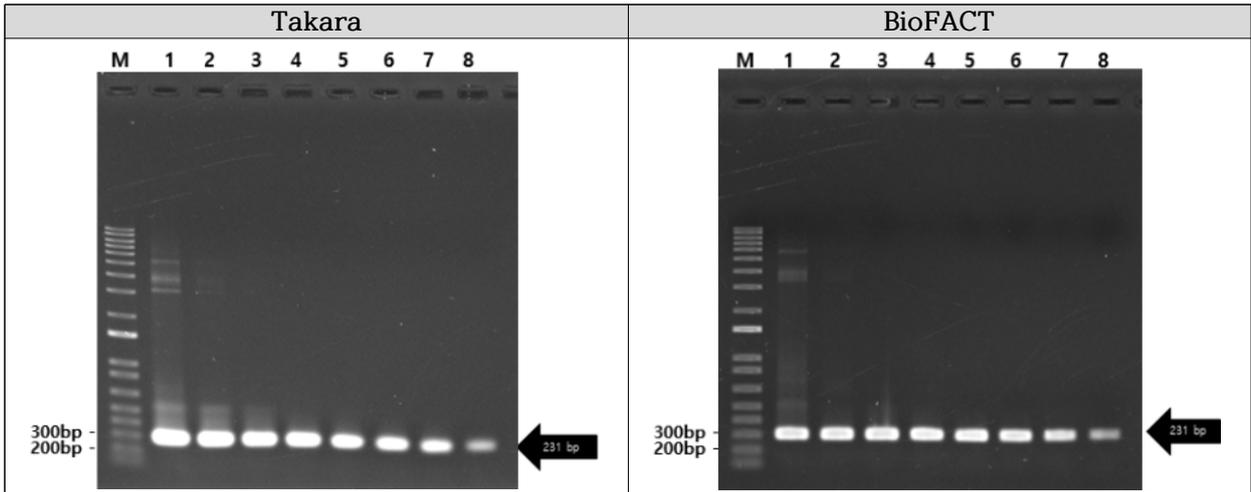
- CNRMV CP 50 F/ CNRMV 311 R



<그림> CNRMV CP 50 F/ CNRMV 311 R의 농도와 Ta 온도를 다르게 하여 표준양성시료에서 PCR 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 CNRMV 바이러스 프라이머(CNRMV CP 50 F/ CNRMV 311 R)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 종합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200–300 nM downstream primer, 200–600 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 57–60 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 200 nM primers(Ta: 60 °C) 에서는 10 fg(rTaq, Takara) 또는 100 fg(Taq DNA polymerase, BioFACT) 표준양성시료 농도까지만 증폭된 DNA fragments가 관찰되었음. 300 nM primers(Ta: 57 °C) PCR 조건에서는 외국산과 국내산 종합효소 모두 1 fg 표준양성시료 농도까지 증폭된 DNA fragments가 관찰되었음. 따라서 새로 보완된 CNRMV 바이러스 프라이머는 PCR을 수행할 때, 300 nM primers 농도와 57 °C 온도(Ta)를 권장함.

- CNRMV CP 244 F/ CNRMV 541 R



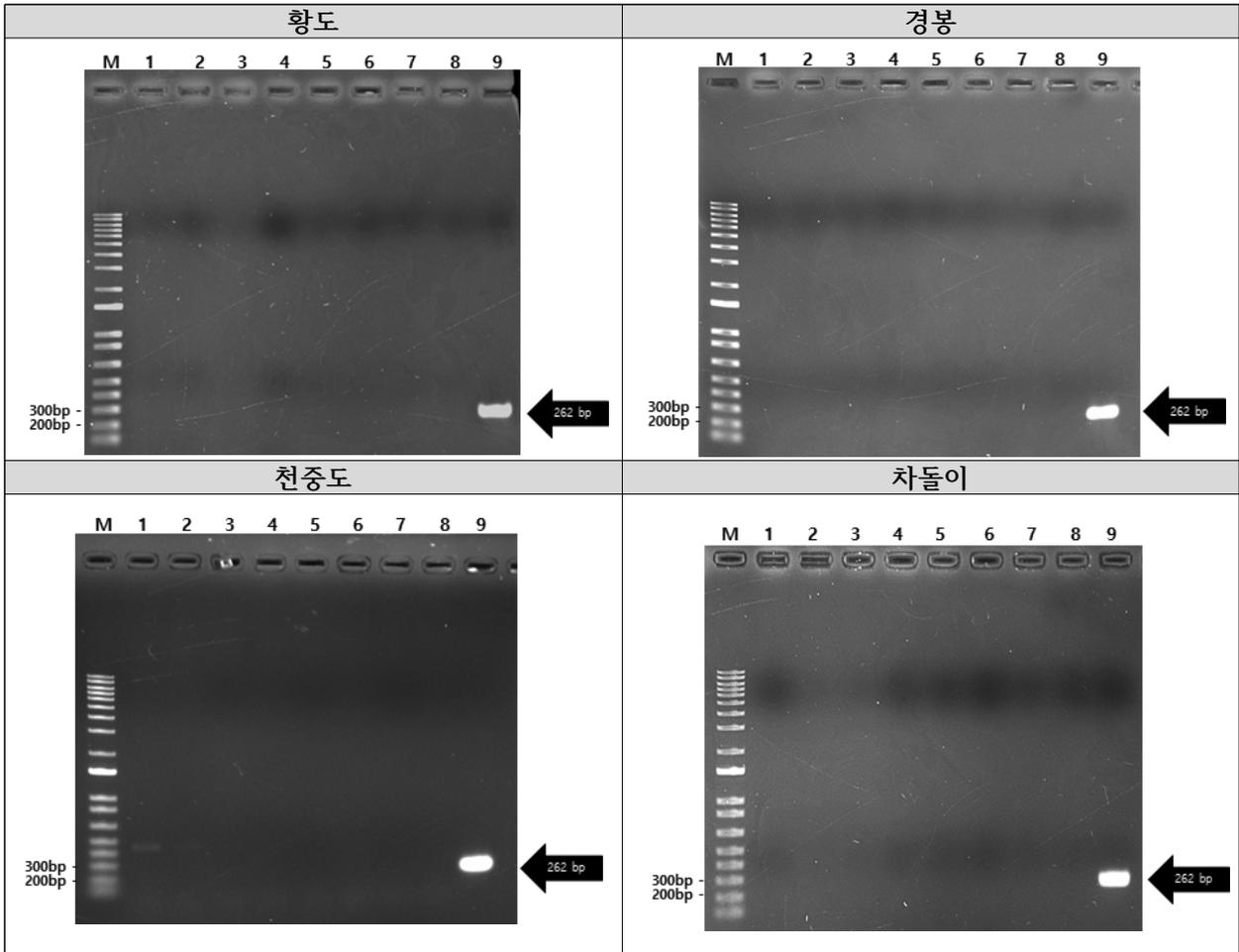
<그림> CNRMV CP 244 F/ CNRMV 541 R(200 nM)와 두 종류의 Taq DNA polymerase을 각각 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 57 °C)수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 CNRMV 바이러스 프라이머(CNRMV CP 244 F/ CNRMV 541 R)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 57 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 국내산 중합효소보다 외국산 중합효소에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 좀 더 선명하게 확인할 수 있었음.

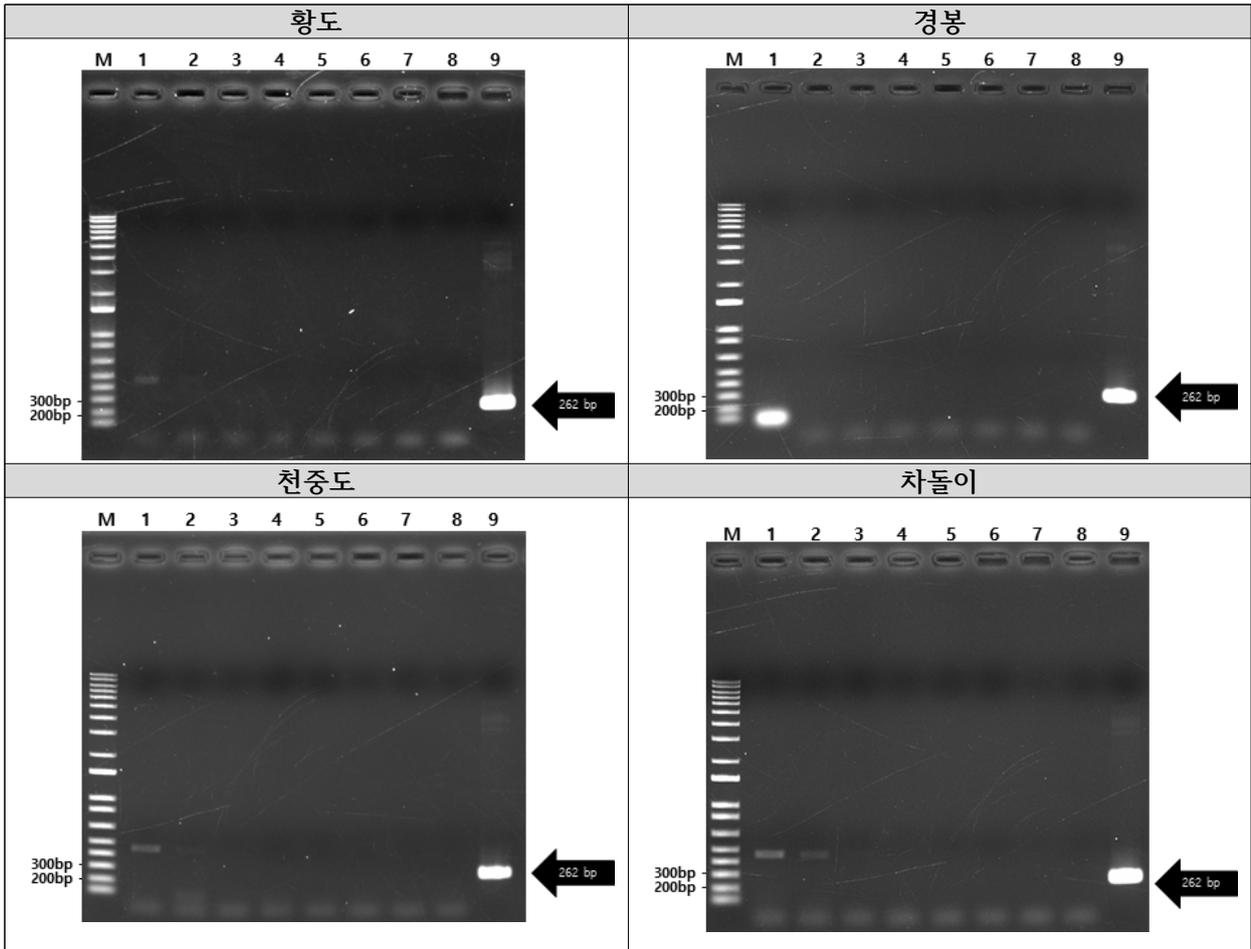
□ CNRMV 검정 프라이머를 사용하여 기주식물 검정결과

<복숭아>

- CNRMV CP 50 F/ CNRMV 311 R



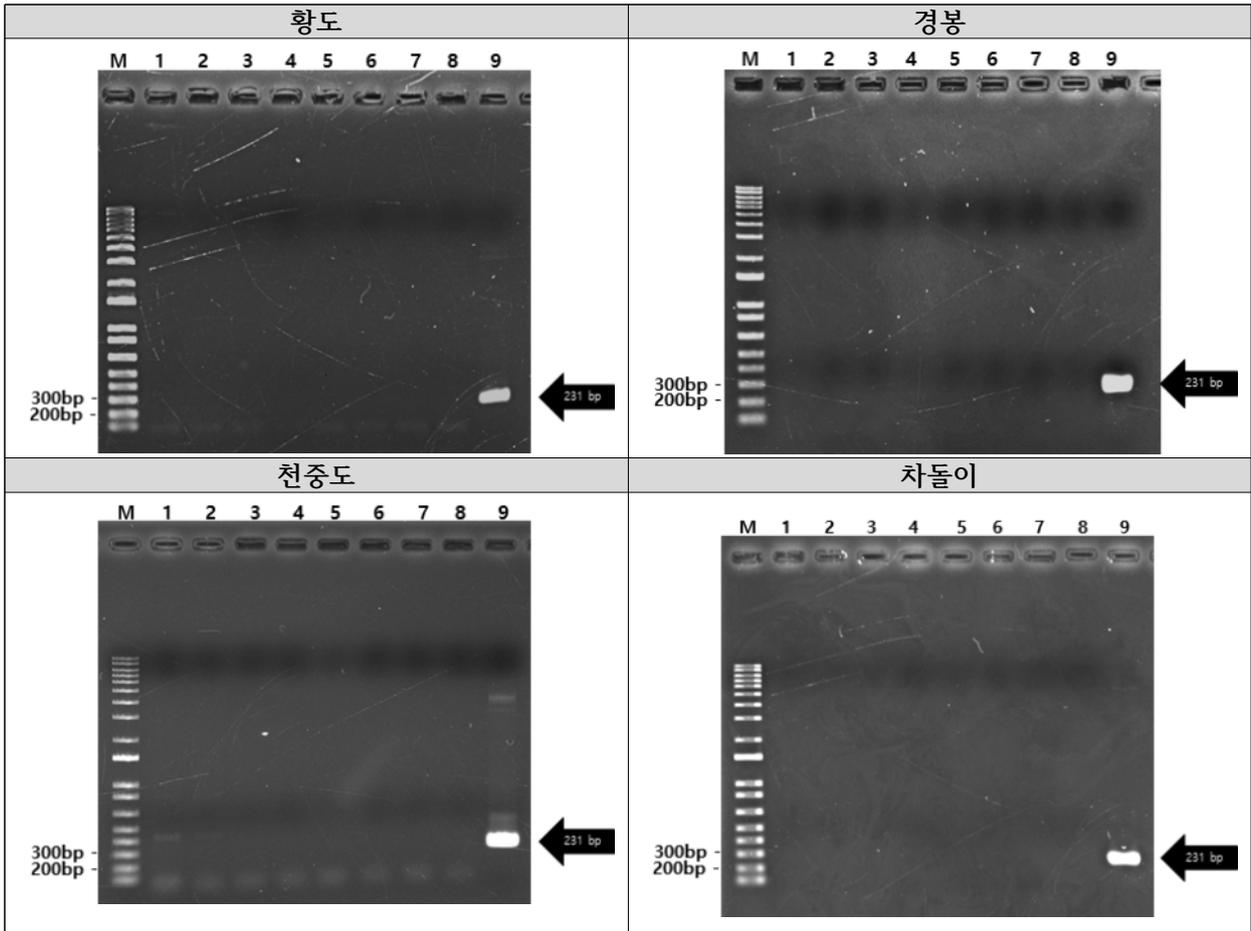
<그림> CNRMV CP 50 F/ CNRMV 311 R(300 nM)와 rTaq(Takara)을 사용하여 복숭아 4종에서 PCR(Ta: 57 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.



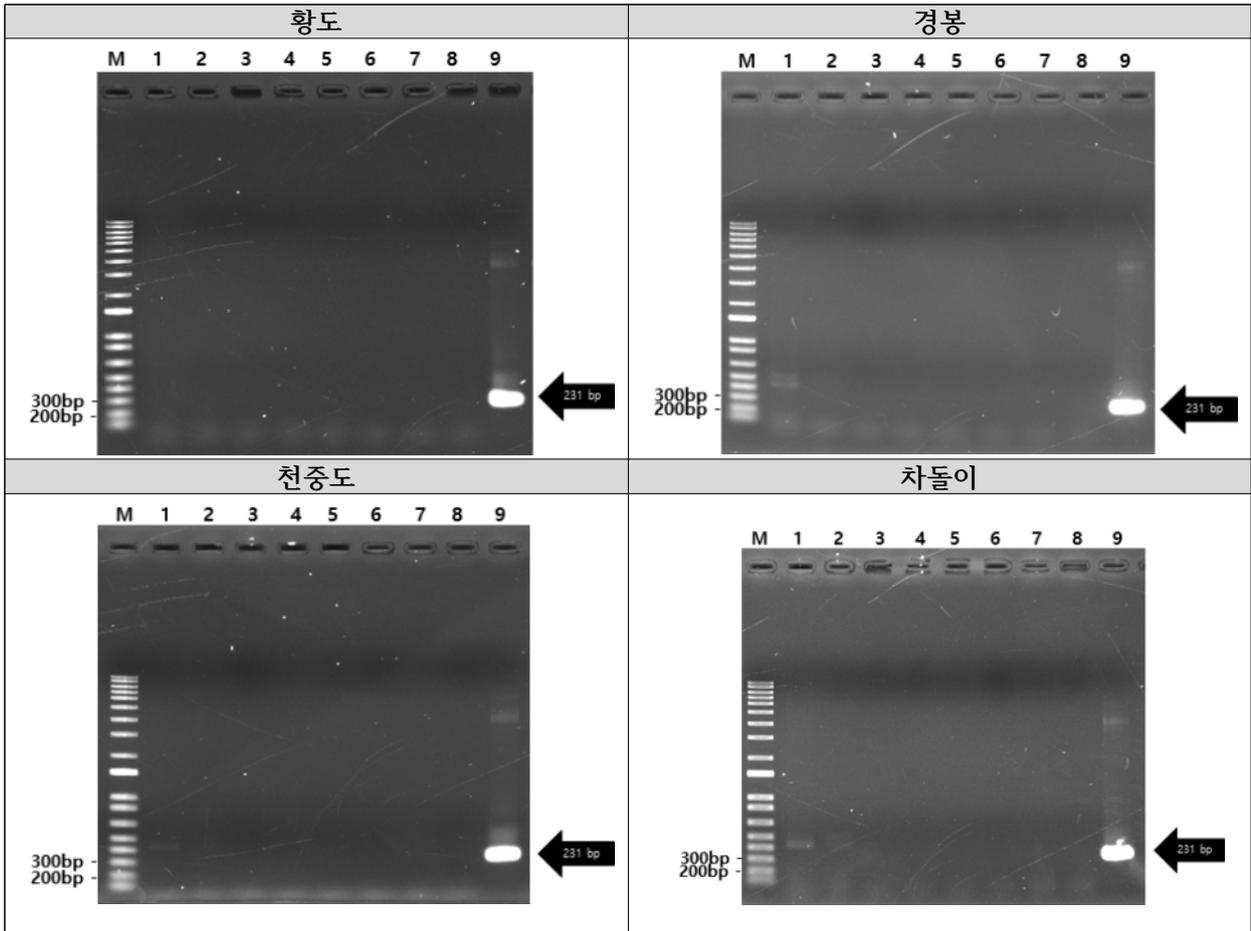
<그림> CNRMV CP 50 F/ CNRMV 311 R(300 nM)와 Taq DNA polymerase(BioFACT)을 사용하여 복숭아 4종에서 PCR(Ta: 57 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

CNRMV 바이러스 프라이머(CNRMV CP 50 F/ CNRMV 311 R)를 사용하여 CNRMV의 기주식물에 포함되는 복숭아 4종에 대상으로 비특이적인 반응 여부를 외국산과 국내산 중합효소들을 사용하여 비교 분석을 하였음. 복숭아 4종을 RNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 1000 ng total RNA와 hexamer를 사용하여 cDNA를 합성하였음. 합성된 cDNA를 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 복숭아 4종에서는 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음. 또한, 외국산과 국내산 중합효소들의 비교 결과에서도 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음.

- CNRMV CP 244 F/ CNRMV 541 R



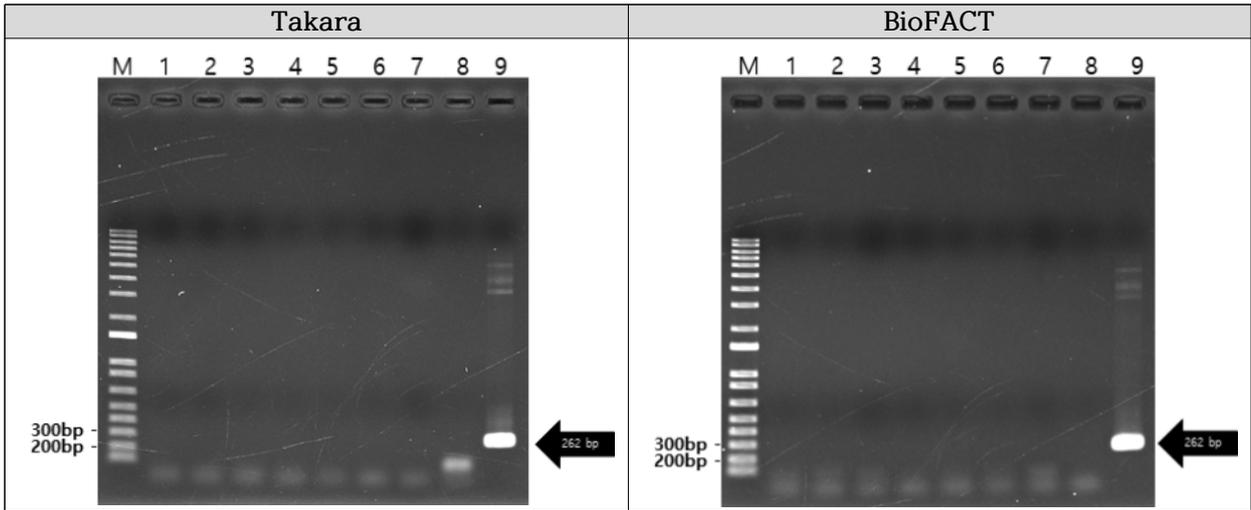
<그림> CNRMV CP 244 F/ CNRMV 541 R (200 nM)와 rTaq(Takara)을 사용하여 복숭아 4종에서 PCR(Ta: 57 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.



<그림> CNRMV CP 244 F/ CNRMV 541 R(200 nM)와 Taq DNA polymerase(BioFACT)을 사용하여 복숭아 4종에서 PCR(Ta: 57 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

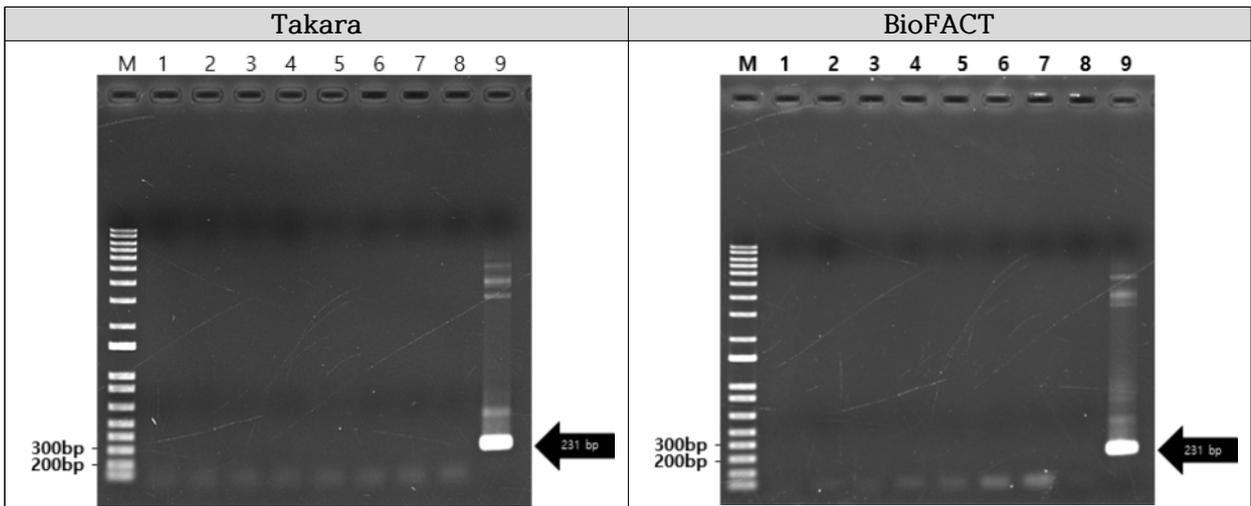
CNRMV 바이러스 프라이머(CNRMV CP 244 F/ CNRMV 541 R)를 사용하여 CNRMV의 기주식물에 포함되는 복숭아 4종에 대상으로 비특이적인 반응 여부를 외국산과 국내산 종합효소들을 사용하여 비교 분석을 하였음. 복숭아 4종을 RNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 1000 ng total RNA와 hexamer를 사용하여 cDNA를 합성하였음. 합성된 cDNA를 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 복숭아 4종에서는 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음. 또한, 외국산과 국내산 종합효소들의 비교 결과에서도 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음.

<벚나무>



<그림> CNRMV CP 50 F/ CNRMV 311 R(300 nM)와 두 종류의 Taq DNA polymerase를 각각 사용하여 벚나무에서 PCR(Ta: 57 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

CNRMV 바이러스 프라이머(CNRMV CP 50 F/ CNRMV 311 R)를 사용하여 CNRMV의 기주식물에 포함되는 벚나무를 대상으로 비특이적인 반응 여부를 외국산과 국내산 중합효소들을 사용하여 비교분석을 하였음. 벚나무를 RNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 1000 ng total RNA와 hexamer를 사용하여 cDNA를 합성하였음. 합성된 cDNA를 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성 시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 벚나무에서 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음. 또한, 외국산과 국내산 중합효소들의 비교 결과에서도 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음.



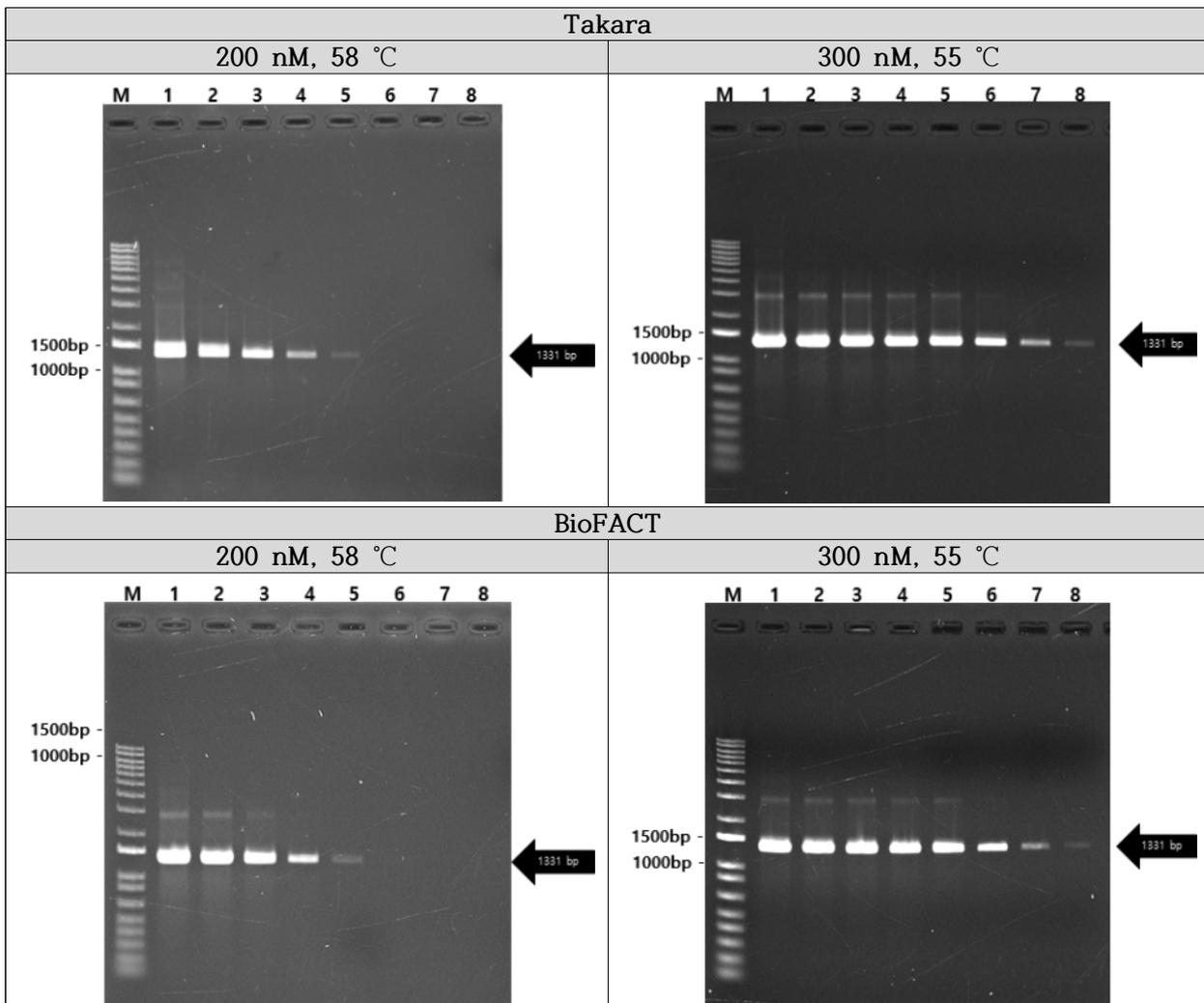
<그림> CNRMV CP 244 F/ CNRMV 541 R(200 nM)와 두 종류의 Taq DNA polymerase를 각각 사용하여 벚나무에서 PCR (Ta: 57 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

CNRMV 바이러스 프라이머(CNRMV CP 244 F/ CNRMV 541 R)를 사용하여 CNRMV의 기주식물에 포함되는 벚나무를 대상으로 비특이적인 반응 여부를 외국산과 국내산 중합효소들을 사용하여 비교분석

을 하였음. 벚나무를 RNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 1000 ng total RNA와 hexamer를 사용하여 cDNA를 합성하였음. 합성된 cDNA를 10배 연속 희석법 (10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성 시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 벚나무에서 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음. 또한, 외국산과 국내산 중합효소들의 비교 결과에서도 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음.

□ LChV-1 검정 프라이머를 사용한 표준양성시료 검정 결과

- LChV1 11929 F/ LChV1 13255 R

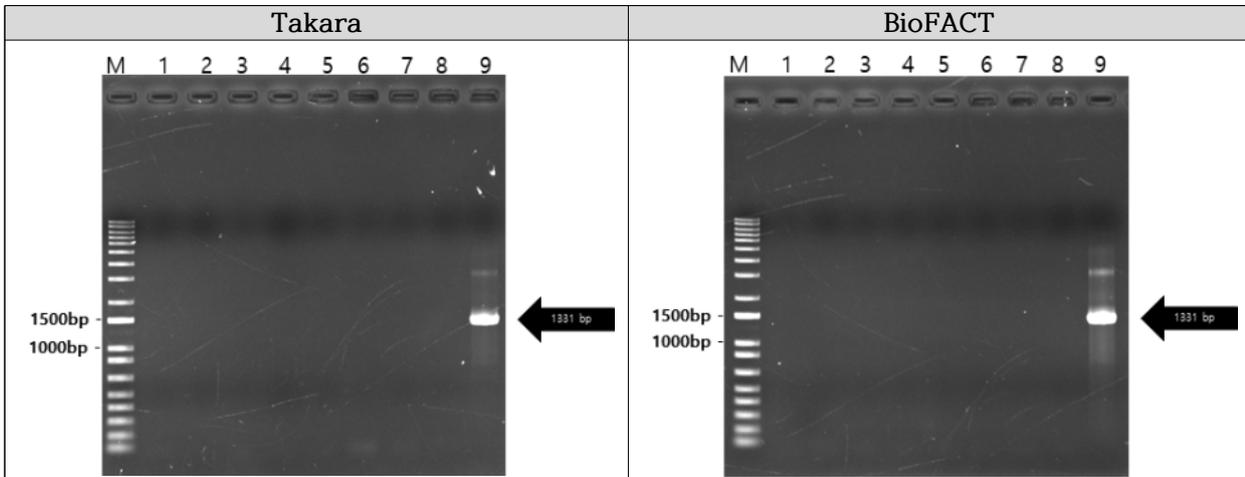


<그림> LChV1 11929 F/ LChV1 13255 R의 농도와 Ta 온도를 다르게 하여 표준양성시료에서 PCR 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 LChV-1 바이러스 프라이머(11929 F/ LChV1 13255 R)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200-300 nM downstream primer, 200-300 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 55-58 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 200 nM primers(Ta: 55 °C)를 사용한 PCR 조건에서는 외국산과 국내산 중합효소 모두 1 fg 표

준양성시료 농도까지 증폭된 DNA fragments가 관찰되었음. 따라서 새로 보완된 LChV-1 바이러스 프라이머는 PCR을 수행할 때, 300 nM primers 농도와 55 °C 온도(Ta)를 권장함.

□ LChV-1 검정 프라이머를 사용하여 기주식물 검정결과

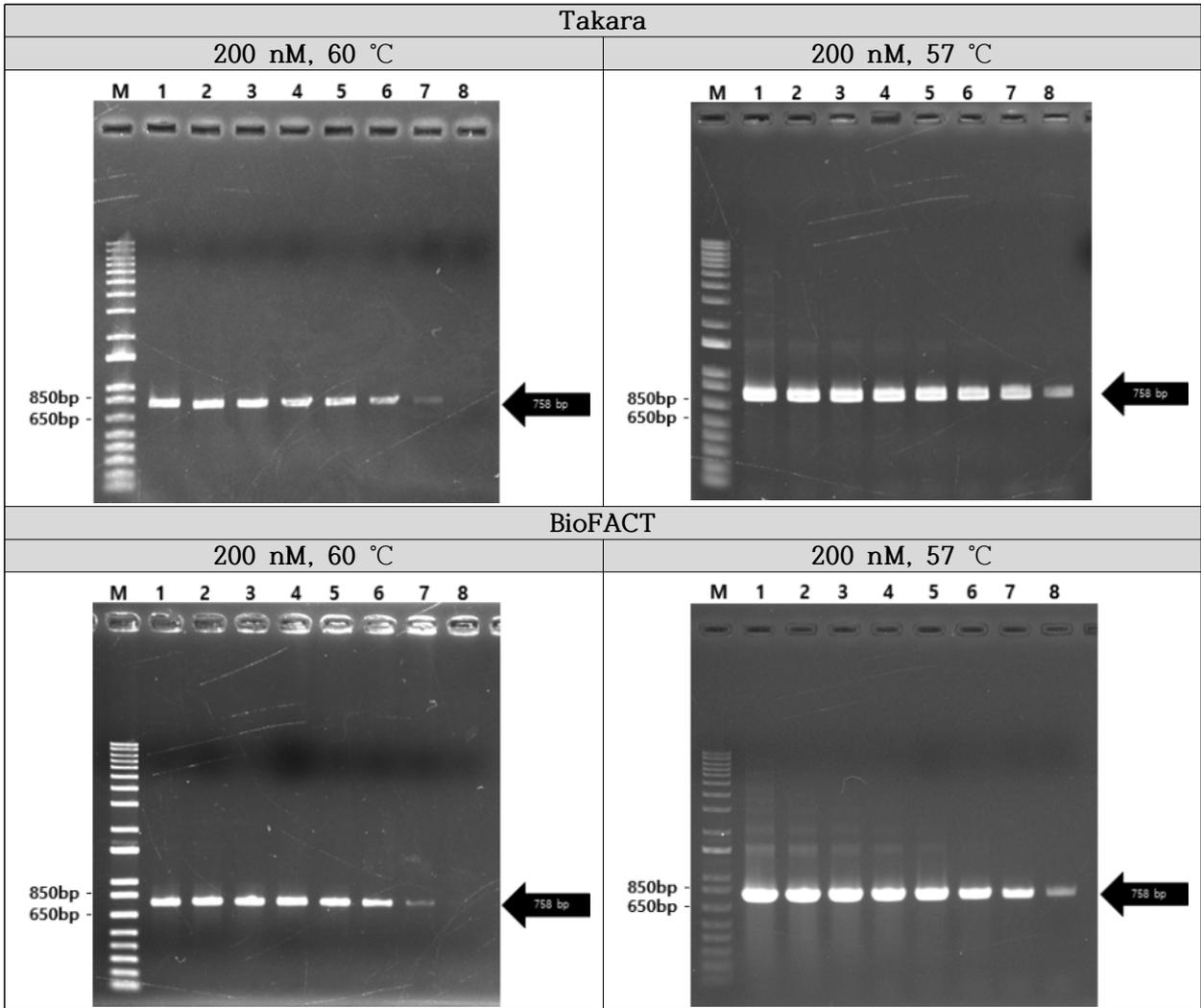


<그림> LChV1 11929 F/ LChV1 13255 R(300 nM)을 사용하여 벚나무에서 PCR(Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

LChV-1 바이러스 프라이머(11929 F/ LChV1 13255 R)를 사용하여 LchV-1의 기주식물에 포함되는 벚나무를 대상으로 비특이적인 반응 여부를 외국산과 국내산 중합효소들을 사용하여 비교분석을 하였음. 벚나무를 RNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 1000 ng total RNA와 hexamer를 사용하여 cDNA를 합성하였음. 합성된 cDNA를 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 벚나무에서 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음. 또한, 외국산과 국내산 중합효소들의 비교 결과에서도 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음.

□ LChV-2 검정 프라이머를 사용한 표준양성시료 검정 결과

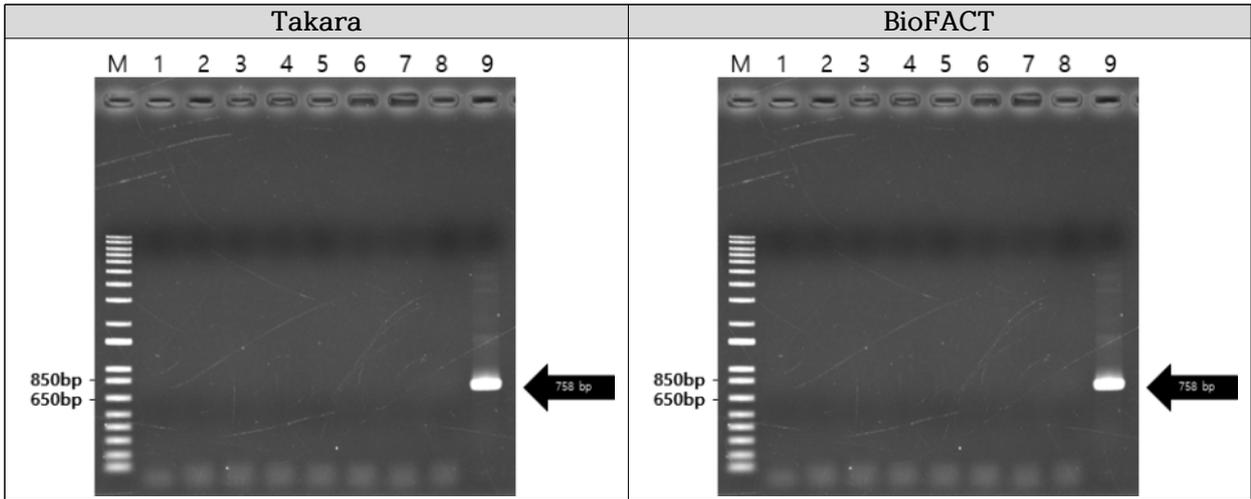
- LChV2 5449 F/ LChV2 6206 R



<그림> LChV2 5449 F/ LChV2 6206 R의 Ta 온도를 다르게 하여 표준양성시료에서 PCR 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 LChV-2 바이러스 프라이머(LChV2 5449 F/ LChV2 6206 R)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase (5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 57-60 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 200 nM primers(Ta: 60 °C)를 사용한 PCR 조건에서는 외국산과 국내산 중합효소 모두 10 fg 표준양성시료 농도까지만 증폭된 DNA fragments가 관찰되었음. 200 nM primers(Ta: 67 °C)를 사용한 PCR 조건에서는 외국산과 국내산 중합효소 모두 1 fg 표준양성시료 농도까지 증폭된 DNA fragments가 관찰되었음. 따라서 새로 보완된 LChV-2 바이러스 프라이머는 PCR을 수행할 때, 200 nM primers 농도와 57 °C 온도(Ta)를 권장함.

□ LChV-2 검정 프라이머를 사용하여 기주식물 검정결과



<그림> LChV2 5449 F/ LChV2 6206 R(200 nM)을 사용하여 벚나무에서 PCR(Ta: 57 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

LChV-2 바이러스 프라이머(LChV2 5449 F/ LChV2 6206 R)를 사용하여 LchV-2의 기주식물에 포함되는 벚나무를 대상으로 비특이적인 반응 여부를 외국산과 국내산 중합효소들을 사용하여 비교분석을 하였음. 벚나무를 RNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 1000 ng total RNA와 hexamer를 사용하여 cDNA를 합성하였음. 합성된 cDNA를 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성 시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 벚나무에서 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음. 또한, 외국산과 국내산 중합효소들의 비교 결과에서도 모두 비특이적인 반응을 보이지 않았음.

<3차년도 연구내용>

- 1) 기존 검사법 (프라이머)에 대한 유전자 기반 적정성 검토
 - 가) 바이러스 6종에 대한 최신 유전자 정보 확보

바이러스	유전자 정보 (NCBI accession no.)
Banana bract mosaic virus (BBrMV)	NC_009745, KT456531, DQ851496, HM131454, MG758140
Banana bunchy top virus (BBTV)	NC_003473, EF593169, JF957653, JF957654, JF957655, KM607518, JF957656, JF957657, JF957658, JN520595, JQ820461, JX170763, KM607446, KM607447, KM607448, KM607450, KM607451, KM607452, KM607458, KM607459, KM607465, KM607468, KM607490, KM607491, KM607493, KM607494, KM607495, KM607497, KM607498, KM607499, KM607500, KM607501, KM607502, KM607503, KM607504, KM607505, KM607511, KM607514, KM607516, KM607519, KM607520, KM607521, KM607522, KM607524, KM607528, KM607529, KM607530, KM607532, KM607535, KM607537, KM607537, KM607538, KM607539, KM607540, KM607541, KM607553, KM607554, KM607558, KM607567, KM607576, KM607581, KM607584, K759877, KY427064, MK140619, MK140620, MK140621
Carnation necrotic fleck virus (CNFV)	NC_038419, LC480257, GU234166

Colombian datura virus (CDV)	NC_020072, JQ801448, MW075268, AJ237921, AJ237923, AJ237922
Cowpea chlorotic mottle virus (CCMV)	NC_003542, M28818, HQ611268, HQ611271, AF325738, AF325741, MK046913
Tomato chlorosis virus (ToCV)	NC_007341, KJ200305, MT279195, KY810787, KJ200309, MF795557

미국 국립생물정보센터 (National Center for Biotechnology Information, NCBI)에 등록된 6종 바이러스 (BBrMV, BBTV, CNFV, CDV, CCMV, ToCV)들의 염기서열들을 [표]와 같이 확보함. 확보된 6종 바이러스들의 염기서열들은 기존 검사법에서 사용되고 있는 프라이머들의 염기서열들과 비교하여 프라이머의 적정성을 확인하는 데 활용되었음.

나) *In silico* 기반 분석을 통한 프라이머 적정성 점검

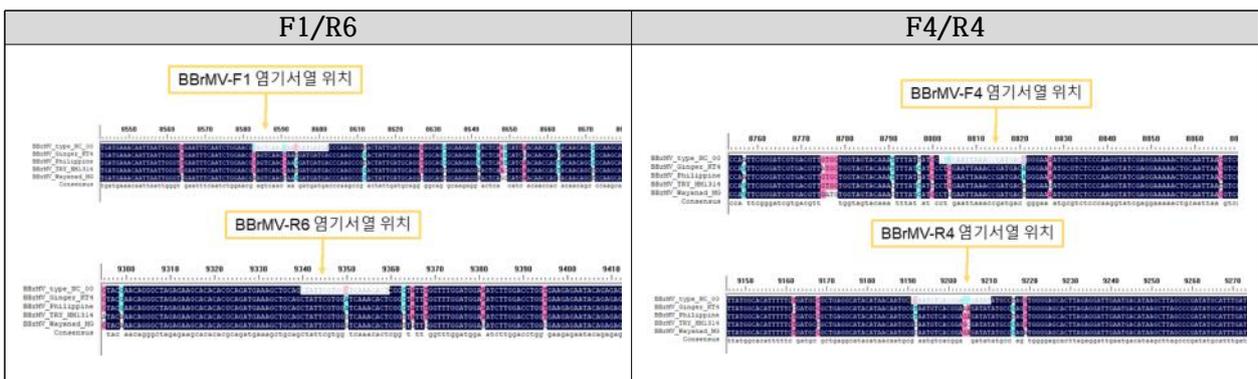
[표] 6종 바이러스들에 대한 기존 검사법에서 사용되고 있는 프라이머 정보

바이러스	점검대상 검사법(프라이머)	
	프라이머 세트	프라이머명
BBrMV	2	BBrMV-F1/R6, BBrMV-F4/R4
BBTV	2	BBTV-F1/R7, BBTV-F5/R7
CNFV	2	CNF-C60/N10, CNF-C40/N10
CDV	2	CD-F(CDV1)/R(CDV), CDV-1F/1R
CCMV	3	CCM-C60/N01, CCM-C50/N01, CCM-C53/N01
ToCV	1	ToCV-1F/1R

□ BBrMV 프라이머 적정성 검증

[표] BBrMV 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	증폭크기 (bp)
Banana bract mosaic virus (BBrMV)	BBrMV-F1	GAGTCAACCAATGATGATGA	629
	BBrMV-R6	AGTGTTTGACCCACGAATAG	
	BBrMV-F4	CTCGAATTAAACCGATGACT	559
	BBrMV-R4	ATATCTCTCCGTGACATTGC	



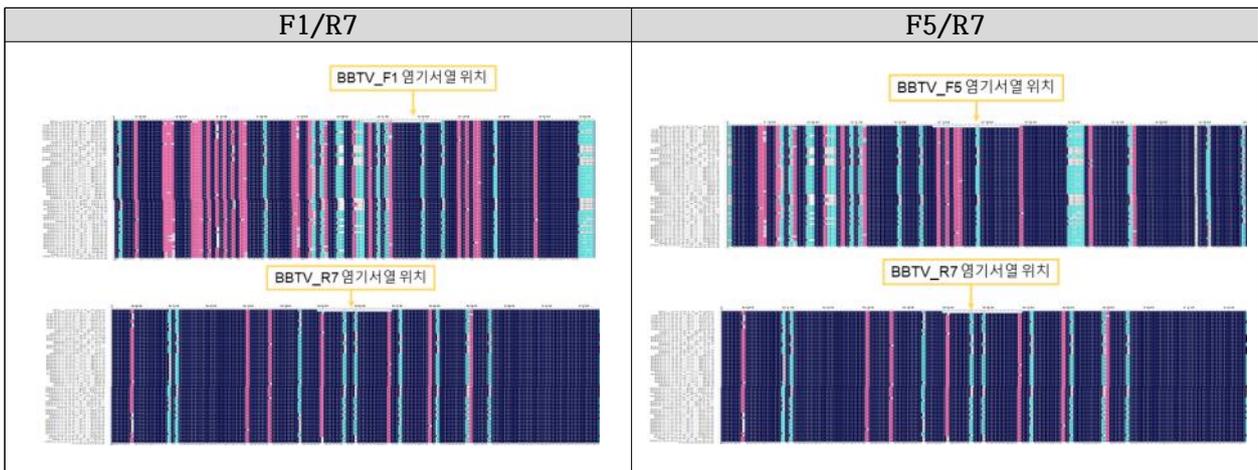
<그림> *In silico* 기반 분석을 통한 BBrMV 프라이머 적정성 분석 결과

BBrMV 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 최신 BBrMV isolates/strains 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. <그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들은 최신 BBrMV isolates/strains 염기서열들을 대상으로 alignment 분석 결과와 비교하였을 때, BBrMV isolates/strains 염기서열 중 같은 염기서열을 가지고 있는 위치보다는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 BBrMV 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들은 다시 보완하여 제작할 필요성이 있음.

□ BBTV 프라이머 적정성 검정

[표] BBTV 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	중폭크기 (bp)
Banana bunchy top virus (BBTV)	BBTV-F1	CAGACAACAAATGGCTAGGT	462
	BBTV-R7	TGCCAAATACAAATAATCCA	
	BBTV-F5	CGAAGAAATCCATCAAGAAG	439
	BBTV-R7	TGCCAAATACAAATAATCCA	



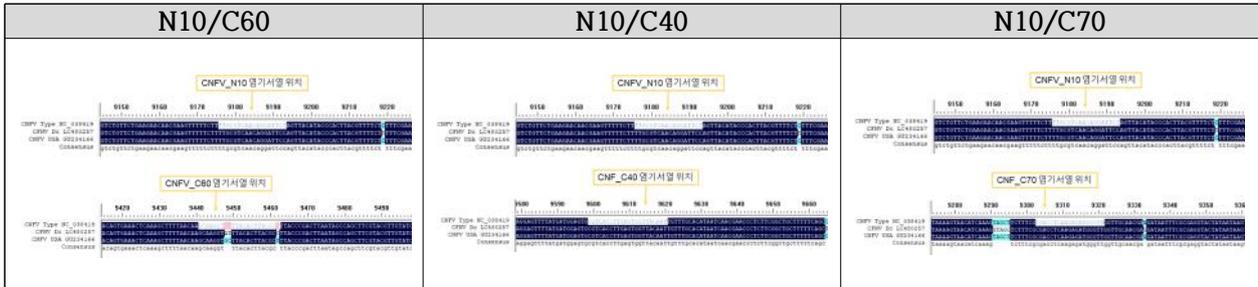
<그림> *In silico* 기반 분석을 통한 BBTV 프라이머 적정성 분석 결과

BBTV 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 최신 BBTV isolates/strains 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. <그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들은 최신 BBTV isolates/strains 염기서열들을 대상으로 alignment 분석 결과와 비교하였을 때, BBTV isolates/strains 염기서열 중 같은 염기서열을 가지고 있는 위치보다는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 BBTV 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들은 다시 보완하여 제작할 필요성이 있음.

□ CNFV 프라이머 적정성 검정

[표] CNFV 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	중폭크기 (bp)
Carnation necrotic fleck virus (CNFV)	CNF-C60	GGCGTAAGTGTAATACCTTGC	288
	CNF-N10	TTGCGTCAACAGGATTCC	
	CNF-C40	ATTGTAACCACTCAAGGTGACG	477
	CNF-N10	TTGCGTCAACAGGATTCC	
	CNF-C70	AACCCATCTCTTGAGGTCG	147
	CNF-N10	TTGCGTCAACAGGATTCC	



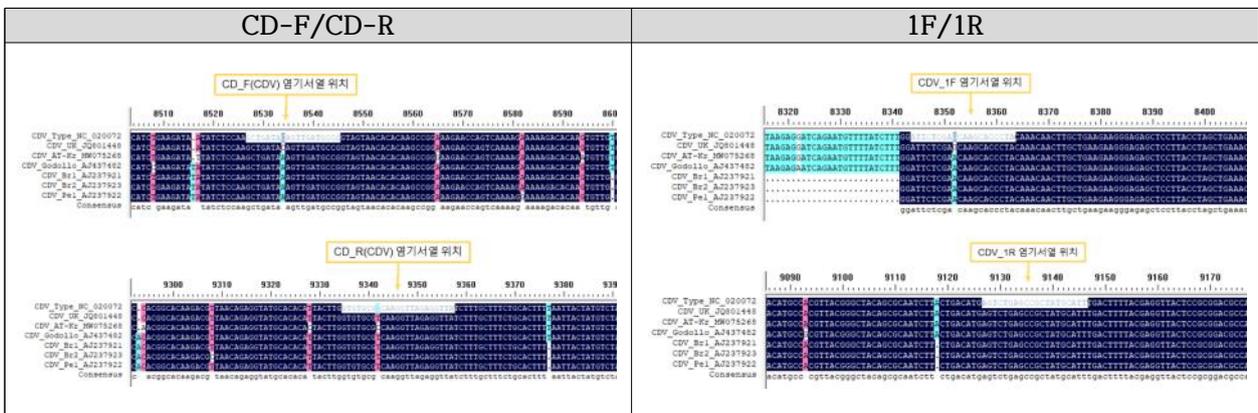
<그림> In silico 기반 분석을 통한 CNFV 프라이머 적정성 분석 결과

CNFV 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 최신 CNFV isolates/strains 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. <그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 N10, C40, C70 프라이머 염기서열들은 최신 CNFV isolates/strains 염기서열들을 대상으로 alignment 분석 결과와 비교하였을 때, CNFV isolates/strains 염기서열과 일치되는 위치에 제작이 되어 있음을 확인하였음. 그러나 C60 프라이머 염기서열은 서로 다른 염기서열들을 가지고 있는 위치에서 제작되었음. 따라서 CNFV 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들 중 C60 프라이머를 다시 보완하여 제작할 필요성이 있음.

□ CDV 프라이머 적정성 검증

[표] CDV 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	중폭크기 (bp)
Colombian datura virus (CDV)	CD-F(CDV)	GCTGATACAGTTGATGCCG	831
	CD-R(CDV)	TAACCTCTAACCTTGACGCACAC	
	CDV-1F	ATTCTCGAGCAAGCACCCTA	803
	CDV-1R	AATGCATAGCGGCTCAGACT	



<그림> In silico 기반 분석을 통한 CDV 프라이머 적정성 분석 결과

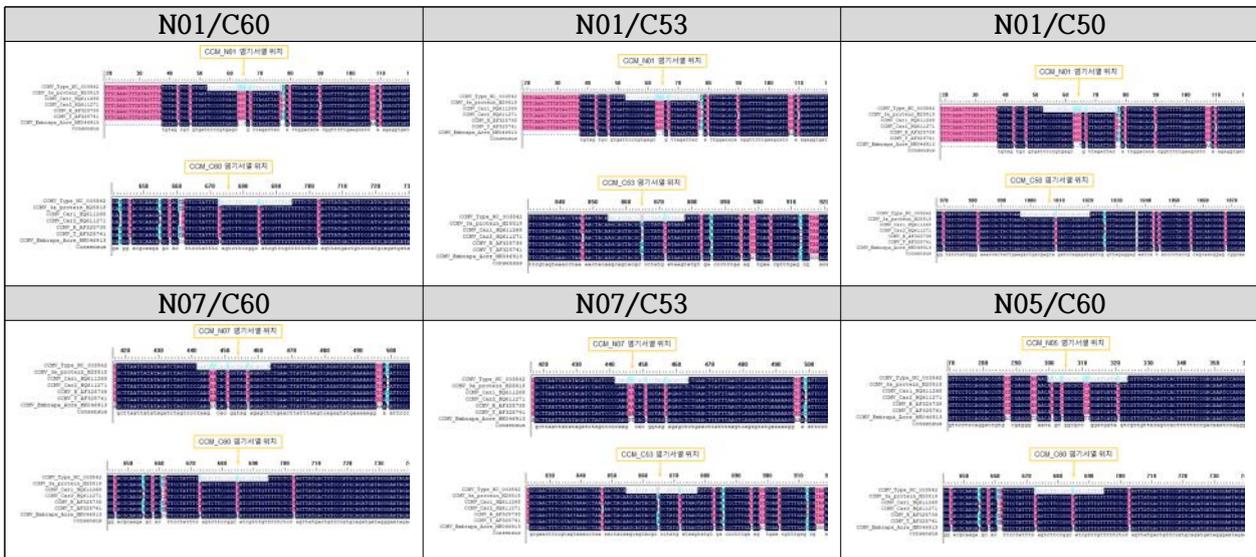
CDV 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 최신 CDV

isolates/strains 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. <그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 CDV-1R 프라이머 염기서열들은 최신 CDV isolates/strains 염기서열들을 대상으로 alignment 분석 결과와 비교하였을 때, CDV isolates/strains 염기서열과 일치되는 위치에 제작이 되어 있음을 확인하였음. 그러나 CD-F, CD-R, CDV-1F 프라이머 염기서열들은 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음. 따라서 CDV 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들 중 CD-F, CD-R, CDV-1F 프라이머를 다시 보완하여 제작할 필요성이 있음.

□ CCMV 프라이머 적정성 검증

[표] CCMV 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	중폭크기 (bp)
Cowpea chlorotic mottle virus (CCMV)	CCM-C60	ACAAACGATAGCCGGAAGACTA	641
	CCM-N01	TCCCGTGAGCAGCGTTTACATTACT	
	CCM-C50	ATCTCTGGATCTTGCTCGTCAGTC	967
	CCM-N01	TCCCGTGAGCAGCGTTTACATTACT	
	CCM-C53	CTTATACATAGGTGCGTACTGCT	824
	CCM-N01	TCCCGTGAGCAGCGTTTACATTACT	
	CCM-C60	ACAAACGATAGCCGGAAGACTA	253
	CCM-N07	CAAGAACACTGGTAGTAGAGCT	
	CCM-C53	CTTATACATAGGTGCGTACTGCT	436
	CCM-N07	CAAGAACACTGGTAGTAGAGCT	
	CCM-C60	ACAAACGATAGCCGGAAGACTA	395
	CCM-N05	AAGCCGGCGCCAGGATGATATGT	



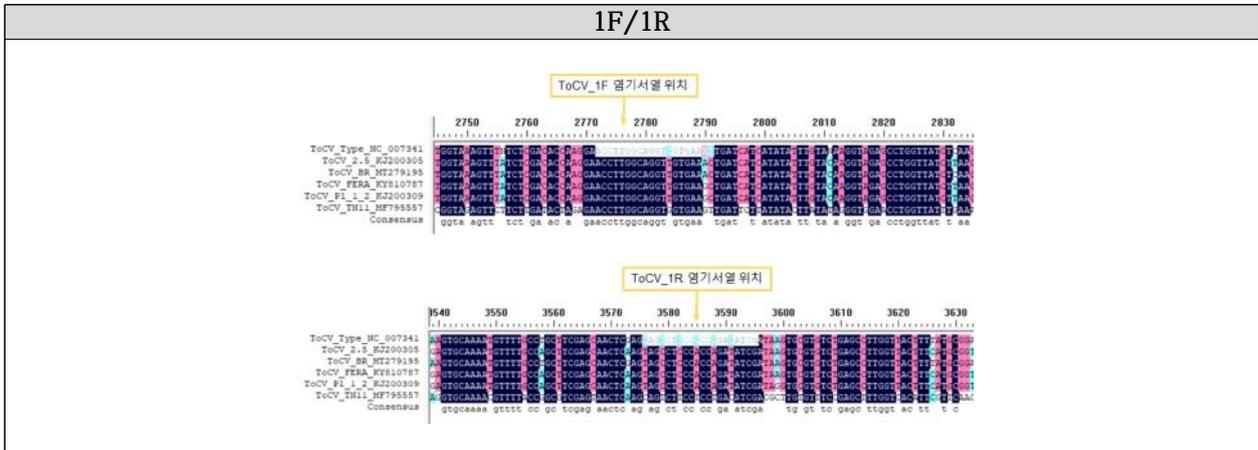
<그림> *In silico* 기반 분석을 통한 CNFV 프라이머 적정성 분석 결과

CCMV 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 최신 CCMV isolates/strains 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. <그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들은 최신 CCMV isolates/strains 염기서열들을 대상으로 alignment 분석 결과와 비교하였을 때, CCMV isolates/strains 염기서열 중 같은 염기서열을 가지고 있는 위치보다는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 CCMV 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들은 다시 보완하여 제작할 필요성이 있음.

□ ToCV 프라이머 적정성 검증

[표] ToCV 프라이머 정보

바이러스	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	중폭크기 (bp)
Tomato chlorosis virus (ToCV)	ToCV-1F	ACCTTGGCAGGTTGTGAAAC	827
	ToCV-1R	CGATATCTGGTGGGAGGCTA	



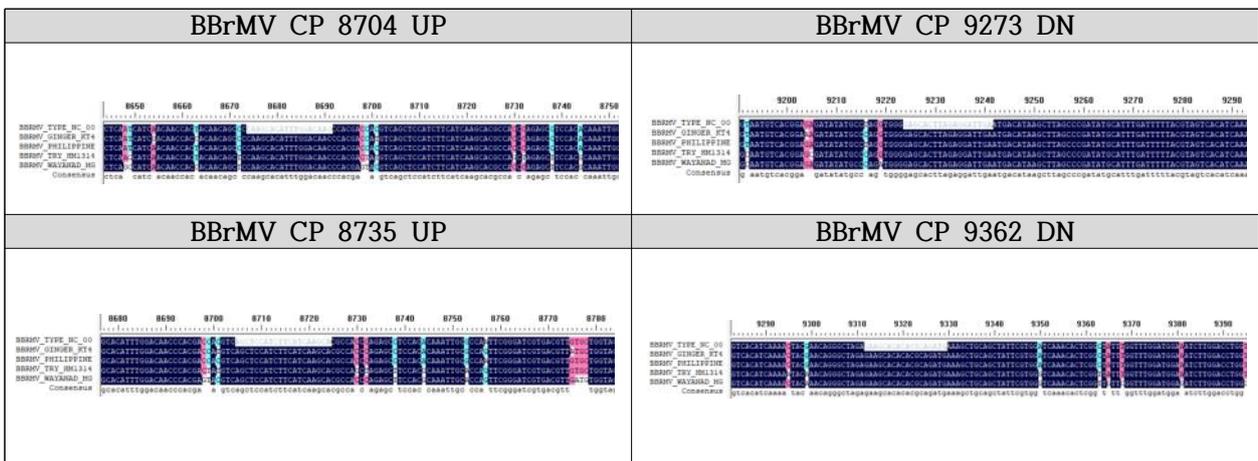
<그림> In silico 기반 분석을 통한 ToCV 프라이머 적정성 분석 결과

ToCV 바이러스에 대한 기존 검사법에서 사용되는 프라이머 염기서열들을 대상으로 최신 ToCV isolates/strains 바이러스 염기서열들과 *in silico* 분석을 통해 비교 분석하였음. <그림>에서 보여주는 것처럼 기존 검사법에 사용되는 프라이머 염기서열들은 최신 ToCV isolates/strains 염기서열들을 대상으로 alignment 분석 결과와 비교하였을 때, ToCV isolates/strains 염기서열 중 같은 염기서열을 가지고 있는 위치보다는 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 위치에서 제작되었음을 확인하였음. 따라서 ToCV 바이러스에 대한 기존 검사법에 사용되는 프라이머들은 다시 보완하여 제작할 필요성이 있음.

다) 신규 프라이머 제작

In silico 기반 분석을 통하여 6종 바이러스들(BBrMV, BBTv, CNFV, CDV, CCMV, ToCV)에 대한 새로운 프라이머 위치를 선정하여 제작하였음.

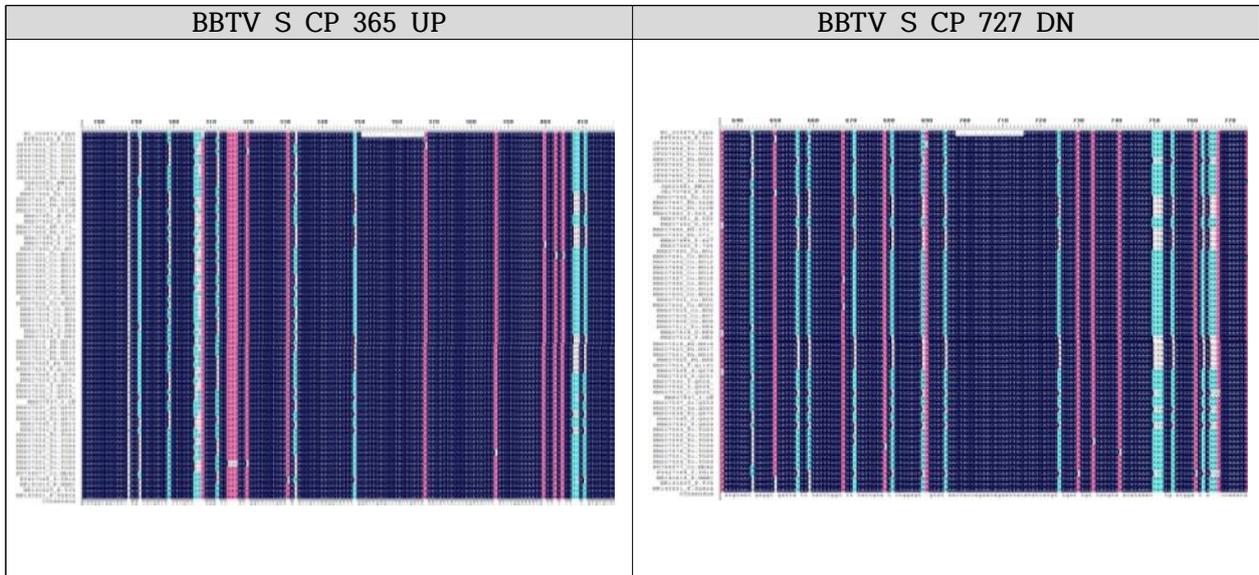
□ BBrMV 신규 프라이머 제작



<그림> BBrMV 신규 프라이머 위치 선정

확보된 최신 BBrMV isolates/strains의 외피 단백질 부위의 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, BBrMV isolates/strains 서로 같은 염기서열을 가지고 있는 부위를 선정하여 신규 프라이머들을 제작하였음 <그림>.

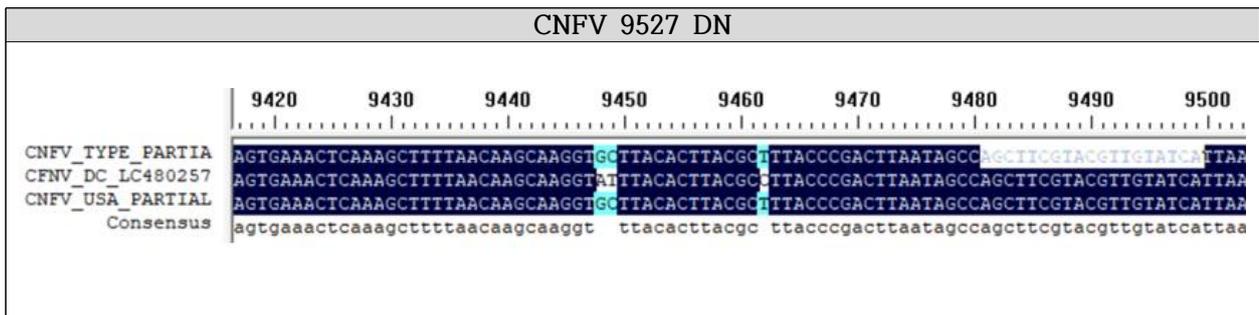
□ BBTV 신규 프라이머 제작



<그림> BBTV신규 프라이머 위치 선정

확보된 최신 BBTV isolates/strains의 외피 단백질 부위의 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, BBTV isolates/strains 서로 같은 염기서열을 가지고 있는 부위를 선정하여 신규 프라이머들을 제작하였음 <그림>.

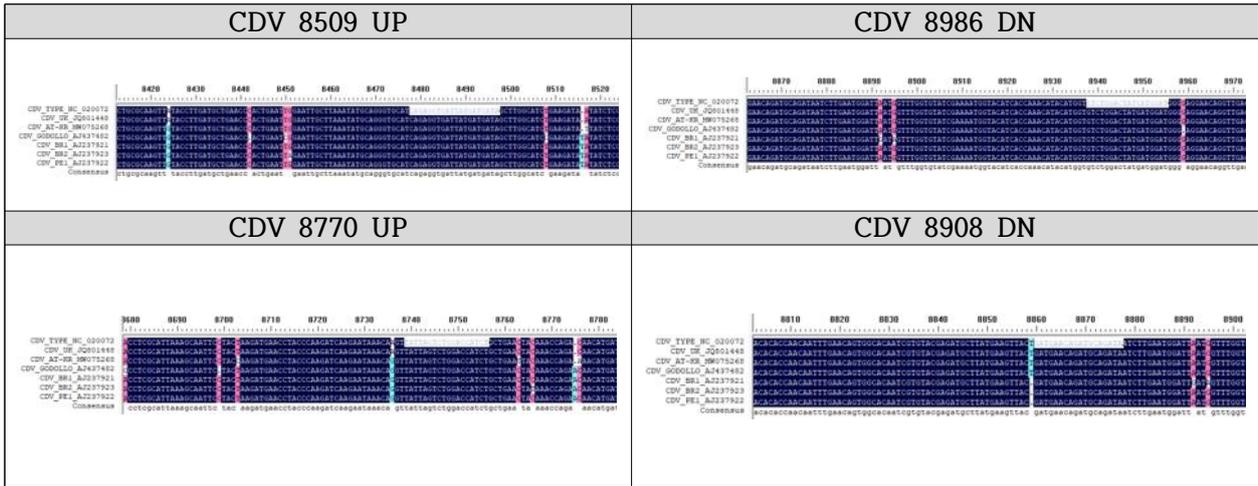
□ CNFV 신규 프라이머 제작



<그림> CNFV신규 프라이머 위치 선정

기존 검사법에서 사용된 CNF_N10, CNF_C70, CNF_40 프라이머들은 최신 CNFV isolates/strains의 heat shock-related protein 부위의 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, 염기서열들이 일치하는 부위로 제작되었음. 그러나 CNF_C60은 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 부위로 제작되어 이 프라이머를 대체할 수 있는 CNFV 9527 DN 프라이머를 제작하였음. CNFV 9527 DN 프라이머는 CNFV isolates/strains 서로 같은 염기서열을 가지고 있는 부위를 선정하여 제작하였음 <그림>.

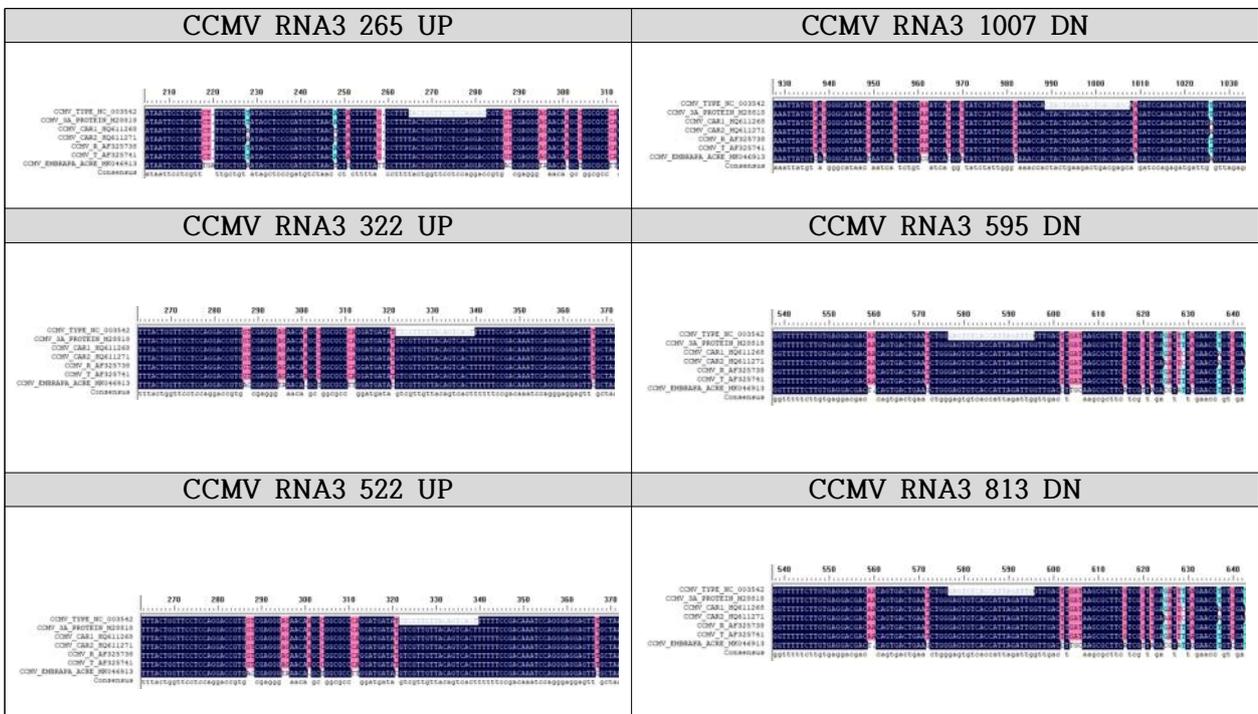
□ CDV 신규 프라이머 제작



<그림> CDV 신규 프라이머 위치 선정

최신 CDV isolates/strains의 외피 단백질 부위의 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, 기존 검사법에서 사용된 프라이머들 중 CDV_1R 프라이머만 염기서열들이 일치하는 부위로 제작되고 나머지 프라이머들은 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 부위로 제작되어 신규 프라이머들을 제작하였음. 최신 CNFV isolates/strains 서로 같은 염기서열을 가지고 있는 부위를 선정하여 CDV 8509 UP, CDV 8986 DN, CDV 8770 UP, CDV 8908 DN을 제작하였음 <그림>.

□ CCMV 신규 프라이머 제작

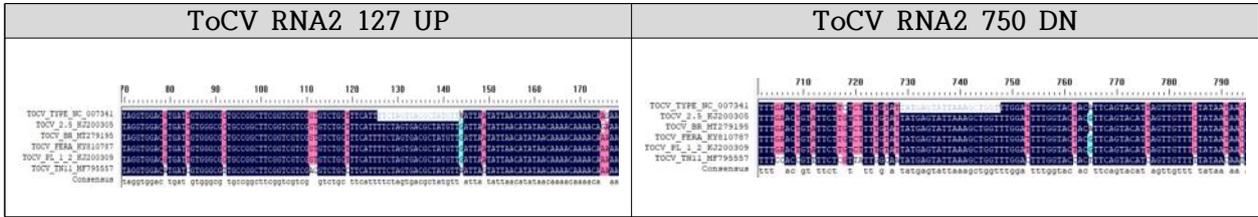


<그림> CCMV 신규 프라이머 위치 선정

확보된 최신 CCMV isolates/strains의 RNA3 부위의 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, 기존 검사법에서 사용된 모든 프라이머들은 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 부위로 제작되어 신규 프라이머들을 제작하였음. 최신 CCMV isolates/strains의 RNA3 부위의 서로 같은 염기서열을 가지고

있는 부위를 선정하여 CCMV RNA3 265 UP, CCMV RNA3 1007 DN, CCMV RNA3 322 UP, CCMV RNA3 595 DN, CCMV RNA3 522 UP, CCMV RNA3 813 DN을 제작하였음 <그림>.

□ ToCV 신규 프라이머 제작

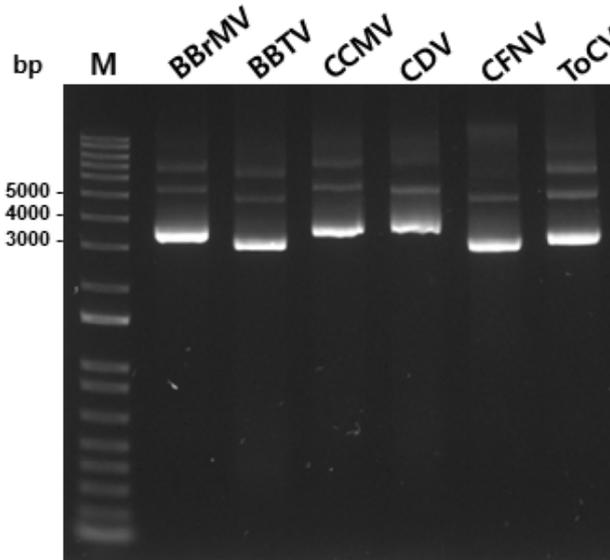


<그림> CCMV 신규 프라이머 위치 선정

확보된 최신 ToCV isolates/strains의 RNA2 부위의 염기서열들을 대상으로 alignment 분석한 결과, 기존 검사법에서 사용된 프라이머들은 서로 다른 염기서열을 가지고 있는 부위로 제작되어 신규 프라이머들을 제작하였음. 최신 ToCV isolates/strains의 RNA2 부위의 서로 같은 염기서열을 가지고 있는 부위를 선정하여 ToCV RNA2 127 UP, ToCV RNA2 750 DN을 제작하였음 <그림>.

다) 표준양성시료 확보

6종 바이러스들에 대한 검사법에서 사용될 표준양성 시료들을 *in silico* 분석을 기반으로 최적의 염기서열을 확보하여 DNA 합성 후 클로닝 과정을 거쳐 안정화된 표준양성 시료들을 확보하였음.

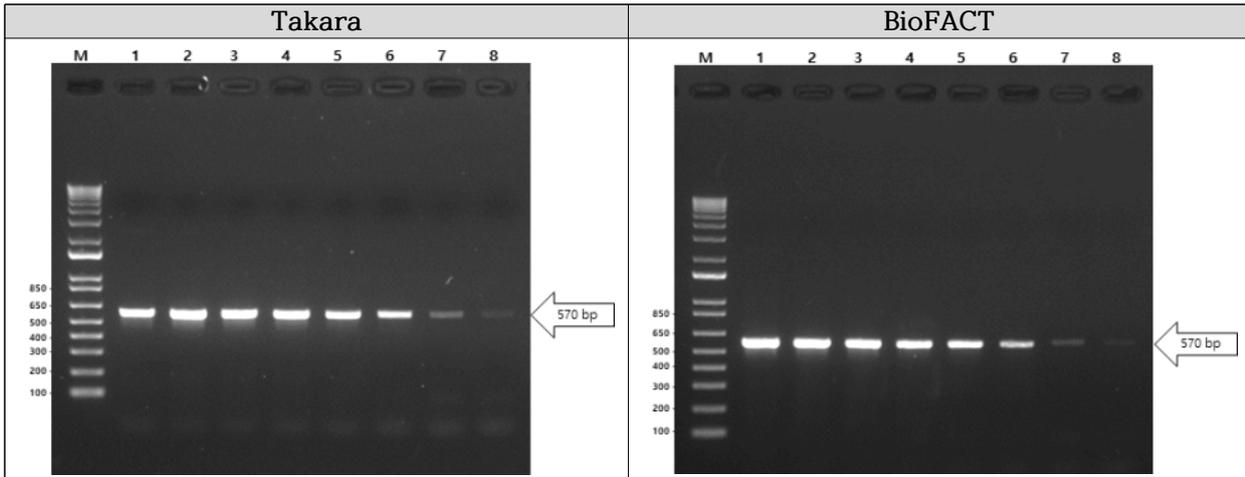


<그림> 완성된 표준양성시료 전기영동 결과. bp: base pair, M: 1 kb plus DNA ladder marker (Invitrogen, USA).

라) 표준양성시료를 이용한 보완된 프라이머 검정 확인

확보된 표준양성시료를 대상으로 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석한 후, 제작된 프라이머와 함께 PCR을 수행하여 그 프라이머들의 민감도와 정확도를 확인하였음. PCR을 수행할 때, 국내에서 생산된 Taq DNA polymerase(BioFACT)와 국외에서 생산되는 Taq DNA polymerase (rTaq, Takara)를 사용하여 비교 시험을 수행하였음. 국내산과 외국산 중합효소들의 비교실험은 진단기술에 주요하게 사용되는 중합 효소를 국내산으로 대체할 가능성을 제시할 수 있음.

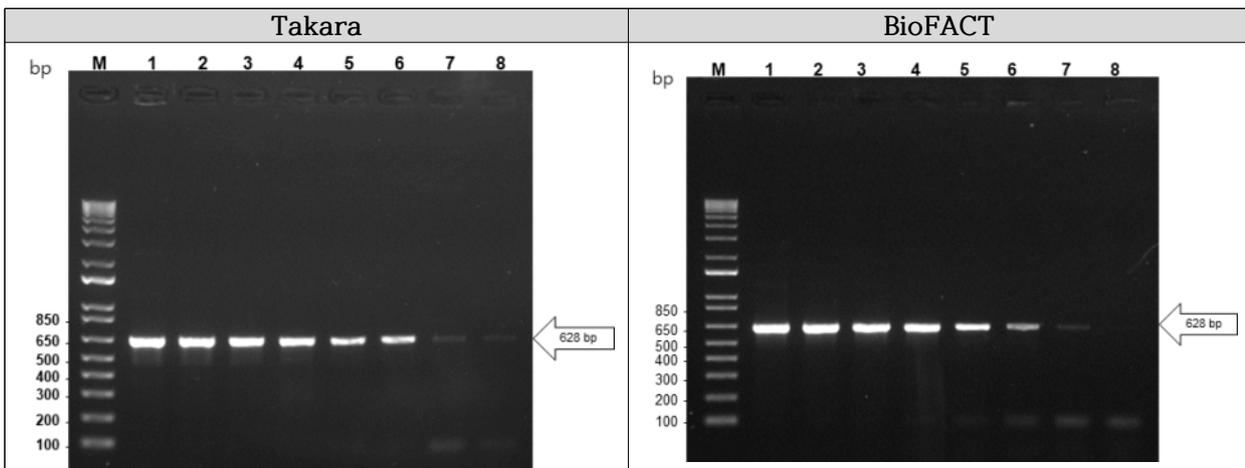
- BBrMV 검정 프라이머를 사용한 표준양성시료 검정 결과
 - BBrMV CP 8704 UP/ BBrMV CP 9273 DN (Ta: 53 °C)



<그림> BBrMV CP 8704 UP/ BBrMV CP 9273 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 53 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 BBrMV 바이러스 프라이머(BrMV CP 8704 UP/ BBrMV CP 9273 DN)와 확보한 표준양성 시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 53 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소와 국내산 중합효소 모두에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 확인할 수 있었음.

- BBrMV CP 8735 UP/ BBrMV CP 9362 DN (Ta: 53 °C)



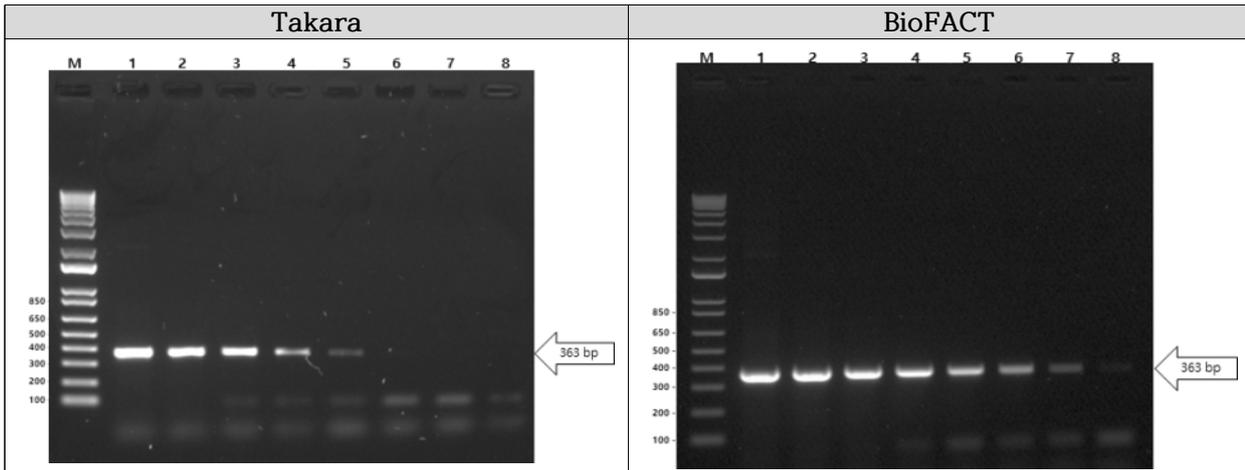
<그림> BBrMV CP 8735 UP/ BBrMV CP 9362 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 53 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 BBrMV 바이러스 프라이머(BrMV CP 8735 UP/ BBrMV CP 9362 DN)와 확보한 표준양성

시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 53 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소가 국내산 중합효소보다 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 확인할 수 있었음.

□ BBTV 검정 프라이머를 사용한 표준양성시료 검정 결과

- BBTV S CP 365 UP/ BBTV S CP 727 DN (Ta: 55 °C)

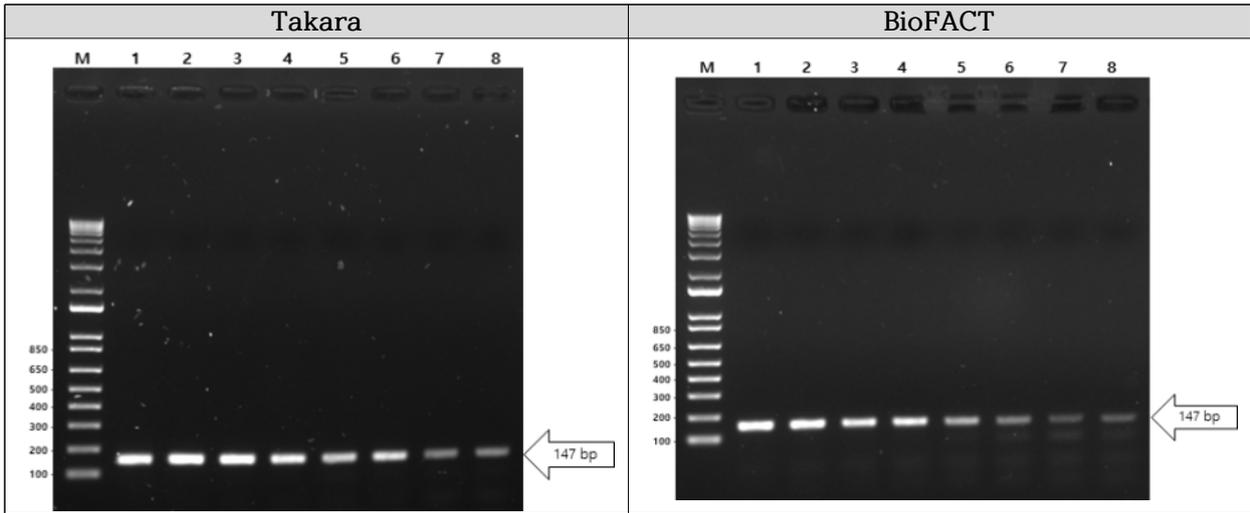


<그림> BBTV S CP 365 UP/ BBTV S CP 727 DN(400 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 BBTV 바이러스 프라이머(BBTV S CP 365 UP/ BBTV S CP 727 DN)와 확보한 표준양성 시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 400 nM downstream primer, 400 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit), 0.004%BSA를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소보다 국내산 중합효소가 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 확인할 수 있었음.

□ CNFV 검정 프라이머를 사용한 표준양성시료 검정 결과

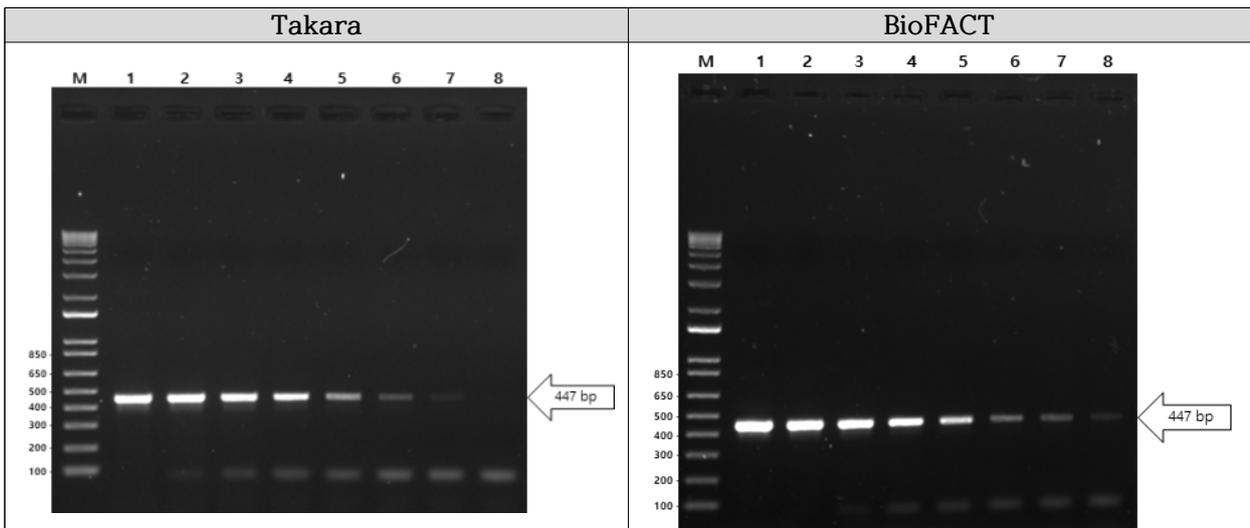
- CNF_N10 UP/ CNF_C70 DN (Ta: 55 °C)



<그림> CNF_N10 UP/ CNF_C70 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 53 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

기존 검사법에서 사용된 CNFV 바이러스 프라이머(CNF_N10 UP/ CNF_C70 DN)와 확보한 표준양성 시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소와 국내산 중합효소 모두에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 선명하게 확인할 수 있었음.

- CNF_N10 UP/ CNF_C40 DN (Ta: 55 °C)

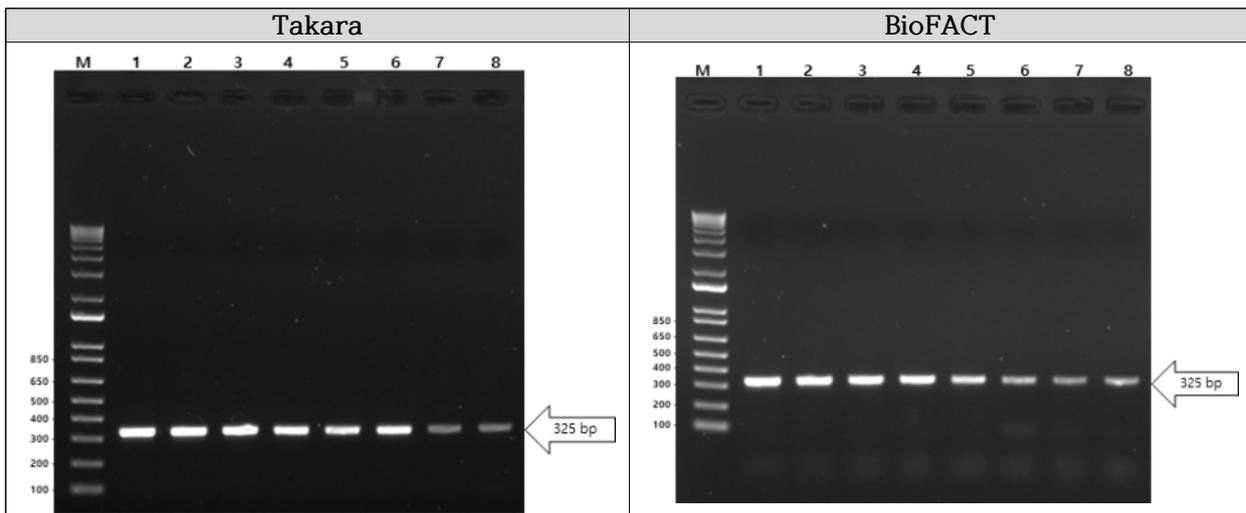


<그림> CNF_N10 UP/ CNF_C40 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 53 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

기존 검사법에서 사용된 CNFV 바이러스 프라이머(CNF_N10 UP/ CNF_C40 DN)와 확보한 표준양성

시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase (5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소보다 국내산 중합효소에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 확인할 수 있었음.

- CNF_N10 UP/ CNFV 9527 DN (Ta: 55 °C)

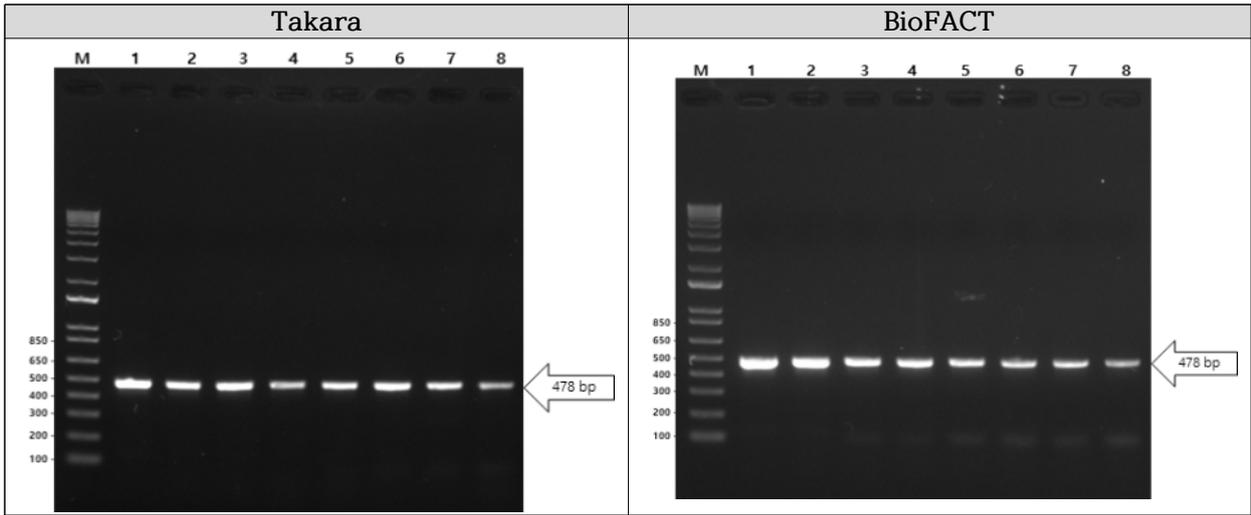


<그림> CNF_N10 UP/ CNFV 9527 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 53 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

기존 검사법에서 사용된 CNF_N10 UP 프라이머와 신규로 제작된 CNFV 9527 DN 프라이머를 사용하여 확보한 표준양성시료로 함께 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase (5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소와 국내산 중합효소 모두 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 선명하게 확인할 수 있었음.

□ CDV 검정 프라이머를 사용한 표준양성시료 검정 결과

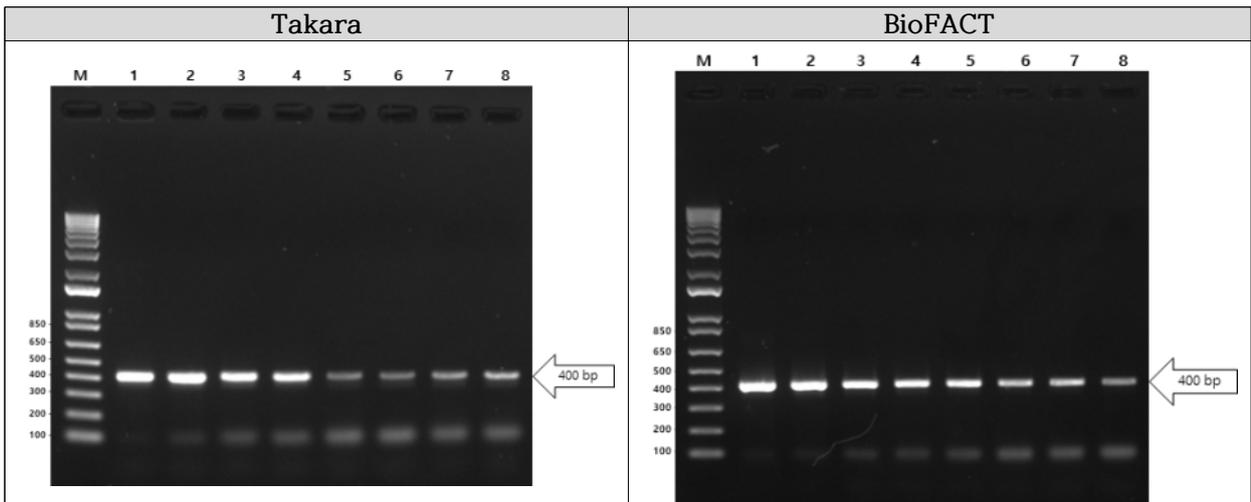
- CDV 8509 UP/ CDV 8986 DN (Ta: 55 °C)



<그림> CDV 8509 UP/ CDV 8986 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 CDV 바이러스 프라이머(CDV 8509 UP/ CDV 8986 DN)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소와 국내산 중합효소 모두에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 선명하게 확인할 수 있었음.

- CDV 8509 UP/ CDV 8908 DN (Ta: 55 °C)

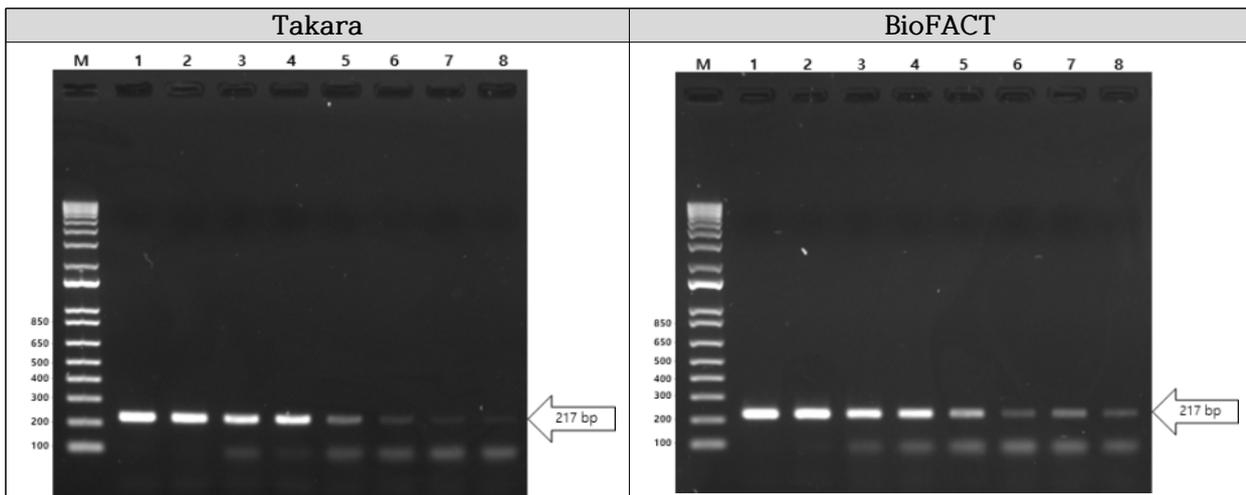


<그림> CDV 8509 UP/ CDV 8908 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 CDV 바이러스 프라이머(CDV 8509 UP/ CDV 8908 DN)와 확보한 표준양성시료를 사용

하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소와 국내산 중합효소 모두에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 선명하게 확인할 수 있었음.

- CDV 8770 UP/ CDV 8986 DN (Ta: 55 °C)

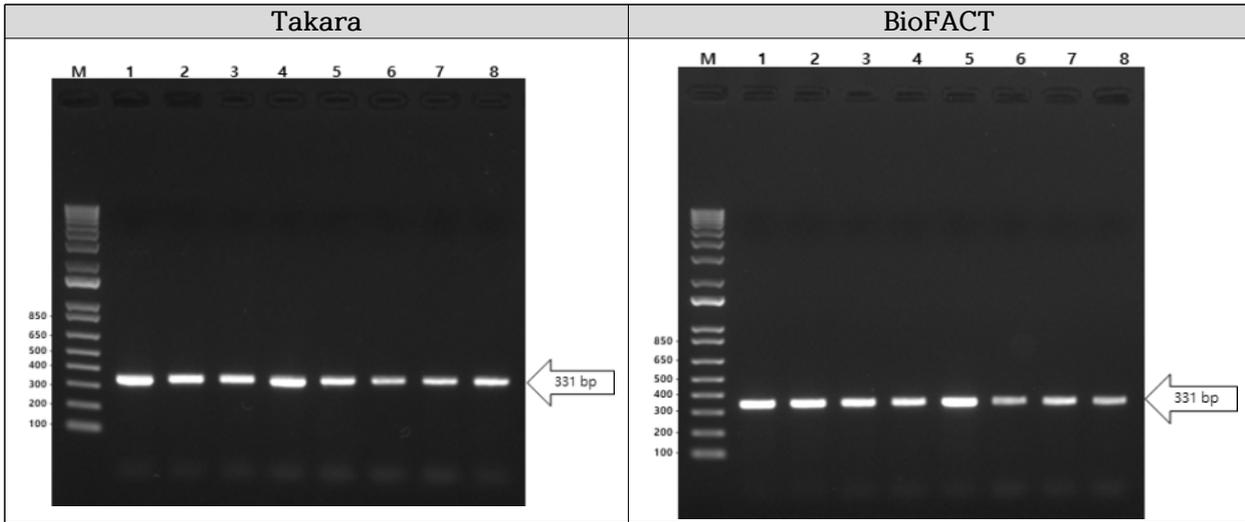


<그림> CDV 8770 UP/ CDV 8986 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 CDV 바이러스 프라이머(CDV 8770 UP/ CDV 8986 DN)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소와 국내산 중합효소 모두에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 확인할 수 있었음. 그러나 국내산 중합효소를 사용한 결과가 좀 더 선명한 증폭을 보였음.

□ CCMV 검정 프라이머를 사용한 표준양성시료 검정 결과

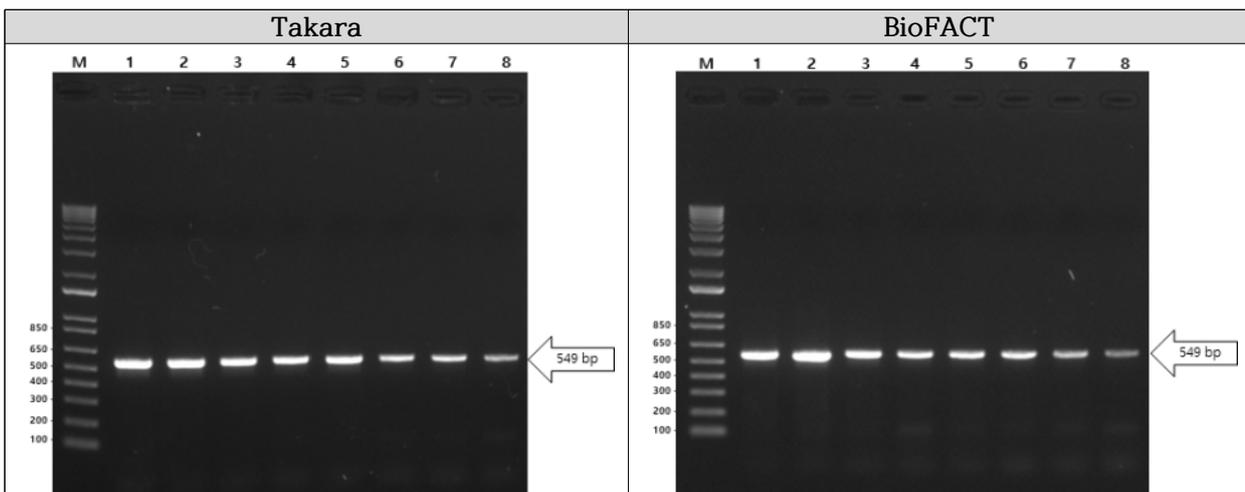
- CCMV RNA3 265 UP/ CCMV RNA3 595 DN (Ta: 55 °C)



<그림> CCMV RNA3 265 UP/ CCMV RNA3 595 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 CDV 바이러스 프라이머(CCMV RNA3 265 UP/ CCMV RNA3 595 DN)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소와 국내산 중합효소 모두에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 선명하게 확인할 수 있었음.

- CCMV RNA3 265 UP/ CCMV RNA3 813 DN (Ta: 55 °C)

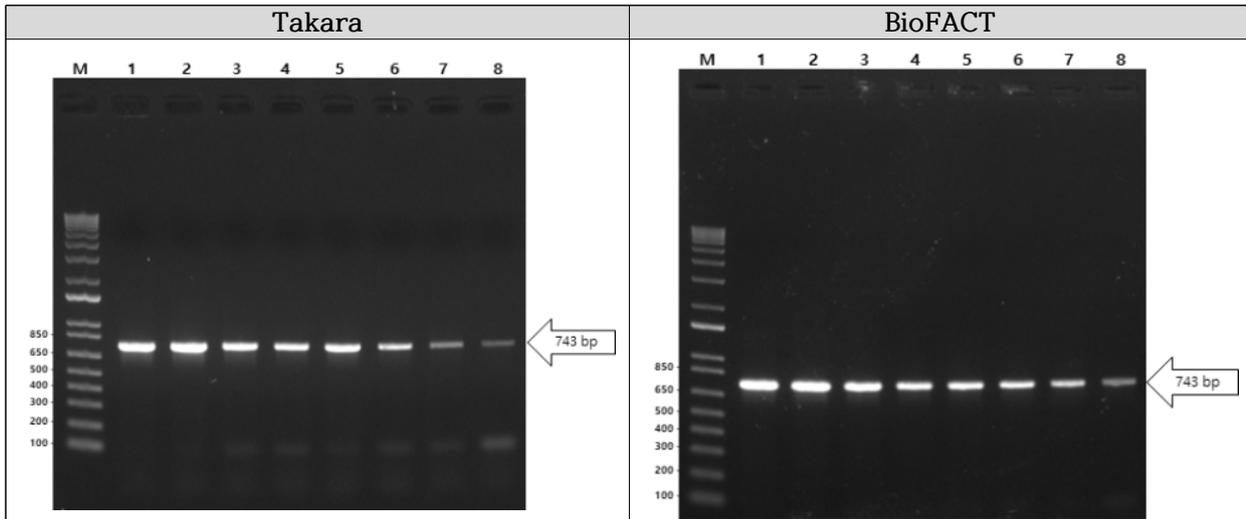


<그림> CCMV RNA3 265 UP/ CCMV RNA3 813 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 CDV 바이러스 프라이머(CCMV RNA3 265 UP/ CCMV RNA3 813 DN)와 확보한 표준양

성시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소와 국내산 중합효소 모두에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 선명하게 확인할 수 있었음.

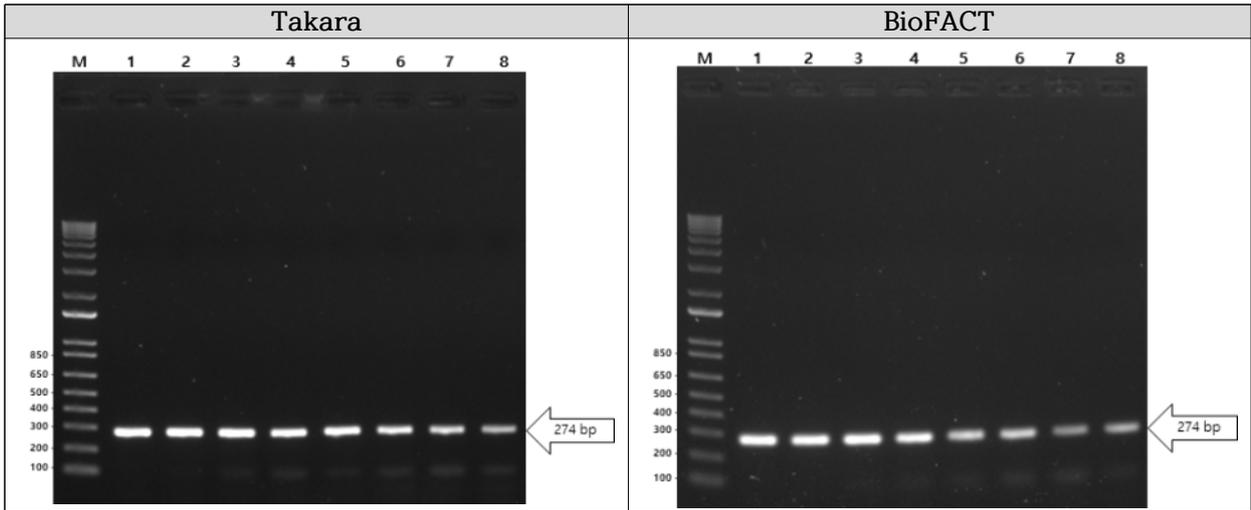
- CCMV RNA3 265 UP/ CCMV RNA3 1007 DN (Ta: 55 °C)



<그림> CCMV RNA3 265 UP/ CCMV RNA3 1007 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 CDV 바이러스 프라이머(CCMV RNA3 265 UP/ CCMV RNA3 1007 DN)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소와 국내산 중합효소 모두에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 선명하게 확인할 수 있었음.

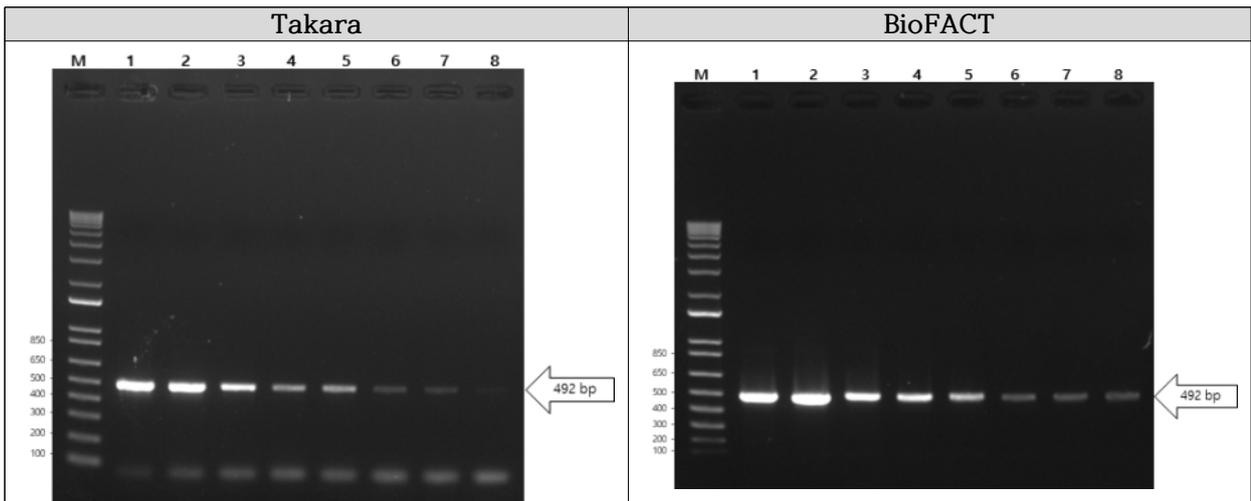
- CCMV RNA3 322 UP/ CCMV RNA3 595 DN (Ta: 55 °C)



<그림> CCMV RNA3 322 UP/ CCMV RNA3 595 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 CDV 바이러스 프라이머(CCMV RNA3 322 UP/ CCMV RNA3 595 DN)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산 (rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소와 국내산 중합효소 모두에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 선명하게 확인할 수 있었음.

- CCMV RNA3 322 UP/ CCMV RNA3 813 DN (Ta: 55 °C)

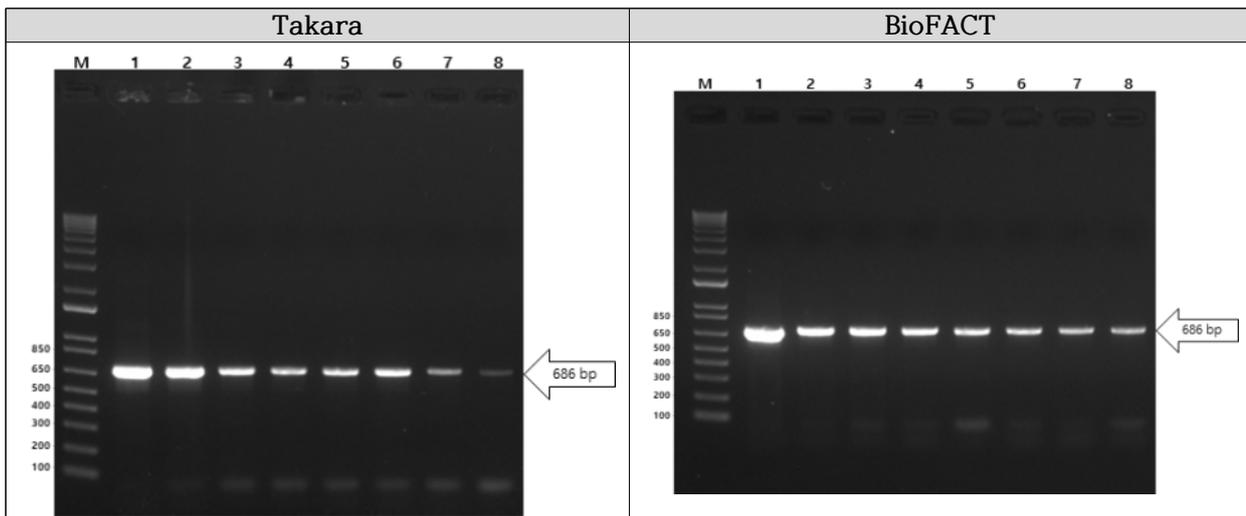


<그림> CCMV RNA3 322 UP/ CCMV RNA3 813 DN (200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 CDV 바이러스 프라이머(CCMV RNA3 322 UP/ CCMV RNA3 813 DN)와 확보한 표준양

성시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소보다 국내산 중합효소에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 확인할 수 있었음.

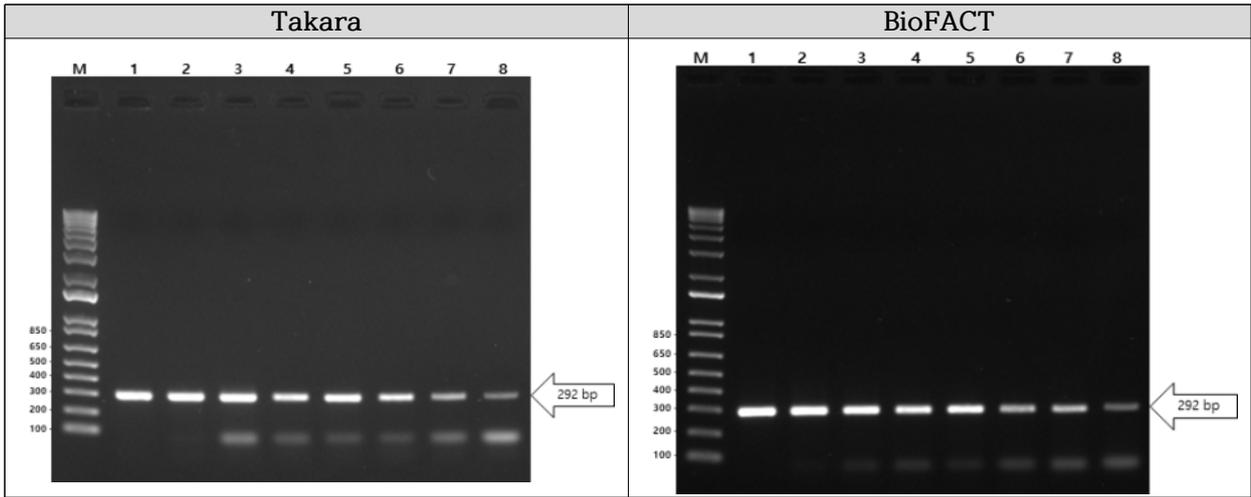
- CCMV RNA3 322 UP/ CCMV RNA3 1007 DN (Ta: 55 °C)



<그림> CCMV RNA3 322 UP/ CCMV RNA3 1007 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 CDV 바이러스 프라이머(CCMV RNA3 322 UP/ CCMV RNA3 1007 DN)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산 rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소와 국내산 중합효소 모두에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 선명하게 확인할 수 있었음.

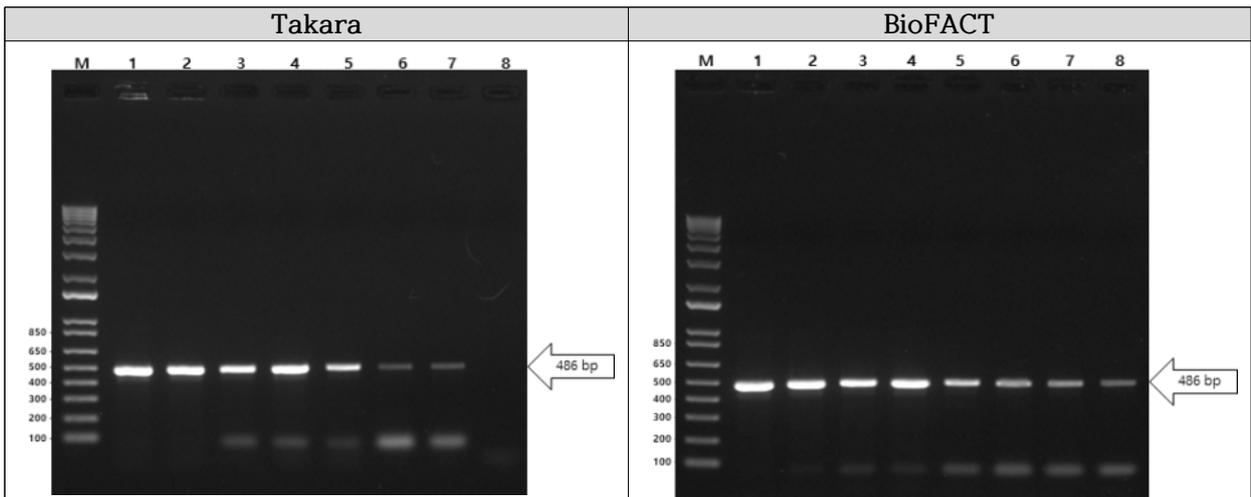
- CCMV RNA3 522 UP/ CCMV RNA3 813 DN (Ta: 55 °C)



<그림> CCMV RNA3 522 UP/ CCMV RNA3 813 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR(Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 CDV 바이러스 프라이머(CCMV RNA3 522 UP/ CCMV RNA3 813 DN)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP(0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 중합효소와 국내산 중합효소 모두에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 선명하게 확인할 수 있었음.

- CCMV RNA3 522 UP/ CCMV RNA3 1007 DN (Ta: 55 °C)



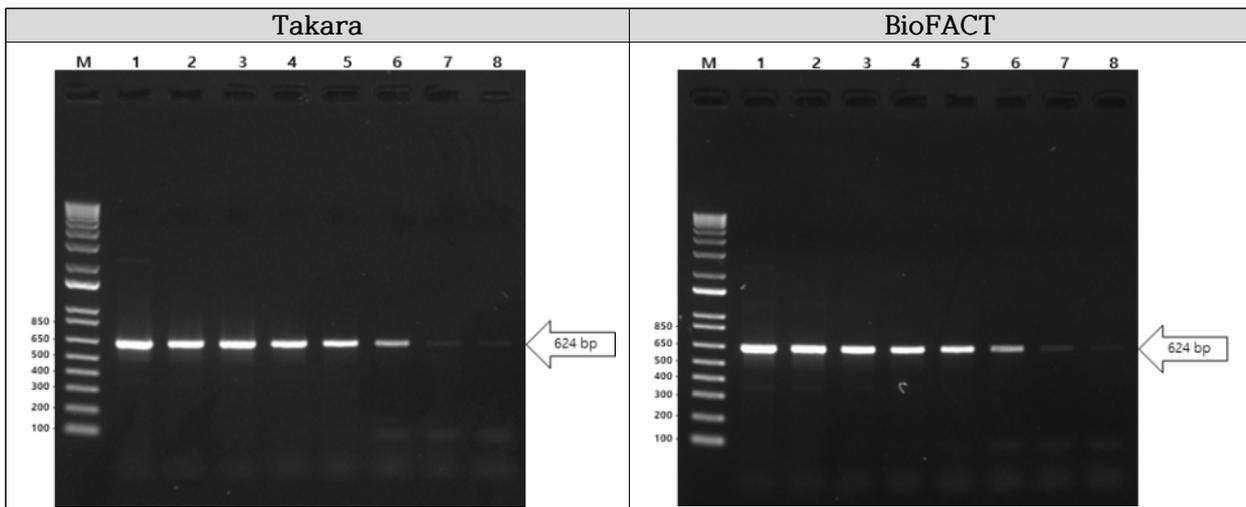
<그림> CCMV RNA3 522 UP/ CCMV RNA3 1007 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

새로 보완된 CDV 바이러스 프라이머(CCMV RNA3 522 UP/ CCMV RNA3 1007 DN)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산 (rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 중합효소

들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP (0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit)를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 종합효소보다 국내산 종합효소에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 선명하게 확인할 수 있었음.

□ ToCV 검정 프라이머를 사용한 표준양성시료 검정 결과

- ToCV RNA2 127 UP/ ToCV RNA2 750 DN (Ta: 55 °C)



<그림> ToCV RNA2 127 UP/ ToCV RNA2 750 DN(200 nM)을 사용하여 표준양성시료에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng plasmid DNA, 2: 1 ng plasmid DNA, 3: 100 pg plasmid DNA, 4: 10 pg plasmid DNA, 5: 1 pg plasmid DNA, 6: 100 fg plasmid DNA, 7: 10 fg plasmid DNA, 8: 1 fg plasmid DNA.

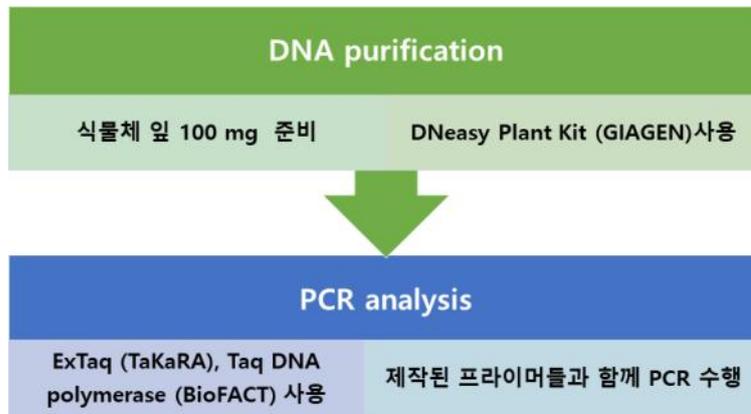
새로 보완된 ToCV 바이러스 프라이머(ToCV RNA2 127 UP/ ToCV RNA2 750 DN)와 확보한 표준양성시료를 사용하여 외국산(rTaq, Takara)과 국내산(Taq DNA polymerase, BioFACT)의 종합효소들을 대상으로 PCR 검정 효율을 비교하였음. PCR 혼합물은 표준양성시료의 각각의 희석액과 1 × buffer, 0.05 mM dNTP (0.12 mM dNTP, BioFACT), 200 nM downstream primer, 200 nM upstream primer, Taq DNA polymerase(5 unit), 0.004%BSA를 사용하여 PCR(Ta: 55 °C)을 30 cycles 수행하였음. 그 결과 외국산 종합효소와 국내산 종합효소 모두에서 표준양성시료의 1 fg까지 증폭된 DAN fragments를 확인할 수 있었음.

마) 기주식물별 프라이머 적용 및 검사법의 적정성 검증

6종 바이러스들이 감염되는 기주식물들(바나나, 카네이션, 가지, 감자, 고추, 토마토, 강낭콩, 동부콩, 땅콩, 완두콩, 잠두콩, 석죽, 독말풀, 담배 등)을 대상으로 RNeasy Plant Mini kit(Qiagen)를 사용하여 total RNA를 분리한 후, hexamer를 이용하여 cDNA를 합성하여 PCR를 수행하였음. 또한 BBTV 검정을 위해 바나나에서는 DNeasy Plant Kit(Qiagen)를 사용하여 DNA를 분리한 후 PCR를 수행하였음. PCR을 수행할 때, 표준양성시료 검정 결과를 기초하여 적합한 Taq DNA polymerase를 선택하여 실험을 수행하였음.

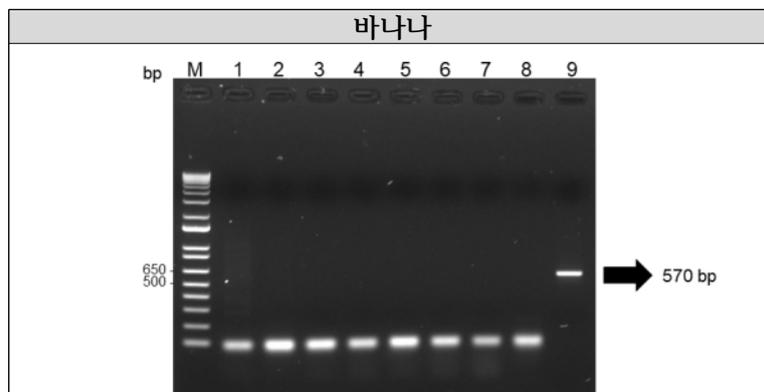


<그림> 기주식물로부터 total RNA 분리하여 PCR 수행 과정.



<그림> 기주식물로부터 DNA 분리하여 PCR 수행 과정.

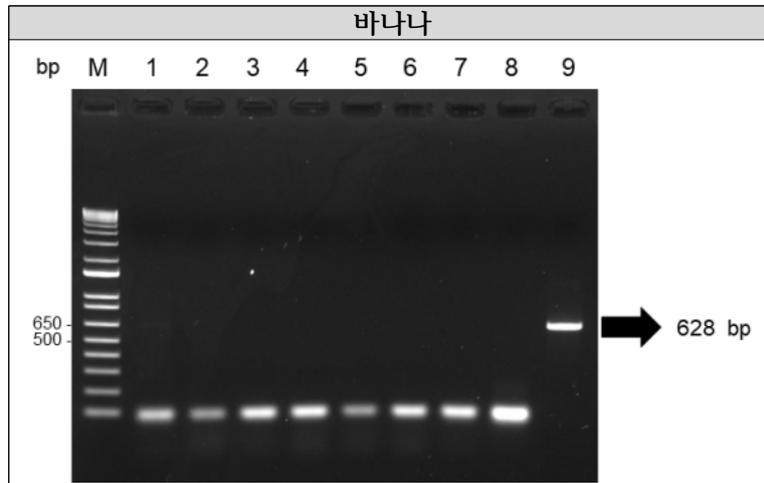
□ BBrMV 검정 프라이머를 사용하여 기주식물 검정결과



<그림> BBrMV CP 8704 UP/ BBrMV CP 9273 DN(200 nM)와 rTaq(Takara)을 사용하여 바나나에서 PCR (Ta: 57 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

새로 보완된 BBrMV 바이러스 프라이머(BBrMV CP 8704 UP/ BBrMV CP 9273 DN)를 사용하여 BBrMV의 기주식물에 포함되는 바나나를 대상으로 표준양성시료 검정 결과를 기초하여 외국산 중합

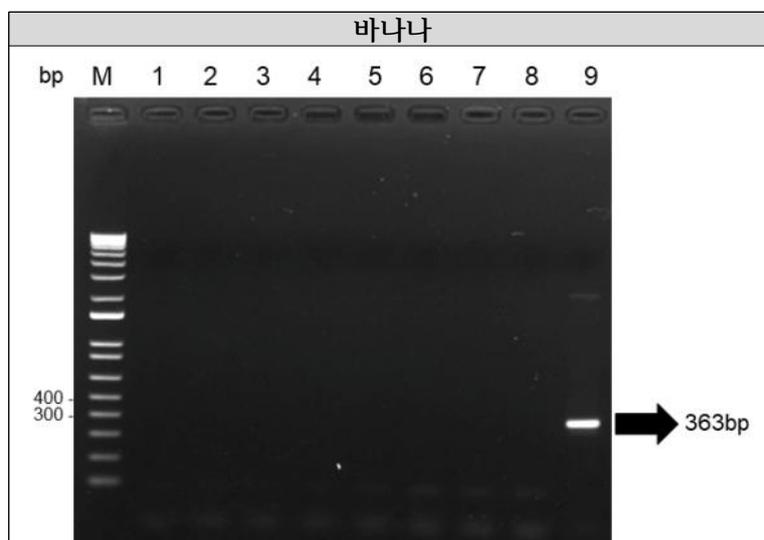
효소들을 사용하여 비특이적인 반응을 분석하였음. 바나나를 RNeasy Plant mini Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 바나나에서 비특이적인 반응을 보이지 않았음.



<그림> BBrMV CP 8735 UP/ BBrMV CP 9362 DN(200 nM)와 rTaq (Takara)을 사용하여 바나나에서 PCR (Ta: 57 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

새로 보완된 BBrMV 바이러스 프라이머(BBrMV CP 8735 UP/ BBrMV CP 9362 DN)를 사용하여 BBrMV의 기주식물에 포함되는 바나나를 대상으로 표준양성시료 검정 결과를 기초하여 외국산 중합 효소들을 사용하여 비특이적인 반응을 분석하였음. 바나나를 RNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 1000 ng total RNA와 hexamer를 사용하여 cDNA를 합성하였음. 합성된 cDNA를 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 바나나에서 비특이적인 반응을 보이지 않았음.

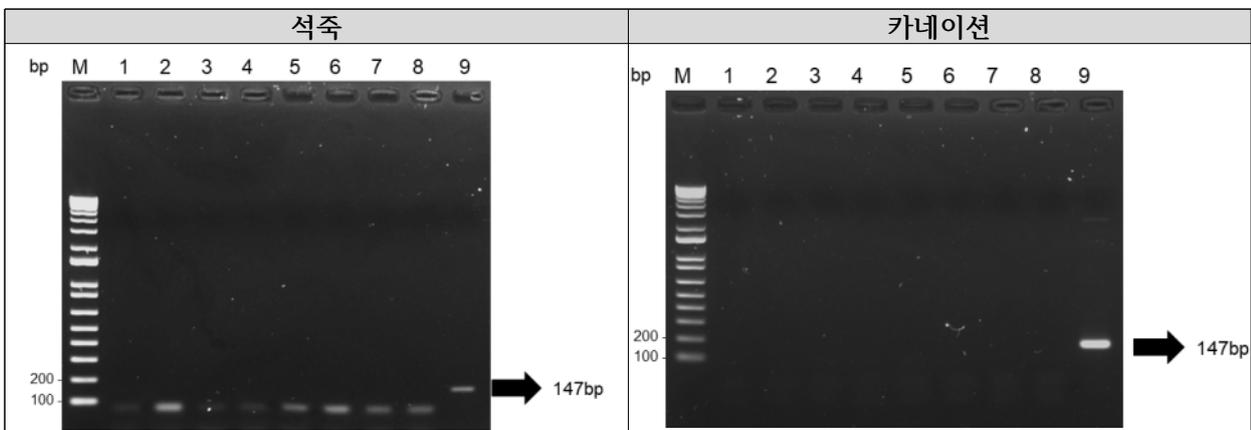
□ BBTV 검정 프라이머를 사용하여 기주식물 검정결과



<그림> BBTV S CP 365 UP/ BBTV S CP 727 DN(400 nM), 0.004% BSA와 Taq DNA polymerase (BioFACT)을 사용하여 바나나에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

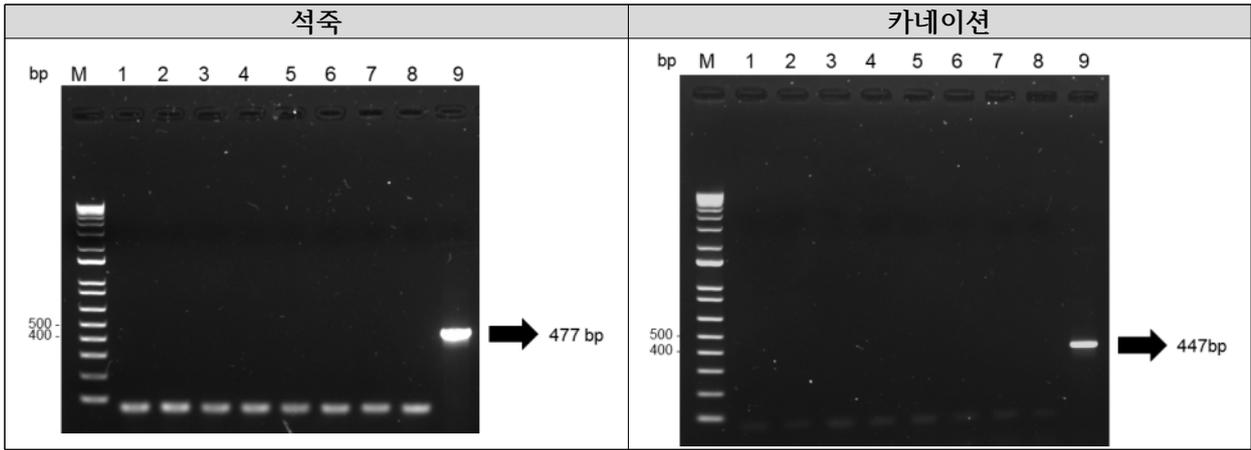
새로 보완된 BBTV 바이러스 프라이머(BBTV S CP 365 UP/ BBTV S CP 727 DN)를 사용하여 BBTV의 기주식물에 포함되는 바나나를 대상으로 표준양성시료 검정 결과를 기초하여 국내산 종합효소들을 사용하여 비특이적인 반응을 분석하였음. 바나나를 DNeasy Plant Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 DNA를 추출한 후, 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 바나나에서 비특이적인 반응을 보이지 않았음.

□ CNFV 검정 프라이머를 사용하여 기주식물 검정결과



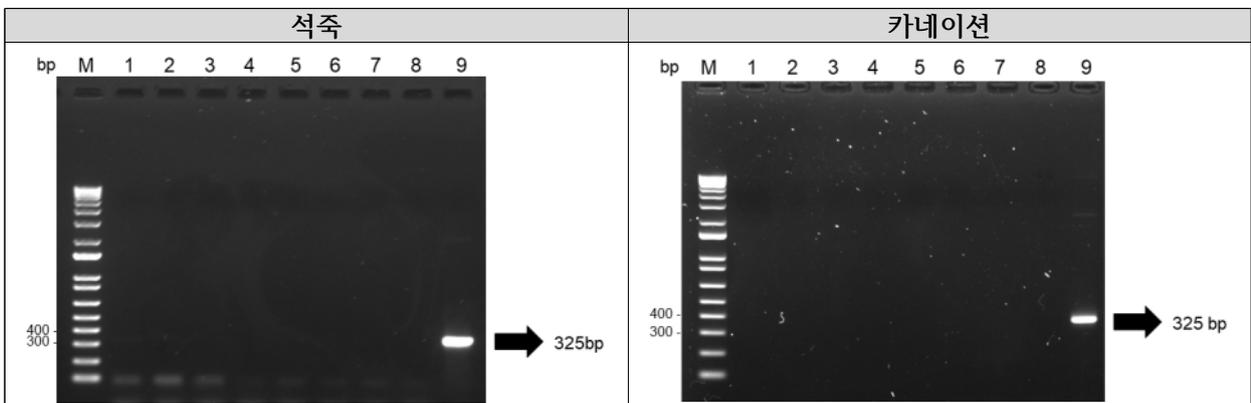
<그림> CNF_N10 UP/ CNF_C70 DN(200 nM)와 Taq DNA polymerase (BioFACT)을 사용하여 석죽과 카네이션에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

기존 검사법에서 사용된 CNFV 바이러스 프라이머(CNF_N10 UP/ CNF_C70 DN)를 사용하여 CNFV의 기주식물에 포함되는 석죽과 카네이션을 대상으로 표준양성시료 검정 결과를 기초하여 국내산 종합효소들을 사용하여 비특이적인 반응을 분석하였음. 석죽과 카네이션을 RNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 석죽과 카네이션에서 모두 비특이적인 반응은 보이지 않았음.



<그림> CNF_N10 UP/ CNF_C40 DN(200 nM)와 Taq DNA polymerase (BioFACT)을 사용하여 석죽과 카네이션에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

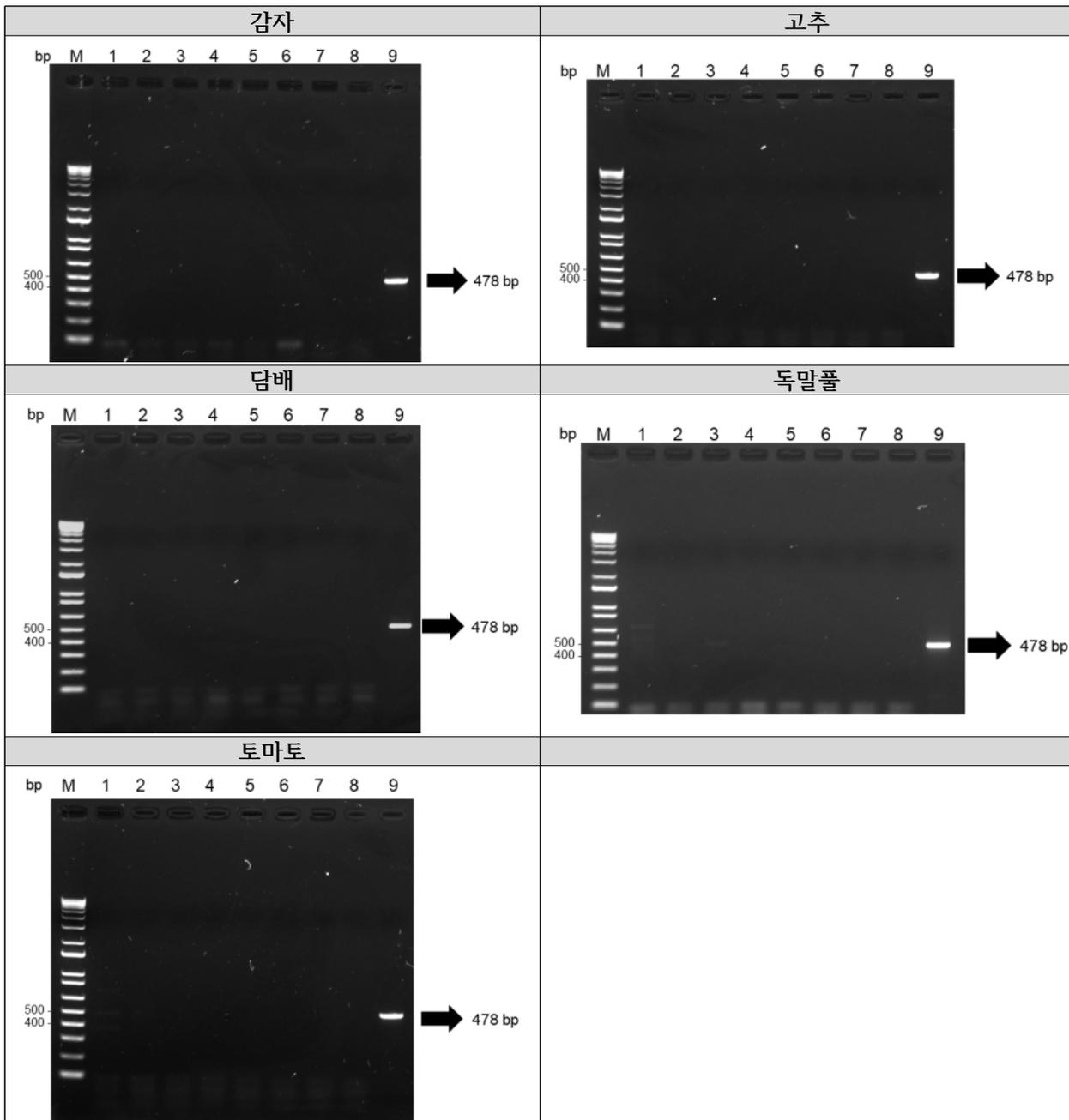
기존 검사법에서 사용된 CNFV 바이러스 프라이머(CNF_N10 UP/ CNF_C40 DN)를 사용하여 CNFV의 기주식물에 포함되는 석죽과 카네이션을 대상으로 표준양성시료 검정 결과를 기초하여 국내산 중합효소들을 사용하여 비특이적인 반응을 분석하였음. 석죽과 카네이션을 RNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 석죽과 카네이션에서 모두 비특이적인 반응은 보이지 않았음.



<그림> CNF_N10 UP/ CNFV 9527 DN(200 nM)와 Taq DNA polymerase (BioFACT)을 사용하여 석죽과 카네이션에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker(Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

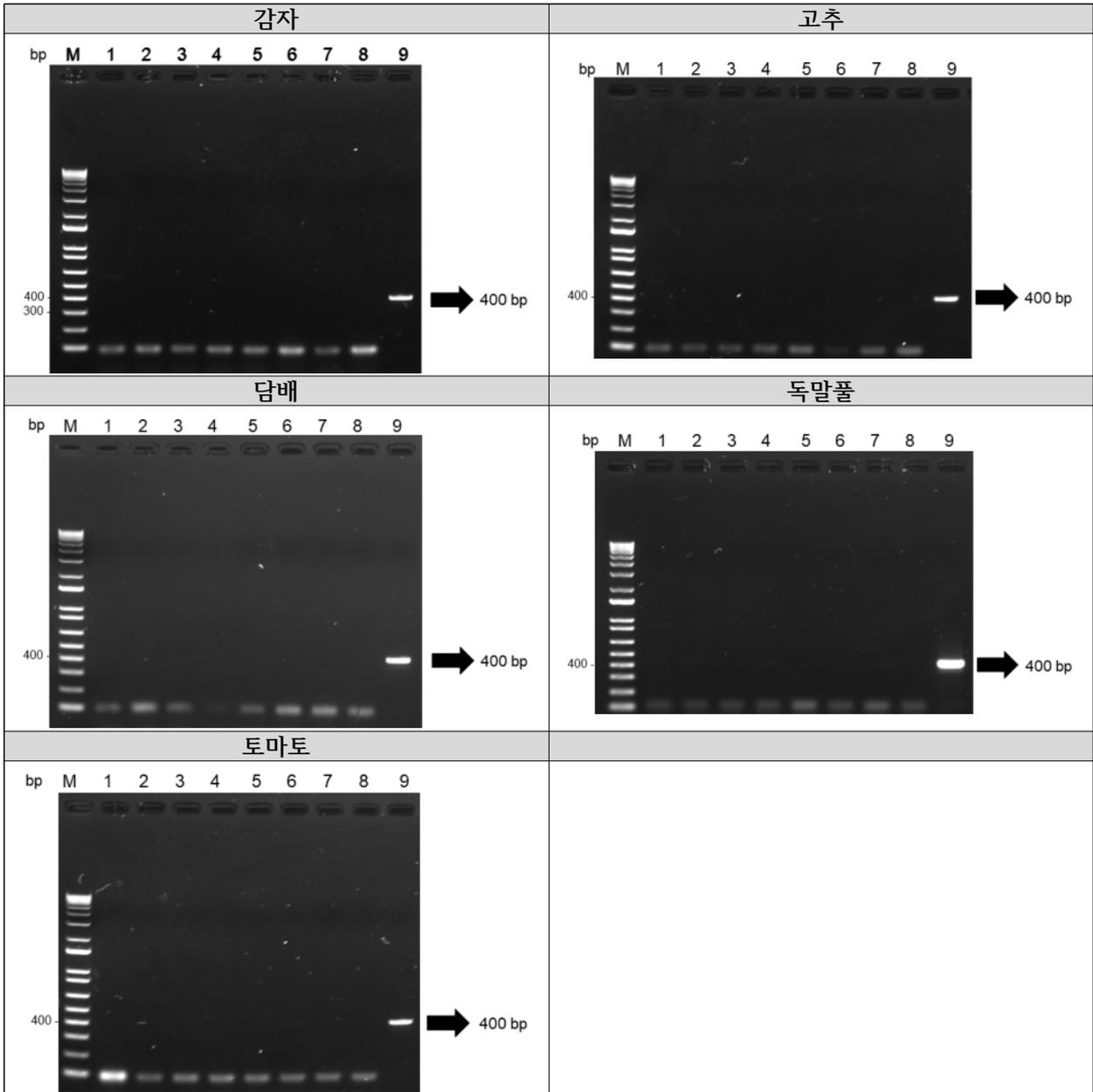
새로 보완된 CNFV 바이러스 프라이머(CNF_N10 UP/ CNF_C40 DN)를 사용하여 CNFV의 기주식물에 포함되는 석죽과 카네이션을 대상으로 표준양성시료 검정 결과를 기초하여 국내산 중합효소들을 사용하여 비특이적인 반응을 분석하였음. 석죽과 카네이션을 RNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 10배 연속 희석법(10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 석죽과 카네이션에서 모두 비특이적인 반응은 보이지 않았음.

□ CDV 검정 프라이머를 사용하여 기주식물 검정결과



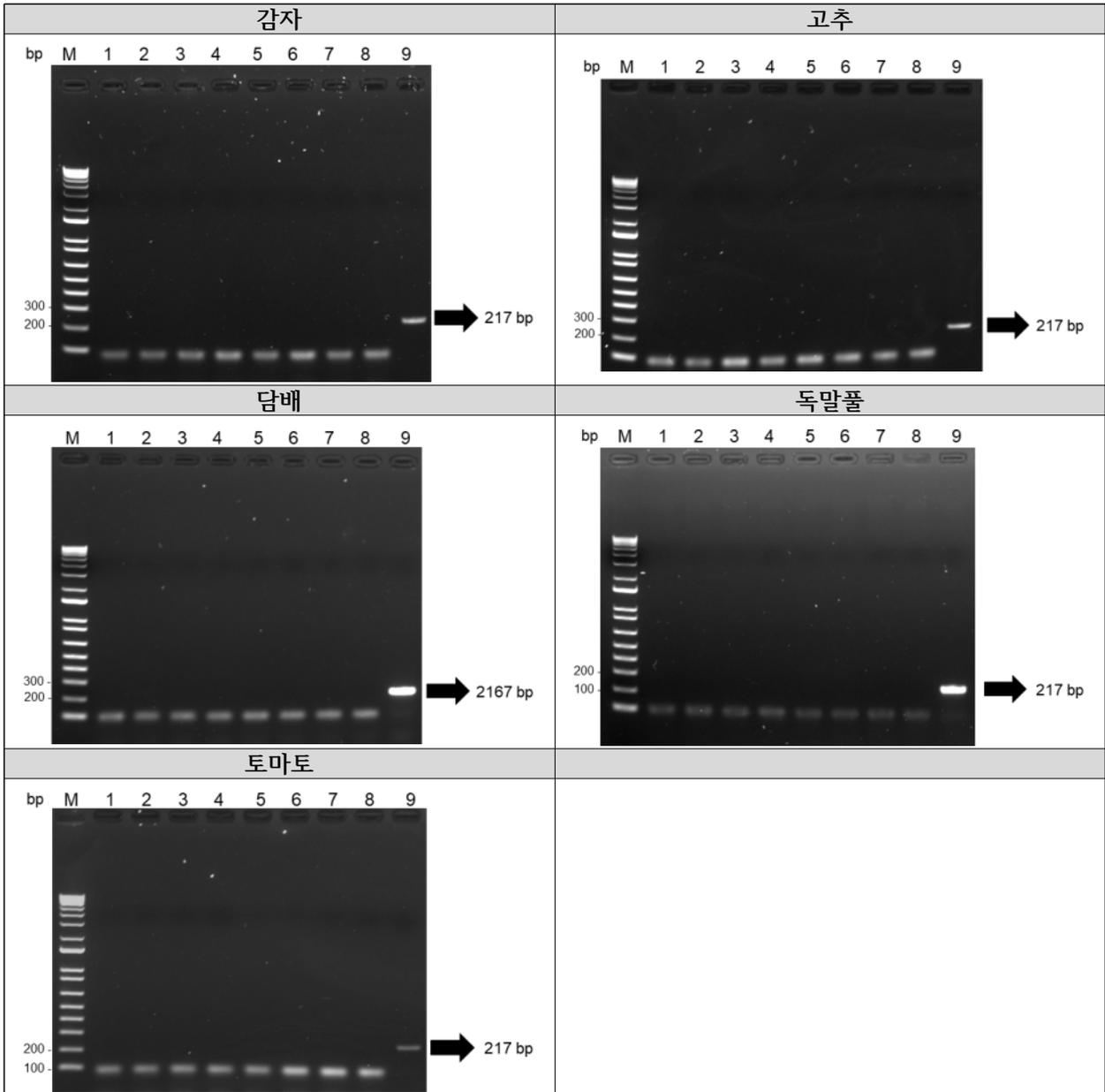
<그림> CDV 8509 UP/ CDV 8986 DN(200 nM)와 Taq DNA polymerase (BioFACT)을 사용하여 감자, 고추, 담배, 독말풀, 토마토에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

새로 보완된 CDV 바이러스 프라이머(CDV 8509 UP/ CDV 8986 DN)를 사용하여 CDV의 기주식물에 포함되는 감자, 고추, 담배, 독말풀, 토마토를 대상으로 표준양성시료 검정 결과를 기초하여 국내산 종합효소들을 사용하여 비특이적인 반응을 분석하였음. 감자, 고추, 담배, 독말풀, 토마토를 RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 10배 연속 희석법 (10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 감자, 고추, 담배, 독말풀, 토마토에서 모두 비특이적인 반응은 보이지 않았음.



<그림> CDV 8509 UP/ CDV 8908 DN(200 nM)와 Taq DNA polymerase (BioFACT)을 사용하여 감자, 고추, 담배, 독말풀, 토마토에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

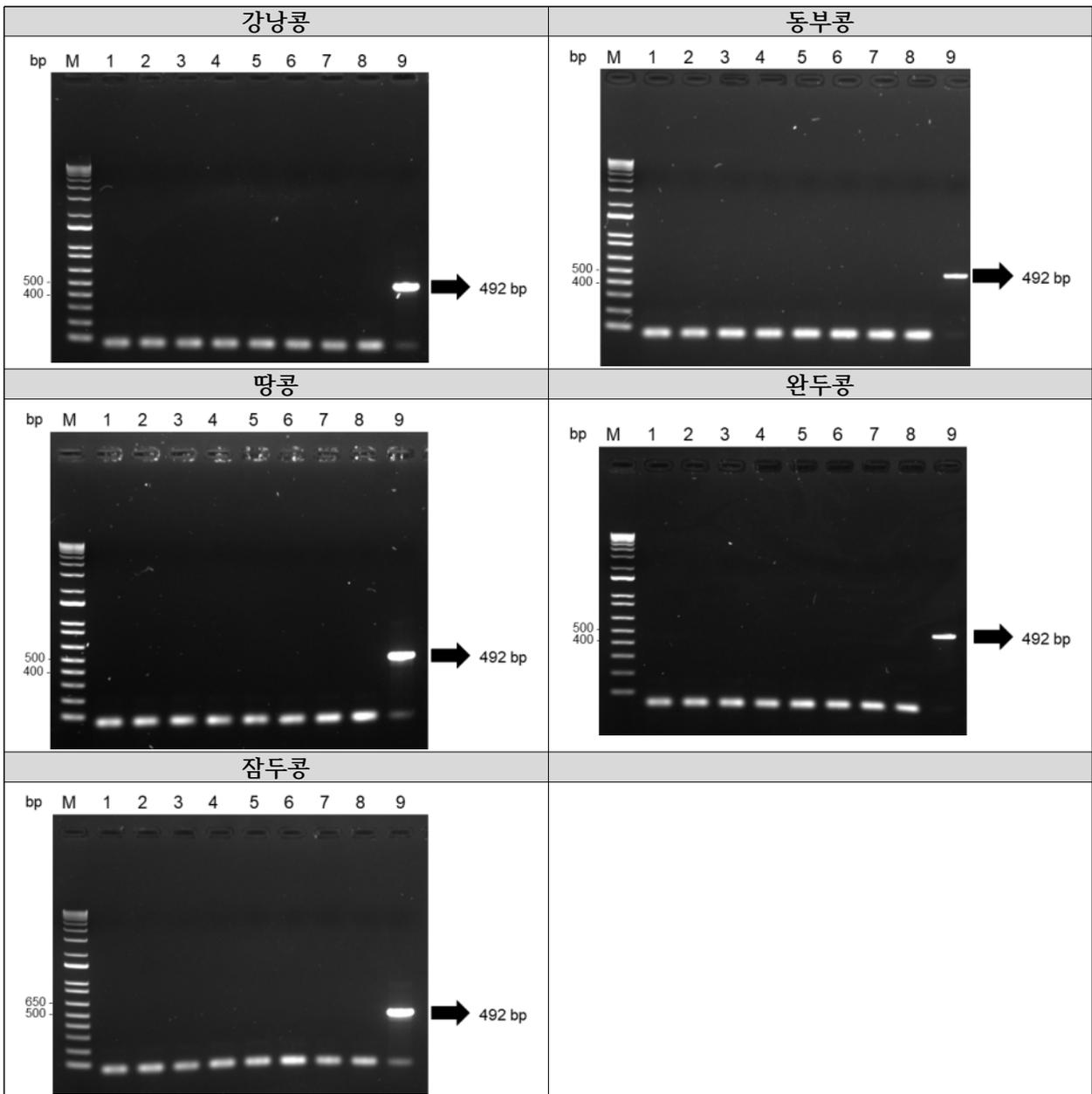
새로 보완된 CDV 바이러스 프라이머(CDV 8509 UP/ CDV 8908 DN)를 사용하여 CDV의 기주식물에 포함되는 감자, 고추, 담배, 독말풀, 토마토를 대상으로 표준양성시료 검정 결과를 기초하여 국내산 종합효소들을 사용하여 비특이적인 반응을 분석하였음. 감자, 고추, 담배, 독말풀, 토마토를 RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 10배 연속 희석법 (10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 감자, 고추, 담배, 독말풀, 토마토에서 모두 비특이적인 반응은 보이지 않았음.



<그림> CDV 8770 UP/ CDV 8986 DN(200 nM)와 Taq DNA polymerase (BioFACT)을 사용하여 감자, 고추, 담배, 독말풀, 토마토에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

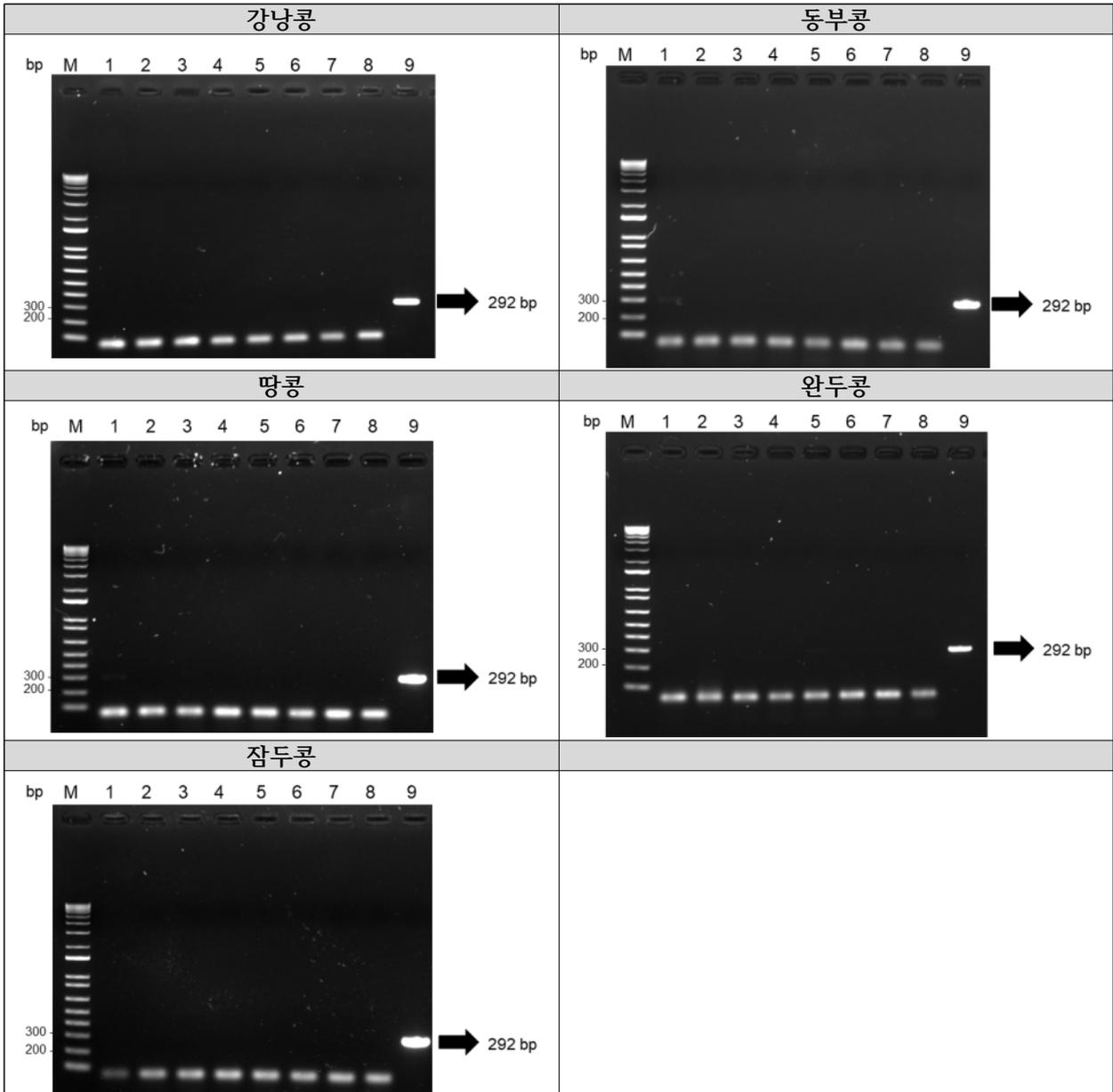
새로 보완된 CDV 바이러스 프라이머(CDV 8770 UP/ CDV 8986 DN)를 사용하여 CDV의 기주식물에 포함되는 감자, 고추, 담배, 독말풀, 토마토를 대상으로 표준양성시료 검정 결과를 기초하여 국내산 중합효소들을 사용하여 비특이적인 반응을 분석하였음. 감자, 고추, 담배, 독말풀, 토마토를 RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 10배 연속 희석법 (10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 감자, 고추, 담배, 독말풀, 토마토에서 모두 비특이적인 반응은 보이지 않았음.

□ CCMV 검정 프라이머를 사용하여 기주식물 검정결과



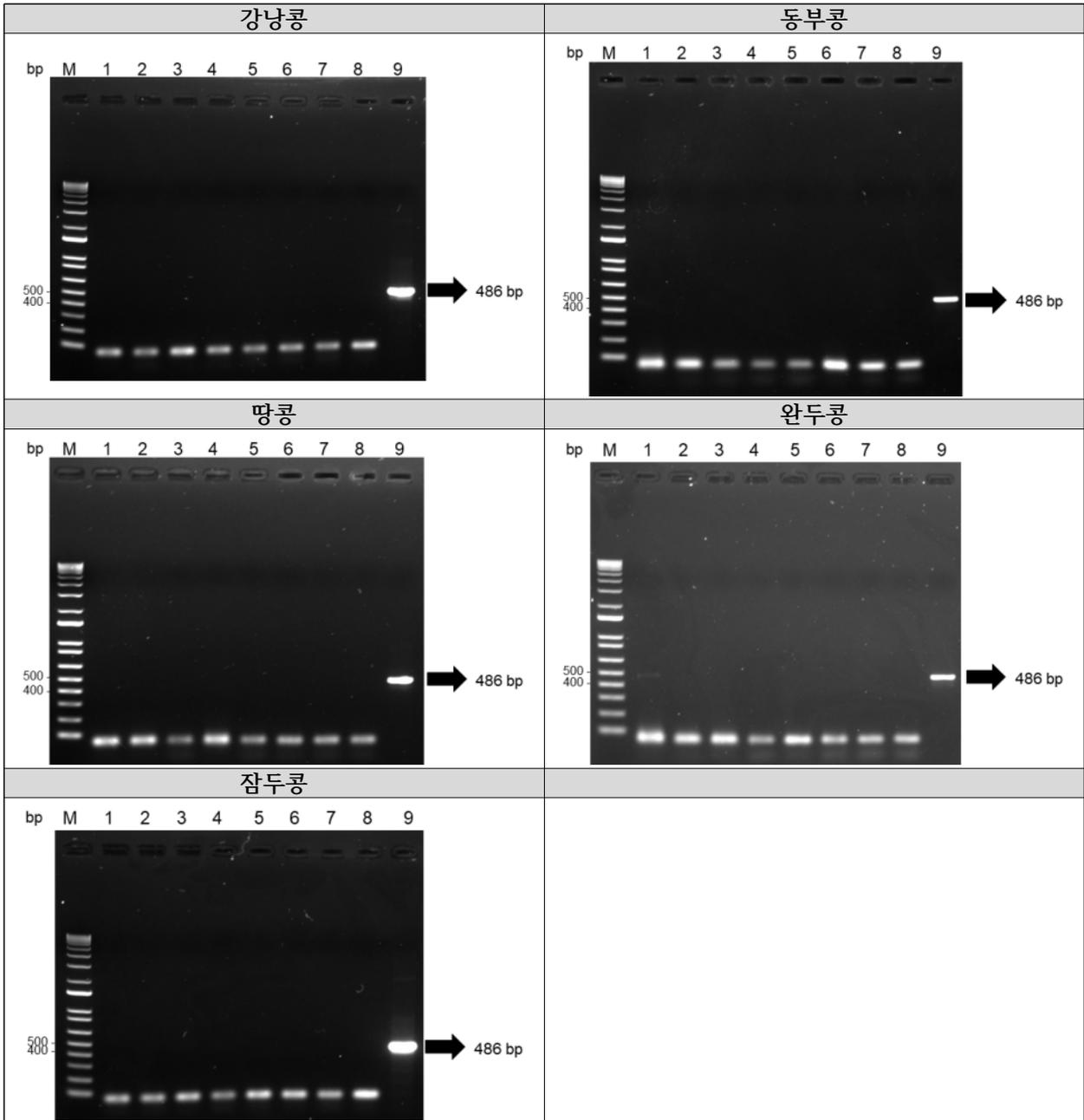
<그림> CCMV RNA3 322 UP/ CCMV RNA3 813 DN(200 nM)와 Taq DNA polymerase (BioFACT)을 사용하여 콩과 작물들에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

새로 보완된 CCMV 바이러스 프라이머(CCMV RNA3 322 UP/ CCMV RNA3 813 DN)를 사용하여 CCMV의 기주식물에 포함되는 콩과 작물들(강낭콩, 동부콩, 땅콩, 완두콩, 잠두콩)을 대상으로 표준 양성시료 검정 결과를 기초하여 국내산 중합효소들을 사용하여 비특이적인 반응을 분석하였음. 콩과 작물들(강낭콩, 동부콩, 땅콩, 완두콩, 잠두콩)을 RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 10배 연속 희석법 (10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 콩과 작물들(강낭콩, 동부콩, 땅콩, 완두콩, 잠두콩)에서 모두 비특이적인 반응은 보이지 않았음.



<그림> CCMV RNA3 522 UP/ CCMV RNA3 813 DN(200 nM)와 Taq DNA polymerase (BioFACT)을 사용하여 콩과 식물들에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

새로 보완된 CCMV 바이러스 프라이머(CCMV RNA3 522 UP/ CCMV RNA3 813 DN)를 사용하여 CCMV의 기주식물에 포함되는 콩과 식물들(강낭콩, 동부콩, 땅콩, 완두콩, 잠두콩)을 대상으로 표준 양성시료 검정 결과를 기초하여 국내산 중합효소들을 사용하여 비특이적인 반응을 분석하였음. 콩과 식물들(강낭콩, 동부콩, 땅콩, 완두콩, 잠두콩)을 RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 10배 연속 희석법 (10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 콩과 식물들(강낭콩, 동부콩, 땅콩, 완두콩, 잠두콩)에서 모두 비특이적인 반응은 보이지 않았음.



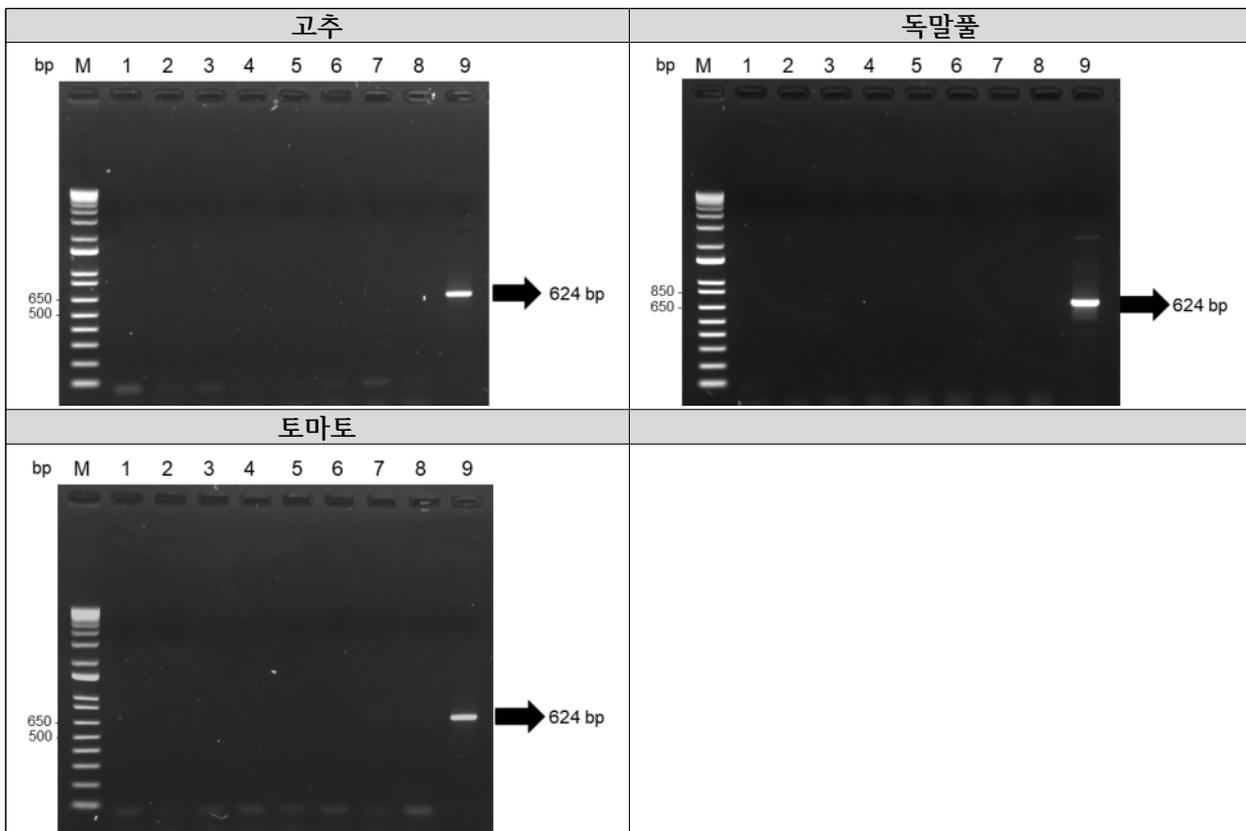
<그림> CCMV RNA3 522 UP/ CCMV RNA3 1007 DN(200 nM)와 Taq DNA polymerase (BioFACT)을 사용하여 콩과 식물들에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

새로 보완된 CCMV 바이러스 프라이머(CCMV RNA3 522 UP/ CCMV RNA3 1007 DN)를 사용하여 CCMV의 기주식물에 포함되는 콩과 식물들(강낭콩, 동부콩, 땅콩, 완두콩, 잠두콩)을 대상으로 표준 양성시료 검정 결과를 기초하여 국내산 종합효소들을 사용하여 비특이적인 반응을 분석하였음. 콩과 식물들(강낭콩, 동부콩, 땅콩, 완두콩, 잠두콩)을 RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 10배 연속 희석법 (10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 콩과 식물들(강낭콩, 동부콩, 땅콩, 완두콩, 잠두콩)에서 모두 비특이적인 반응은 보이지 않았음.

그 밖에 새로 보완된 CCMV 바이러스 프라이머들 중 CCMV RNA3 265 UP/ CCMV RNA3 595 DN, CCMV RNA3 265 UP/ CCMV RNA3 813 DN, CCMV RNA3 265 UP/ CCMV RNA3 1007 DN, CCMV

RNA3 322 UP/ CCMV RNA3 595 DN, CCMV RNA3 322 UP/ CCMV RNA3 1007 DN 조합들은 기주 식물에 포함되는 콩과 작물들(강낭콩, 동부콩, 땅콩, 완두콩, 잠두콩)에서 비특이적 반응을 나타내었음.

□ ToCV 검정 프라이머를 사용하여 기주식물 검정결과



<그림> ToCV RNA2 127 UP/ ToCV RNA2 750 DN(200 nM), 0.004% BSA와 Taq DNA polymerase (BioFACT)을 사용하여 고추, 토마토, 독말풀에서 PCR (Ta: 55 °C) 수행 결과. M: 1kb plus DNA marker (Thermo Fisher), 1: 10 ng cDNA, 2: 1 ng cDNA, 3: 100 pg cDNA, 4: 10 pg cDNA, 5: 1 pg cDNA, 6: 100 fg cDNA, 7: 10 fg cDNA, 8: 1 fg cDNA, 9: 10 ng positive clone.

새로 보완된 ToCV 바이러스 프라이머(ToCV RNA2 127 UP/ ToCV RNA2 750 DN)를 사용하여 ToCV의 기주식물에 포함되는 고추, 토마토, 독말풀을 대상으로 표준양성시료 검정 결과를 기초하여 국내 산 중합효소들을 사용하여 비특이적인 반응을 분석하였음. 고추, 토마토, 독말풀을 RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany)을 사용하여 total RNA를 추출한 후, 10배 연속 희석법 (10-fold serial dilution)으로 희석하여 PCR를 수행하였음. PCR 혼합물과 PCR 수행 조건은 표준양성시료를 사용했을 때와 같음. 그 결과 고추, 토마토, 독말풀에서 모두 비특이적인 반응은 보이지 않았음.

[표] 18종 바이러스들을 검정하기 위한 신규 프라이머 목록

Species	Primer name	Sequences (5'-->3')	Amplicon size	Ta (°C)	비고
Andean potato mottle virus (APMoV)	APMoV 597 F	TGATTATTTTAGGCAGACAG G	597	58	고추 (Ta: 60 °C),
	APMoV 597 R	GAAGCTATGCAATCCTTACT AA			
	APMoV 386 F	GTAGCTTCCACAATTGTGCA	386	58	고추 (Ta: 60 °C)
	APMoV 386 R	GCATTTAGATACTCTGTACC AG			
Chrysanthemum stem necrosis orthotospo virus (CSNV)	CSNV UP1	AGCTGGAGAAGTTGAATTTG AG	360	59.8	
	CSNV new LO1	GCATCATTCAAGCTAAGCC			
	CSNV new UP2	CTTAGCTTGAATGATGCAAA G	405	57.4	
	CSNV new LO2	GTTTAGATCCCTTTTGAAC T			
	CSNV new N5	CAAAGAGCGACTGCGGAATA	942	59.7	
	CSNV new N3	CACACTTTAAATCTTTAACAC ACC			
Impatiens necrotic spot orthotospo virus (INSV)	Ncp 553-F	GTAGTGGTCCATTGCAGC	553	58	오이, 고추, 국화 (Ta: 60 °C)
	Ncp 553-R	CTTCCTCAAGAATAGGCAAT C			
	INS 365-F	TTCGGGTAAAGCAGTAGTAG A	365	56	고추 (Ta: 58 °C)
	INS 365-R	CTTTCAGACCGAATCTTGAA G			
	Inncp 2126 F	TAGTGGTCCATTGCAGCA	287	58	고추, 국화 (Ta: 60 °C)
	INncp 2414 R	TGTGTCTTGGGTGTTCTCT			
	Inncp new 339 F	CTAAGAGAACACCCAAGAC	339	54	오이, 고추, 국화 (Ta: 56 °C)
	Inncp new 339 R	TTACCAACAACCGTGAAAA			
	INSV new F6	TCCTAAGAGAACACCCAAG	438	54	
	INSV new R2	ATTACCAAGGAGAACATAGT C			
	INSV new F2	GTAAGCCCTTCTTTGTAGTG	625	55	고추, 국화 (Ta: 60 °C)
	INSV new R4	ACTTCTTTACCAACAACCG			
	Inncp 2127 F	TAGTGGTCCATTGCAGCA	519	58	
	Inncp 2646 R	CATTAAGAGTGCTGACTTCA C			
Iris yellow spot orthotospo virus (IYSV)	IYSV 623 F	GAAGACTCACCAATGTCTTC	623	54	쪽파, 부추 (Ta: 56 °C)
	IYSV 623 R	ATTCTTAGAAACAGAGCAGG			
Potato mop-top virus (PMTV)	PMT-N40	CGCAGAGGTGGACGATTTAT TA	582	63.2	
	PMT-new C60	CTGCACAACCAGTCCGAC			
	PMTV 1139 F	GTAGTTATGACGATGCGCAG	491	61.5	
	PMTV 1629 R	ACAAGGATACTGAGGACCTG			

Tobacco necrosis virus D (TNV-D)	TNV-new PN1	GGATCCTGGGAAACAGGTT	153	55	
	TNV new PC2	CTAGGTAAATAAAGAGGGGA C			
Plum pox virus (PPV)	PPV CP 598 F	GCGAAACCCACTTTTAGACA	290	57	
	PPV CP 887 R	CTAGGTAAATAAAGAGGGGA C			
Blueberry red ringspot virus (BRRSV)	BRRSV CP 115 F	AGTGATTATGATGTAAGAAT G	599	53	600 nM
	BRRSV CP 713 R	CAGTAGAATTCTTCGAATTC			
Blueberry scorch virus (BIScV)	BIScV 8061 F	AGTACACTGGTGGGCTTC	357	60	
	BIScV 8417 R	CGGTATCACCTCAGTTACTC			
Cherry necrotic rusty mottle virus (CNRMV)	CNRMV CP 50 F	CTGCAAACAACAAGATCCCG	262	57	300 nM
	CNRMV CP 311 R	TTGAGGTGCTCAACCCAATC			
	CNRMV CP 244 F	ACAACCTCTCAACATTGCATC	298	57	
	CNRMV CP 541 R	GCCAATTAGCTGGAGGTAT			
Little cherry virus 1 (LChV-1)	LchV1 11929 F	ACAATTCAAAGTTTAGTAA	1,327	55	300 nM
	LchV1 13255 R	GTCCTAATACTTGCGAAA			
Little cherry virus 2 (LChV-2)	LchV2 5449 F	AGCAGTGTTCTAACATT	758	57	
	LchV2 6206 R	ATACCAGTCGCGAGTAAG			
Banana bract mosaic virus (BBrMV)	BBrMV CP 8704 UP	CAAGCACATTTGGACAAC	570	53	
	BBrMV CP 9273 DN	TCAATCCTCTAAGTGCTC			
	BBrMV CP 8735 UP	AGTCCATCTTCATCAAGCA	628	53	
	BBrMV CP 9362 DN	CATCTGCGTGTGTGCTTC			
Banana bunchy top virus (BBTV)	BBTV S CP 365 UP	GATTGAGCCTACTGATA	363	55	400 nM
	BBTV S CP 727 DN	GTAATTCTGTTCTGGTAG			
Carnation necrotic fleck virus (CNFV)	CNF_N10 UP	TTGCGTCAACAGGATTCC	147	53	
	CNF_C70 DN	AACCCATCTCTTGAGGTCG			
	CNF_N10 UP	TTGCGTCAACAGGATTCC	447	53	
	NF_C40 DN	ATTGTAACCACTCAAGGTGA CG			
	CNF_N10 UP	TTGCGTCAACAGGATTCC	325	53	
	CNFV 9527 DN	TGATACAACGTACGAAGCT			
Colombian datura virus (CDV)	CDV 8509 UP	CAGAGGTGATTATGATGATA	478	55	
	CDV 8986 DN	ATCCATCATAGTCCAGAC			
	CDV 8509 UP	CAGAGGTGATTATGATGATA	400	55	
	CDV 8908 DN	TATCTGCATCTGTTTCATC			
	CDV 8770 UP	TATTAGTCTGGACCATCT	217	55	
	CDV 8986 DN	ATCCATCATAGTCCAGAC			

Cowpea chlorotic mottle virus (CCMV)	CCMV RNA3 265 UP	TACTGGTTCCTCCAGGAC	331	55	콩과 작물에서 특이 반응을 보였음
	CCMV RNA3 595 DN	CAATCTAATGGTGACTCTC			
	CCMV RNA3 265 UP	TACTGGTTCCTCCAGGAC	549	55	콩과 작물에서 특이 반응을 보였음
	CCMV RNA3 813 DN	GCATGACTCATAACGACG			
	CCMV RNA3 265 UP	TACTGGTTCCTCCAGGAC	743	55	콩과 작물에서 특이 반응을 보였음
	CCMV RNA3 1007 DN	GCTCGTCAGTCTTCAGTAG			
	CCMV RNA3 322 UP	GTCGTTGTTACAGTCACT	274	55	콩과 작물에서 특이 반응을 보였음
	CCMV RNA3 595 DN	CAATCTAATGGTGACTCTC			
	CCMV RNA3 322 UP	GTCGTTGTTACAGTCACT	492	55	
	CCMV RNA3 813 DN	GCATGACTCATAACGACG			
	CCMV RNA3 322 UP	GTCGTTGTTACAGTCACT	686	55	콩과 작물에서 특이 반응을 보였음
	CCMV RNA3 1007 DN	GCTCGTCAGTCTTCAGTAG			
	CCMV RNA3 522 UP	GTATACCTAGAGTGCTGGT	292	55	
	CCMV RNA3 813 DN	GCATGACTCATAACGACG			
	CCMV RNA3 522 UP	GTATACCTAGAGTGCTGGT	486	55	
CCMV RNA3 1007 DN	GCTCGTCAGTCTTCAGTAG				
Tomato chlorosis virus (ToCV)	ToCV RNA2 127 UP	TTCTAGTGACGCTATGTT	624	55	0.004% BSA
	ToCV RNA2 750 DN	ACCAGCTTTAATACTCATA			

<참고> 비고란에 primer 농도가 명시되어 있지 않으면, 200 nM 기준으로 PCR를 실시함.

2-3. 제2협동 연구 수행 과정 및 수행 내용 [(재)철원플라즈마산업기술연구원]

1. 국내의 아열대작물의 바이러스 조사 및 Data Base 구축

1) 국내 수입 아열대 작물 현황 조사

- 국내에 재배하고 있는 아열대 작물의 현황을 보면, 총 23개의 작물을 재배하고 있었으며, 작물별 국내 생산량, 재배지 면적, 농가수는 다음과 같음.
- 국내 재배되고 있는 아열대 과수의 경우, 생산량을 기준으로 바나나(1,212.7톤), 파파야(688.5톤), 백향과(467.8톤), 망고(399.3톤), 용과(74.1톤), 구아바(28.4톤), 커피(4.8톤), 아떼모야(1.6톤), 올리브(1.6톤), 웨이조아(0.1톤)의 순으로 재배가 이루어지고 있음.

[표] 국내에서 재배되고 있는 아열대 과수 현황

No.	아열대 작물	생산량(톤)	재배면적(ha)	농가수
1	바나나	1,212.7	29.3	61
2	파파야	688.5	15.1	42
3	백향과	467.8	36.5	156
4	망고	399.3	62.0	159
5	용과	74.1	6.4	25
6	구아바	28.4	5.4	33
7	커피	4.8	6.8	42
8	아떼모야	1.6	0.1	1
9	올리브	0.5	2.5	8
10	웨이조아	0.1	-	1



<국내 생산량>

<국내 재배면적>

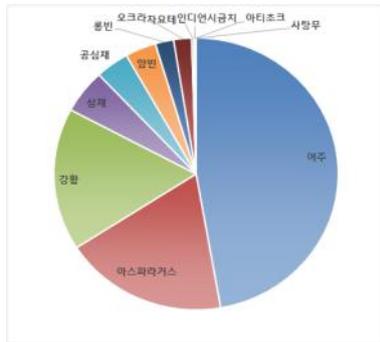
<국내 재배농가수>

<그림> 아열대 작물(과수)별 국내 생산량, 재배면적, 재배 농가수 현황

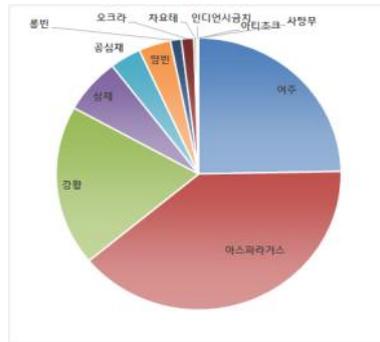
- 국내 재배되고 있는 아열대 과수의 경우, 생산량을 기준으로 여주(1,637.0톤), 아스파라거스(646.5톤), 강황(586.8톤), 삼채(180.6톤), 공심채(132.5톤), 양빈(122.1톤), 롱빈(72.7톤), 오크라(70.3톤), 차요테(8.7톤), 인디언시금치(5.5톤), 아티초크(2.2톤), 사탕무(1.0톤)의 순으로 재배가 이루어지고 있음.

[표] 국내에서 재배되고 있는 아열대 채소 현황

No.	아열대 작물	생산량(톤)	재배면적(ha)	농가수
1	여주	1,637.0	59.9	232
2	아스파라거스	646.5	95.2	297
3	강황	586.8	46.4	367
4	삼채	180.6	15.9	71
5	공심채	132.5	8.6	55
6	얌빈	122.1	8.8	53
7	롱빈	72.7	3.0	22
8	오크라	70.3	3.4	27
9	차요테	8.7	0.7	10
10	인디언시금치	5.5	0.4	8
11	아티초크	2.2	0.2	2
12	사탕무	1.0	-	1



<국내 생산량>



<국내 재배면적>



<국내 재배농가수>

<그림> 아열대 작물(채소)별 국내 생산량, 재배면적, 재배 농가수 현황

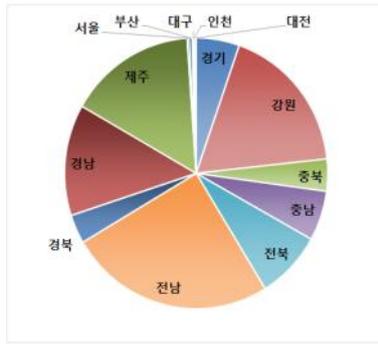
- 국내 지역별 재배 작물 현황은 생산량 기준으로 경남(1,595.5톤), 전남(1,445.8톤), 제주(1,296.7톤), 전북(750.0톤), 강원(533.2톤), 충남(346.4톤) 등의 순으로 많이 재배가 되고 있으며, 재배면적과 농가수 기준으로는 전남(재배면적: 102.8ha, 농가수: 566농가)이 가장 많음을 알 수 있었음.

[표] 국내 지역별 재배되고 있는 아열대 작물 현황

No.	지역	생산량(톤)	재배면적(ha)	농가수
1	경남	1,595.5	54.0	162
2	전남	1,445.8	102.8	566
3	제주	1,296.7	63.6	156
4	전북	750.0	33.1	160
5	강원	533.2	73.1	228
6	충남	346.4	24.2	135
7	충북	164.5	15.6	45
8	경기	157.4	21.6	121
9	인천	20.7	0.9	8
10	대구	13.6	0.5	7
11	부산	12.1	1.5	9
12	대전	5.0	0.6	1
13	서울	3.0	1.0	5
14	경북	-	14.1	70
15	광주	-	-	-
16	울산	-	-	-
17	세종	-	-	-



<지역별 생산량>



<지역별 재배면적>



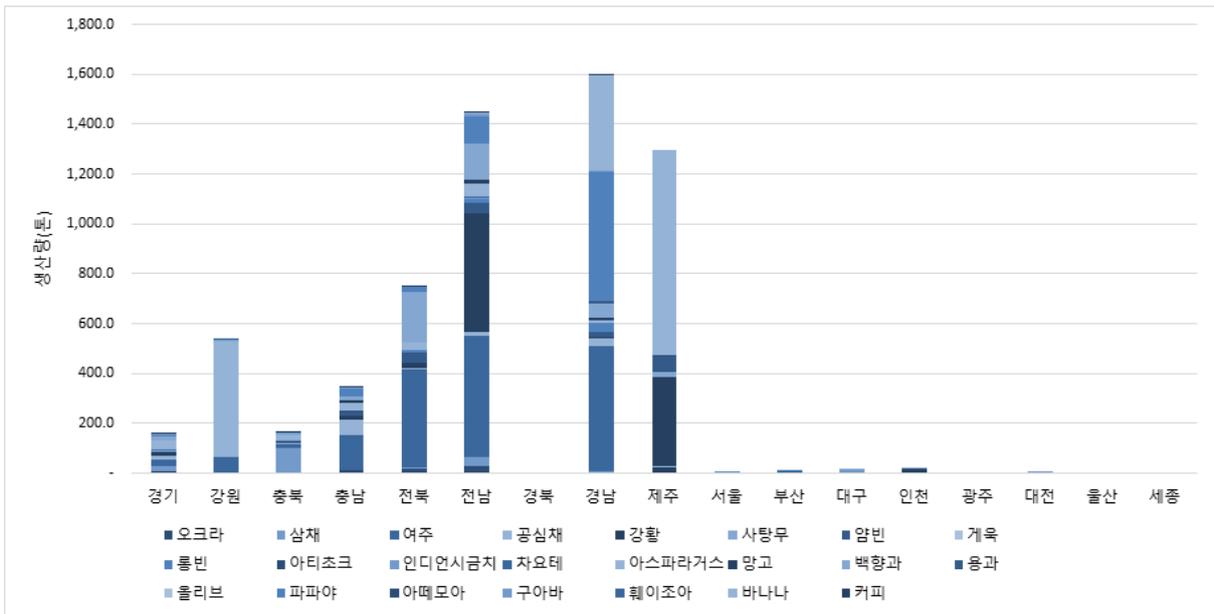
<지역별 재배농가수>

<그림> 국내 재배되고 있는 아열대 작물의 지역별 현황

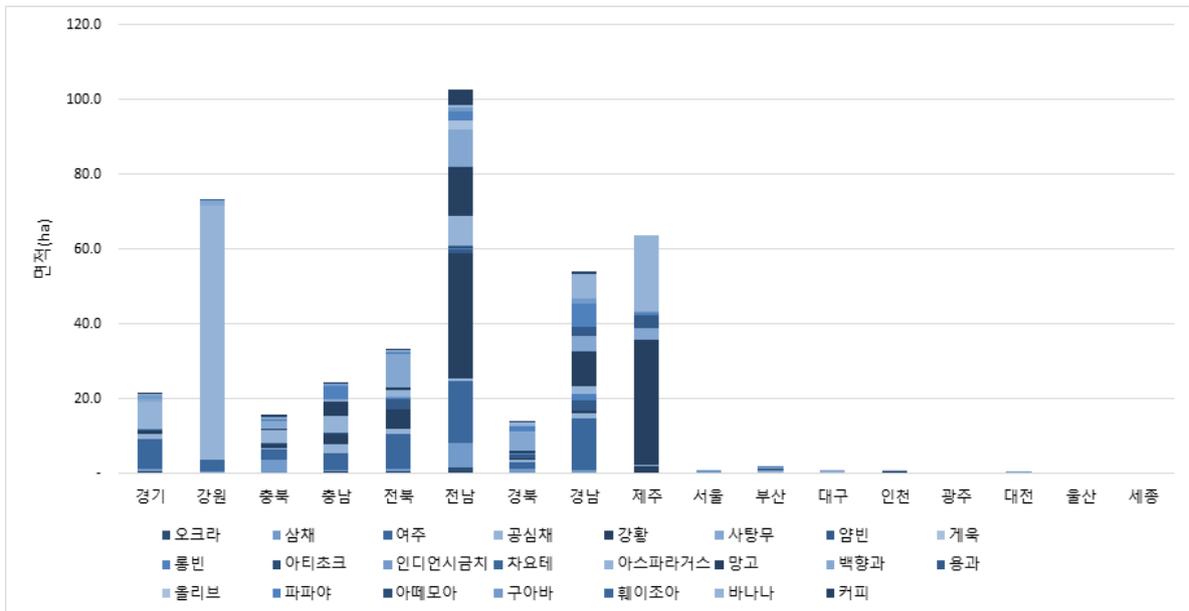
[표] 국내 재배되고 있는 아열대 작물의 지역별 세부 현황

		경기	강원	충북	충남	전북	전남	경북	경남	제주	서울	부산	대구	인천	광주	대전	울산	세종
오르라	농가수	2.0	-	1.0	3.0	5.0	11.0	2.0	1.0	-	-	1.0	1.0	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	0.4	-	0.1	0.5	0.5	1.6	-	0.1	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	10.0		0.5	10.5	18.0	27.2	-	3.0	-	-	1.0	0.2	-	-	-	-	-
삼채	농가수	5.0	1.0	2.0	16.0	10.0	22.0	4.0	3.0	-	5.0	-	1.0	2.0	-	-	-	-
	면적 (ha)	0.7	0.5	3.4	0.5	0.8	6.5	1.3	0.6	-	1.0	-	0.2	0.3	-	-	-	-
	생산량 (톤)	18.2	0.5	100.0	1.1	2.9	36.0	-	3.2	-	3.0	-	11.0	4.6	-	-	-	-
여주	농가수	43.0	15.0	9.0	39.0	19.0	59.0	8.0	38.0	-	-	1.0	1.0	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	8.0	3.1	3.0	4.2	9.1	16.6	1.6	14.1	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	25.6	62.1	17.6	143.1	395.0	485.9	-	502.5	-	-	5.0	0.2	-	-	-	-	-
공심채	농가수	7.0	-	3.0	10.0	13.0	7.0	6.0	7.0	-	-	1.0	1.0	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	1.4	-	0.3	2.5	1.6	0.4	0.8	1.4	-	-	0.3	0.1	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	14.8	-	2.9	58.0	7.6	16.5	-	30.0	-	-	2.0	0.8	-	-	-	-	-
강황	농가수	11.0	-	3.0	22.0	24.0	280.0	3.0	4.0	17.0	-	-	-	3.0	-	-	-	-
	면적 (ha)	1.1	-	1.0	2.8	5.0	33.7	0.1	0.5	1.9	-	-	-	0.3	-	-	-	-
	생산량 (톤)	18.7	-	5.8	17.8	20.6	477.5	-	8.3	25.6	-	-	-	12.5	-	-	-	-
사탕무	농가수	1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	면적 (ha)		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
암빈	농가수	1.0	-	2.0	2.0	12.0	10.0	13.0	13.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	0.1	-	0.3	0.5	2.7	1.0	1.4	2.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	3.0	-	2.2	17.0	39.0	43.0	-	17.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
계유	농가수	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
통빈	농가수	1.0	-	1.0	-	6.0	6.0	1.0	6.0	-	-	-	1.0	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	0.1	-	0.1	-	0.4	0.4	0.1	1.8	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	5.0	-	4.2	-	11.0	13.5	-	38.5	-	-	-	0.5	-	-	-	-	-
아티초크	농가수	-	-	-	1.0	-	1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	-	-	-	1.0	-	1.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
인디언시	농가수	-	-	-	-	5.0	2.0	-	-	-	-	1.0	-	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	-	-	-	-	0.2	0.1	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-

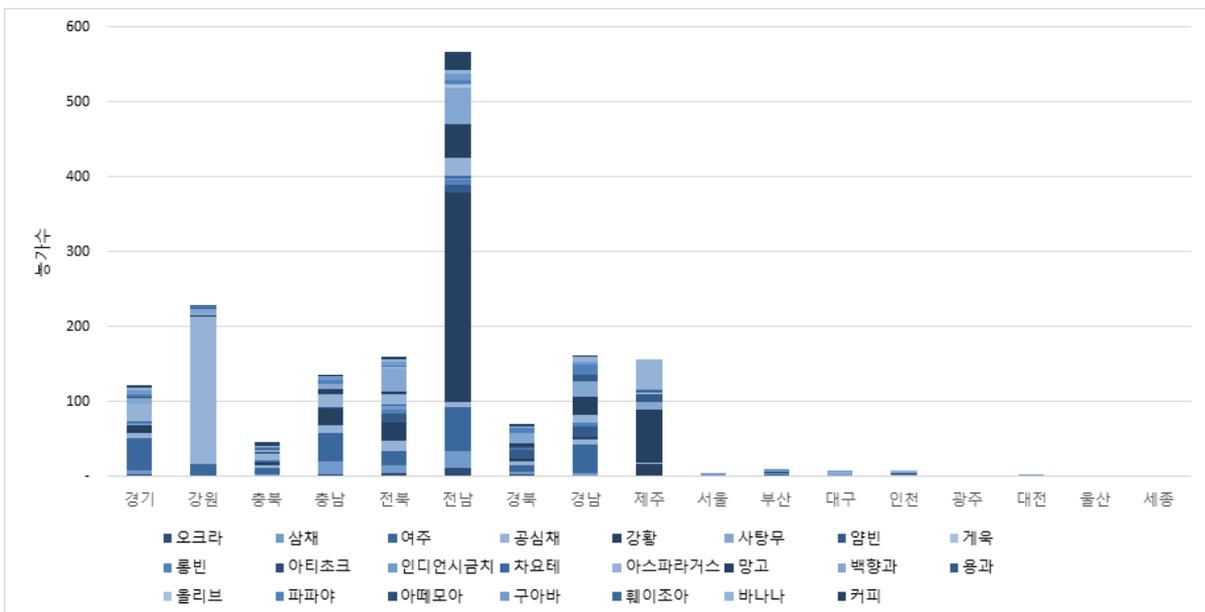
금치	생산량 (톤)	-	-	-	-	1.5	3.0	-	-	-	-	1.0	-	-	-	-	-	-
차요테	농가수	2.0	1.0	1.0	-	1.0	3.0	2.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	0.1	-	-	-	0.2	0.3	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	1.2	2.0	0.6	-	0.0	4.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
아스파라거스	농가수	22.0	196.0	8.0	17.0	15.0	25.0	-	10.0	1.0	-	-	-	3.0	-	-	-	-
	면적 (ha)	7.2	68.0	3.5	4.3	1.8	8.0	-	1.9	0.2	-	-	-	0.3	-	-	-	-
	생산량 (톤)	34.0	465.2	19.1	32.2	29.4	54.2	-	7.8	1.0	-	-	-	3.6	-	-	-	-
망고	농가수	-	2.0	1.0	7.0	3.0	44.0	5.0	24.0	71.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	-	0.1	0.2	3.7	0.6	13.1	0.6	9.4	33.8	-	0.5	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	-	0.2	-	12.2	-	13.0	-	13.5	360.1	-	0.3	-	-	-	-	-	-
백향과	농가수	9.0	8.0	5.0	6.0	31.0	48.0	14.0	20.0	11.0	-	1.0	2.0	-	-	1.0	-	-
	면적 (ha)	0.8	1.2	1.9	0.7	9.0	9.9	5.0	4.0	3.1	-	0.2	0.1	-	-	0.6	-	-
	생산량 (톤)	18.4	2.0	3.0	14.2	200.1	147.5	-	56.1	20.0	-	0.6	0.9	-	-	5.0	-	-
용과	농가수	2.0	2.0	1.0	-	-	1.0	-	10.0	9.0	-	-	-	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	0.1	0.1	0.3	-	-	0.2	-	2.5	3.2	-	-	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	-	0.5	3.0	-	-	0.5	-	10.3	59.8	-	-	-	-	-	-	-	-
올리브	농가수	-	-	-	-	1.0	5.0	-	-	2.0	-	-	-	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	-	-	-	-	-	2.2	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	-	-	-	-	0.1	0.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
파파야	농가수	3.0	1.0	1.0	6.0	2.0	5.0	6.0	14.0	2.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	0.1	-	0.2	3.7	0.3	2.4	1.5	6.4	0.4	-	0.2	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	1.1	0.3	-	34.0	22.1	108.5	-	517.0	3.3	-	2.2	-	-	-	-	-	-
아페모아	농가수	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0	-	-	-	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	-	-	-	-	-	-	-	-	1.6	-	-	-	-	-	-	-	-
구아바	농가수	6.0	1.0	1.0	4.0	6.0	9.0	-	3.0	3.0	-	-	-	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	1.0	-	0.4	0.7	0.4	1.1	-	1.4	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	4.8	0.3	5.0	3.3	1.9	6.6	-	4.2	2.3	-	-	-	-	-	-	-	-
웨이조아	농가수	-	1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
바나나	농가수	3.0	-	2.0	1.0	3.0	5.0	2.0	6.0	39.0	-	-	-	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	0.1	-	0.4	0.1	0.1	0.8	1.1	6.5	20.2	-	-	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	-	-	-	0.5	0.2	6.0	-	383.0	823.0	-	-	-	-	-	-	-	-
커피	농가수	3.0	-	4.0	1.0	4.0	23.0	4.0	3.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	면적 (ha)	0.5	-	0.6	0.1	0.3	4.3	0.5	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	생산량 (톤)	1.7	-	0.5	1.5	0.5	0.5	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-



<그림> 국내 지역별 재배되고 있는 아열대 작물 생산량 분포



<그림> 국내 지역별 재배되고 있는 아열대 작물 재배면적 분포



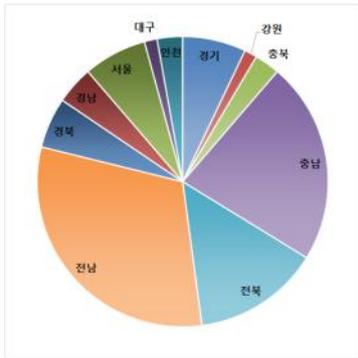
<그림> 국내 지역별 재배되고 있는 아열대 작물 농가 분포

- 본 연구에서는 현재 전국 아열대재배 생산량과 재배 면적의 조사 결과를 토대로 하여, 농촌진흥청의 유망 아열대 재배 작물 추천 리스트를 토대로 하여, 최종 10종 (과수 5종: 바나나, 파파야, 백향과, 망고, 용과, 과수 5종: 여주, 강황, 삼채, 공심채, 양빈)을 선별하였음.

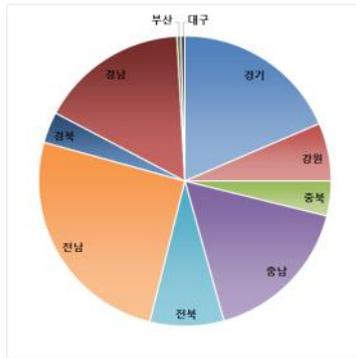
[표] 본 연구를 위해 선정한 국내 아열대 작물 (과수, 채소) 리스트

	과수	채소
1	바나나	여주
2	파파야	강황
3	백향과	삼채
4	망고	공심채
5	용과	양빈

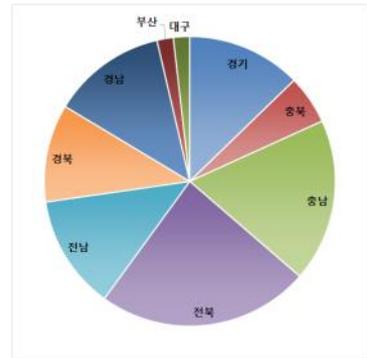
- 본 연구에서 선정한 10종에 대한 아열대작물의 지역별 재배 농가수 현황은 다음과 같으며, 삼채는 전남>충남>전북, 여주는 전남>충남>경기, 공심채는 전북>충남>전남>경남>경기 순으로 농가가 많았고, 강황은 전남이 대부분을 차지하며, 양빈은 경북>경남>전북>전남, 망고는 제주>전남>경남, 백향과는 전남>전북>경남>경북, 용과는 경남>제주, 파파야는 경남>충남>경북>전남 순으로 재배 농가가 많았으며, 바나나는 대부분 제주도에 재배되고 있음.



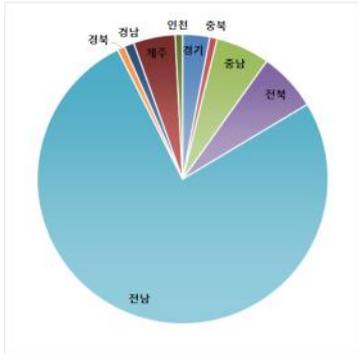
<삼채>



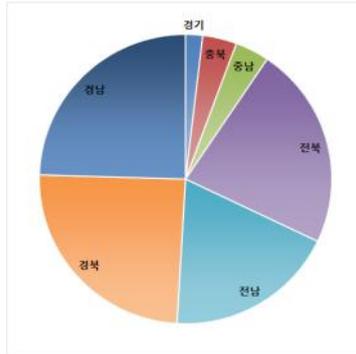
<여주>



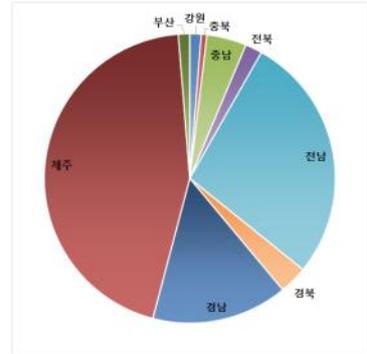
<공심채>



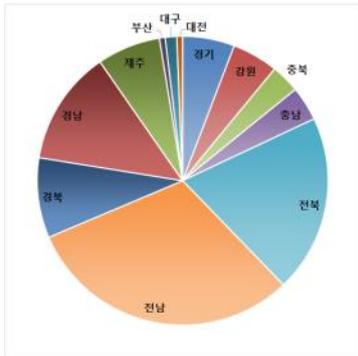
<강황>



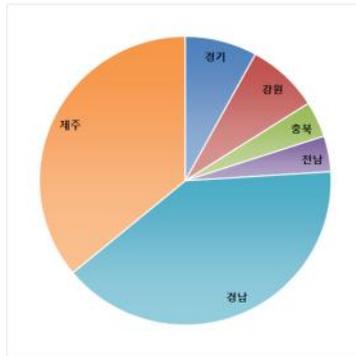
<암빈>



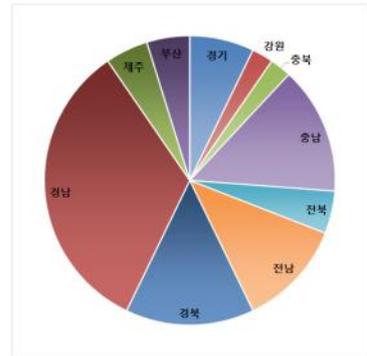
<망고>



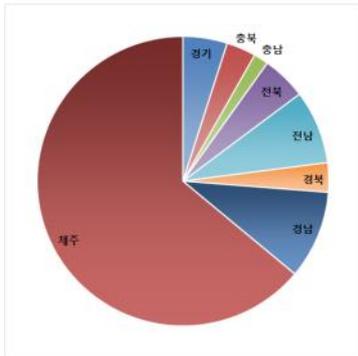
<백향과>



<용과>



<파파야>



<바나나>

<그림> 본 과제에서 선별한 10종의 아열대작물에 대한 지역별 재배 농가수 현황

2) 아열대 작물의 유입우려 바이러스 조사

- 전세계 아열대 작물을 과(科, family)별로 구분하여, 기주별 바이러스병을 일으키는 바이러스를 분류하였음.

[표] 전세계 아열대 작물별 바이러스병을 일으키는 바이러스 리스트

Host Family	Climate	Host species	Virus
단풍나무과 (Aceraceae)	온대 아열대	단풍나무 (Acer palmatum)	Abelia latent tymovirus
용설란아과 (Agavaceae)	열대 아열대	용설란(Agave)	Furcraea necrotic streak dianthovirus
		복극란속(Furcraea)	Furcraea necrotic streak dianthovirus
		Furcraea macrophylla	Furcraea necrotic streak dianthovirus
		폴리안테스속 (Polianthes tuberosa)	Tuberose potyvirus
비름과 (Amaranthaceae)	온대 아열대 열대	공심연자초 (Alternanthera philoxeroides)	Alligatorweed stunting closterovirus
		비름과 (Amaranthaceae)	Apple stem grooving capillovirus
		줄맨드라미 (Amaranthus caudatus)	Abelia latent tymovirus
			Alfalfa mosaic alfamovirus
			Amaranthus leaf mottle potyvirus
			Amaranthus mosaic potyvirus
			Arracacha A nepovirus
			Arracacha B nepovirus
			Bean yellow mosaic potyvirus
			Beet curly top hybrigeminivirus
			Beet mosaic potyvirus
			Cactus X potexvirus
			Carnation mottle carmovirus
			Carnation ringspot dianthovirus
			Carnation vein mottle potyvirus
			Celery latent potyvirus
			Chicory yellow mottle nepovirus
			Clover yellow mosaic potexvirus
			Clover yellow vein potyvirus
			Cucumber mosaic cucumovirus
			Cymbidium ringspot tobusvirus
			Dahlia mosaic caulimovirus
			Elderberry carlavirus
			Grapevine fanleaf nepovirus
			Heracleum latent trichovirus
			Humulus japonicus ilarvirus
			Iris fulva mosaic potyvirus
			Lamium mild mottle fabavirus
			Lettuce mosaic potyvirus
			Maclura mosaic macluravirus
			Marigold mottle potyvirus
			Peanut stunt cucumovirus
			Plantain X potexvirus
			Potato 14R tobamovirus
			Potato Andean latent tymovirus
			Potato black ringspot nepovirus
			Potato leafroll luteovirus
			Red clover necrotic mosaic dianthovirus
			Ribgrass mosaic tobamovirus
			Telfairia mosaic potyvirus
			Tobacco etch potyvirus
			Tobacco necrosis necrovirus
			Tobacco rattle tobavirus
			Tobacco ringspot nepovirus
			Tobacco streak ilarvirus
			Tomato black ring nepovirus
			Tomato spotted wilt tospovirus
			Turnip mosaic potyvirus
			Ullucus mild mottle tobamovirus
			Viola mottle potexvirus
			Watermelon mosaic 2 potyvirus

		Zygocactus Montana X potexvirus
	선줄맨드라미 (Amaranthus cruentus)	Amaranthus mosaic potyvirus
	아마란스 그레인 (Amaranthus deflexus)	Amaranthus leaf mottle potyvirus
	Amaranthus dilatatum	Amaranthus mosaic potyvirus
	슬림 아마란스 (Amaranthus hybridus)	Amaranthus leaf mottle potyvirus
		Viola mottle potexvirus
	왕자의 깃털 (Amaranthus hypochondriacus)	Celery latent potyvirus
	Amaranthus leucocarpus	Amaranthus mosaic potyvirus
	개비름 (Amaranthus lividus)	Amaranthus mosaic potyvirus
	털비름 (Amaranthus retroflexus)	Alfalfa mosaic alfamovirus
		Amaranthus leaf mottle potyvirus
		Apple mosaic ilarvirus
		Asparagus 3 potexvirus
		Beet curly top hybrigeminivirus
		Beet mosaic potyvirus
		Beet western yellows luteovirus
		Cactus X potexvirus
		Celery latent potyvirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Elm mottle ilarvirus
		Grapevine Bulgarian latent nepovirus
		Lilac chlorotic leafspot capillovirus
		Nerine X potexvirus
		Okra mosaic tymovirus
		Ribgrass mosaic tobamovirus
		Spinach latent ilarvirus
		Statice Y potyvirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Tobacco rattle tobavirus
		Tobacco streak ilarvirus
		Tomato black ring nepovirus
		Tomato ringspot nepovirus
	Tomato spotted wilt tospovirus	
	Tomato top necrosis nepovirus	
	비름 (Amaranthus tricolor)	Amaranthus leaf mottle potyvirus
		Amaranthus mosaic potyvirus
		Apple mosaic ilarvirus
	청비름 (Amaranthus viridis)	Amaranthus mosaic potyvirus
	개맨드라미 (Celosia argentea)	Abelia latent tymovirus
		Alfalfa mosaic alfamovirus
		Beet mosaic potyvirus
		Beet western yellows luteovirus
		Cactus X potexvirus
		Caraway latent nepovirus
		Carnation mottle carmovirus
		Carnation vein mottle potyvirus
		Cherry leaf roll nepovirus
		Clover yellow vein potyvirus
		Cucumber leaf spot carmovirus
		Cymbidium ringspot tombusvirus
		Dogwood mosaic nepovirus
		Elderberry carlavirus
		Elm mottle ilarvirus
		Erysimum latent tymovirus
		Garlic common latent carlavirus
		Henbane mosaic potyvirus
		Leek yellow stripe potyvirus

		Lilac ring mottle ilarvirus
		Peanut clump furovirus
		Pelargonium flower break carmovirus
		Pelargonium line pattern carmovirus
		Pepper veinal mottle potyvirus
		Plum American line pattern ilarvirus
		Plum pox potyvirus
		Potato leafroll luteovirus
		Red clover necrotic mosaic dianthovirus
		Spinach latent ilarvirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Sweet potato mild mottle ipomovirus
		Telfairia mosaic potyvirus
		Tobacco etch potyvirus
		Tobacco ringspot nepovirus
		Tomato black ring nepovirus
		Tomato bushy stunt tobusvirus
		Turnip mosaic potyvirus
		Watermelon mosaic 2 potyvirus
	맨드라미 (<i>Celosia cristata</i>)	Apple stem pitting virus
		Beet mosaic potyvirus
		Beet yellows closterovirus
		Cherry leaf roll nepovirus
		Chicory yellow mottle nepovirus
		Cucumber leaf spot carmovirus
		Cycas necrotic stunt nepovirus
		Dogwood mosaic nepovirus
		Epirus cherry ourmiavirus
		Eucharis mottle nepovirus
		Henbane mosaic potyvirus
		Humulus japonicus ilarvirus
		Maclura mosaic macluravirus
		Olive latent 1 sobemovirus
		Peach enation nepovirus
		Pelargonium zonate spot ourmiavirus
		Spinach latent ilarvirus
	깃털형맨드라미 (<i>Celosia plumosa</i>)	Heracleum latent trichovirus
		Lilac ring mottle ilarvirus
	천일홍(<i>Gomphrena globosa</i>)	Abelia latent tymovirus
		Alfalfa mosaic alfamovirus
		Alstroemeria ilarvirus
		Amaranthus leaf mottle potyvirus
		Amaranthus mosaic potyvirus
		Apple mosaic ilarvirus
		Apple stem pitting virus
		Arabis mosaic nepovirus
		Arracacha A nepovirus
		Arracacha B nepovirus
		Arracacha latent carlavirus
		Artichoke Italian latent nepovirus
		Artichoke latent potyvirus
		Artichoke mottled crinkle tobusvirus
		Artichoke vein banding nepovirus
		Artichoke yellow ringspot nepovirus
		Asparagus 1 potyvirus
		Asparagus 2 ilarvirus
		Asparagus 3 potexvirus
		Bamboo mosaic potexvirus
		Bean common mosaic potyvirus
		Bean mild mosaic carmovirus
		Bean yellow mosaic potyvirus
		Beet curly top hybrigeminivirus

			Beet mild yellowing luteovirus
			Beet mosaic potyvirus
			Beet necrotic yellow vein furovirus
			Beet western yellows luteovirus
			Black raspberry necrosis virus
			Blueberry leaf mottle nepovirus
			Bramble yellow mosaic potyvirus
			Broad bean mottle bromovirus
			Broad bean wilt fabavirus
			Burdock yellow mosaic potexvirus
			Cacao necrosis nepovirus
			Cactus X potexvirus
			Caraway latent nepovirus
			Carnation mottle carmovirus
			Carnation ringspot dianthovirus
			Carnation vein mottle potyvirus
			Carnation yellow stripe necrovirus
			Carrot mottle umbravirus
			Cassava common mosaic potexvirus
			Cassava green mottle nepovirus
			Cassava Ivorian bacilliform ourmiavirus
			Cassia mild mosaic carlavirus
			Cassia yellow blotch bromovirus
			Celery latent potyvirus
			Cherry leaf roll nepovirus
			Chickpea filiform potyvirus
			Chicory X potexvirus
			Chicory yellow blotch carlavirus
			Chicory yellow mottle nepovirus
			Citrus ringspot virus
			Clover yellow mosaic potexvirus
			Clover yellow vein potyvirus
			Cole latent carlavirus
			Commelina X potexvirus
			Cowpea chlorotic mottle bromovirus
			Cowpea green vein-banding potyvirus
			Cowpea mild mottle carlavirus
			Cowpea mosaic comovirus
			Cowpea rugose mosaic potyvirus
			Cowpea severe mosaic comovirus
			Cucumber leaf spot carmovirus
			Cucumber mosaic cucumovirus
			Cucumber necrosis tomosvirus
			Cucumber soil-borne carmovirus
			Cycas necrotic stunt nepovirus
			Cymbidium mosaic potexvirus
			Cymbidium ringspot tomosvirus
			Dandelion latent carlavirus
			Dandelion yellow mosaic sequivirus
			Daphne X potexvirus
			Datura Colombian potyvirus
			Dogwood mosaic nepovirus
			Eggplant mosaic tymovirus
			Eggplant mottled crinkle tomosvirus
			Eggplant mottled dwarf nucleorhabdovirus
			Elderberry carlavirus
			Elderberry latent carmovirus
			Epirus cherry ourmiavirus
			Eucharis mottle nepovirus
			Foxtail mosaic potexvirus
			Galinsoga mosaic carmovirus
			Gomphrena nucleorhabdovirus

			Grapevine Bulgarian latent nepovirus
			Grapevine chrome mosaic nepovirus
			Grapevine fanleaf nepovirus
			Habenaria mosaic potyvirus
			Helenium S carlavirus
			Helenium Y potyvirus
			Heracleum latent trichovirus
			Hibiscus latent ringspot nepovirus
			Honeysuckle latent carlavirus
			Hydrangea mosaic ilarvirus
			Hydrangea ringspot potexvirus
			Hypochoeris mosaic furovirus
			Impatiens latent potexvirus
			Ivy vein clearing cytorhabdovirus
			Lamium mild mottle fabavirus
			Lato River tombusvirus
			Lettuce mosaic potyvirus
			Lettuce necrotic yellows cytorhabdovirus
			Lilac ring mottle ilarvirus
			Lily X potexvirus
			Lisianthus necrosis necrovirus
			Lucerne Australian latent nepovirus
			Lucerne Australian symptomless nepovirus
			Malva veinal necrosis potexvirus
			Malvastrum mottle virus
			Maracuja mosaic tobamovirus
			Melandrium yellow fleck bromovirus
			Melon Ourmia ourmiavirus
			Melothria mottle potyvirus
			Mulberry latent carlavirus
			Muskmelon vein necrosis carlavirus
			Nandina mosaic potexvirus
			Narcissus mosaic potexvirus
			Neckar River tombusvirus
			Nerine latent carlavirus
			Nerine X potexvirus
			Nicotiana velutina mosaic furovirus
			Odontoglossum ringspot tobamovirus
			Okra mosaic tymovirus
			Olive latent ringspot nepovirus
			Olive latent 1 sobemovirus
			Olive latent 2 ourmiavirus
			Onion mite-borne latent potexvirus
			Papaya mosaic potexvirus
			Parsnip leafcurl virus
			Parsnip mosaic potyvirus
			Parsnip yellow fleck sequivirus
			Passionfruit Sri Lankan mottle potyvirus
			Passionfruit woodiness potyvirus
			Patchouli mosaic potyvirus
			Patchouli mottle potyvirus
			Pea early browning tobavirus
			Pea mosaic potyvirus
			Pea seed-borne mosaic potyvirus
			Pea stem necrosis virus
			Pea streak carlavirus
			Peach enation nepovirus
			Peach rosette mosaic nepovirus
			Peanut clump furovirus
			Peanut mottle potyvirus
			Peanut stunt cucumovirus
			Pelargonium flower break carmovirus

			Pelargonium line pattern carmovirus
			Pelargonium vein clearing cytorhabdovirus
			Pelargonium zonate spot ourmiavirus
			Pepper Moroccan tobravirus
			Pepper ringspot tobravirus
			Pepper veinal mottle potyvirus
			Perilla mottle potyvirus
			Physalis mild chlorosis luteovirus
			Pittosporum vein yellowing nucleorhabdovirus
			Plum American line pattern ilarvirus
			Plum pox potyvirus
			Pokeweed mosaic potyvirus
			Potato 14R tobamovirus
			Potato Andean latent tymovirus
			Potato leafroll luteovirus
			Potato M carlavirus
			Potato T trichovirus
			Potato U nepovirus
			Potato X potexvirus
			Primula mosaic potyvirus
			Primula mottle potyvirus
			Prunus necrotic ringspot ilarvirus
			Quail pea mosaic comovirus
			Radish mosaic comovirus
			Red clover mottle comovirus
			Red clover necrotic mosaic dianthovirus
			Ribgrass mosaic tobamovirus
			Rose tobamovirus
			Saguaro cactus carmovirus
			Sieg River potexvirus
			Silene X potexvirus
			Solanum nodiflorum mottle sobemovirus
			Sonchus cytorhabdovirus
			Sowbane mosaic sobemovirus
			Soybean dwarf luteovirus
			Soybean mild mosaic virus
			Soybean spherical virus
			Soybean Z potyvirus
			Spinach latent ilarvirus
			Spring beauty latent bromovirus
			Statice Y potyvirus
			Strawberry latent ringspot nepovirus
			Strawberry mottle virus
			Subterranean clover red leaf luteovirus
			Sunflower ringspot ilarvirus
			Sunn-hemp mosaic tobamovirus
			Sweet clover necrotic mosaic dianthovirus
			Sweet potato mild mottle ipomovirus
			Sweet potato ringspot nepovirus
			Sweet potato yellow dwarf ipomovirus
			Tamus latent potexvirus
			Telfairia mosaic potyvirus
			Tobacco etch potyvirus
			Tobacco mosaic satellivirus
			Tobacco necrosis necrovirus
			Tobacco necrotic dwarf luteovirus
			Tobacco rattle tobravirus
			Tobacco ringspot nepovirus
			Tobacco streak ilarvirus
			Tobacco stunt varicosavirus
			Tomato black ring nepovirus

			Tomato bushy stunt tobravirus
			Tomato ringspot nepovirus
			Tomato spotted wilt tospovirus
			Tulip chlorotic blotch potyvirus
			Tulip halo necrosis virus
			Tulip X potexvirus
			Turnip crinkle carmovirus
			Turnip mosaic potyvirus
			Ullucus mild mottle tobamovirus
			Ullucus mosaic potyvirus
			Vallota mosaic potyvirus
			Viola mottle potexvirus
			Watermelon mosaic 2 potyvirus
			Wineberry latent virus
			Wisteria vein mosaic potyvirus
			Zucchini yellow mosaic potyvirus
		Gomphrena globosa var. rubra	Datura Colombian potyvirus
수선화과 (Amaryllidaceae)	열대 아열대	벨라도나수선속 (Amaryllis)	Amaryllis alphacryptovirus
		문주란속 (Crinum)	Crinum mosaic potyvirus
		Eucharis candida	Eucharis mottle nepovirus
		아마존 백합 (Eucharis grandiflora)	Amazon lily mosaic potyvirus
		Hippeastrum equestre	Hippeastrum mosaic potyvirus
		아마릴리스 (Hippeastrum hybridum)	Hippeastrum mosaic potyvirus
			Nerine latent carlavirus
			Tomato spotted wilt tospovirus
		수선화속(Narcissus)	Narcissus yellow stripe potyvirus
		황수선 (Narcissus jonquilla)	Strawberry latent ringspot nepovirus
		시인의 수선화 (Narcissus poeticus)	Narcissus tip necrosis carmovirus
		나팔수선화 (Narcissus pseudonarcissus)	Arabis mosaic nepovirus
			Narcissus late season yellows potyvirus
			Narcissus latent macluravirus
			Narcissus mosaic potexvirus
			Narcissus tip necrosis carmovirus
			Raspberry ringspot nepovirus
			Tobacco rattle tobnavirus
			Tomato black ring nepovirus
		수선화 (Narcissus tazetta)	Narcissus degeneration potyvirus
			Narcissus tip necrosis carmovirus
		네리네 보우데니 (Nerine bowdenii)	Narcissus mosaic potexvirus
	Nerine latent carlavirus		
	Nerine potyvirus		
Nerine sarniensis	Narcissus latent macluravirus		
	Nerine potyvirus		
	Nerine X potexvirus		
	Nerine Y potyvirus		
Vallota speciosa	Vallota mosaic potyvirus		
유카(Yucca)	Furcraea necrotic streak dianthovirus		
대왕유카 (Yucca elephantipes)	Yucca bacilliform badnavirus		
박주가리아과 (Asclepiadaceae)	열대 아열대	Araujia angustifolia	Araujia mosaic potyvirus
		Araujia hortorum	Araujia mosaic potyvirus
		Araujia sericofera	Araujia mosaic potyvirus
		금관화 (Asclepias curassavica)	Asclepias rhabdovirus
		Cynanchum acutum	Tomato yellow leaf curl bigeminivirus
		호야 카르노사 (Hoya carnosa)	Araujia mosaic potyvirus

		Matelea floridana	Araujia mosaic potyvirus
		Morrenia brachystephana	Araujia mosaic potyvirus
		Morrenia odorata	Araujia mosaic potyvirus
		Sarcostemma clausum	Araujia mosaic potyvirus
비짜루과 (Asparagaceae)	열대 아열대	아스파라거스 (Asparagus)	Asparagus 3 potyvirus
		아스파라거스 오피시날리스 (Asparagus officinalis)	Arabis mosaic nepovirus
			Asparagus 1 potyvirus
			Asparagus 2 ilarvirus
			Strawberry latent ringspot nepovirus
Tobacco streak ilarvirus			
꼬시고사리과 (Aspleniaceae)	온대 아열대 열대	골고사리 (Phyllitis scolopendrium)	Harts tongue fern tobnavirus
봉선화과 (Balsaminaceae)	온대 아열대 열대	서양 봉선화(Impatiens)	Impatiens necrotic spot tospovirus
		아프리카 봉선화 (Impatiens holstii)	Helenium S carlavirus
			Impatiens latent potyvirus
베고니아과 (Begoniaceae)	열대 아열대	엘라티오르 베고니아 (Begonia elatior)	Carnation mottle carmovirus
		동계성 베고니아 (Begonia x cheimantha)	Carnation mottle carmovirus
지치과 (Boraginaceae)	온대 아열대	왜지치 (Myosotis sylvatica)	Arabis mosaic nepovirus
			Carnation ringspot dianthovirus
			Cymbidium ringspot tobusvirus
			Tobacco rattle tobnavirus
			Tobacco ringspot nepovirus
			Tomato black ring nepovirus
회양목과 (Buxaceae)	온대 아열대	무늬회양목 (Buxus sempervirens)	Arabis mosaic nepovirus
삼과 (Cannabidaceae)	온대 아열대 열대	흰삼덩굴속(Humulus)	Apple mosaic ilarvirus
			Prunus necrotic ringspot ilarvirus
		흰삼덩굴 (Humulus japonicus)	Hop latent carlavirus
			Humulus japonicus ilarvirus
		흙(Humulus lupulus)	Arabis mosaic nepovirus
			Hop American latent carlavirus
			Hop latent carlavirus
			Hop mosaic carlavirus
			Humulus japonicus ilarvirus
			Petunia asteroid mosaic tobusvirus
Plum pox potyvirus			
파파야과 (Caricaceae)	열대	파파야(Carica papaya)	Croton yellow vein mosaic bigeminivirus
			Papaya mosaic potyvirus
			Papaya ringspot potyvirus
			Watermelon mosaic potyvirus
명아주과 (Chenopodiaceae)	온대 아열대 열대	창명아주 (Atriplex hastata)	Zygocactus Montana X potyvirus
		적색오크라 (Atriplex hortensis)	Amaranthus leaf mottle potyvirus
			Beet curly top hybridgeminivirus
			Beet mosaic potyvirus
			Beet yellows closterovirus
			Carnation mottle carmovirus
			Carnation vein mottle potyvirus
			Carrot thin leaf potyvirus
			Celery latent potyvirus
			Cherry leaf roll nepovirus
			Clover yellow vein potyvirus
			Cucumber mosaic cucumovirus
			Cymbidium ringspot tobusvirus
			Elm mottle ilarvirus
			Grapevine Bulgarian latent nepovirus
			Heracleum latent trichovirus
			Hop latent carlavirus
			Maclura mosaic macluravirus

			Narcissus mosaic potexvirus
			Onion mite-borne latent potexvirus
			Pelargonium flower break carmovirus
			Pelargonium line pattern carmovirus
			Potato mop-top furovirus
			Red clover necrotic mosaic dianthovirus
			Sowbane mosaic sobemovirus
			Strawberry latent ringspot nepovirus
			Sweet potato mild mottle ipomovirus
			Tobacco ringspot nepovirus
			Tomato black ring nepovirus
			Watermelon mosaic 2 potyvirus
			Wisteria vein mosaic potyvirus
		갯능장이 (Atriplex patula)	Beet leaf curl rhabdovirus
		Atriplex suberecta	Sowbane mosaic sobemovirus
		Beta macrocarpa	Beet curly top hybrigeminivirus
			Beet leaf curl rhabdovirus
			Beet mild yellowing luteovirus
			Beet mosaic potyvirus
			Beet necrotic yellow vein furovirus
			Beet pseudo-yellows closterovirus
			Beet soil-borne furovirus
			Beet western yellows luteovirus
			Cherry leaf roll nepovirus
			Lettuce infectious yellows closterovirus
			Lilac chlorotic leafspot capillovirus
			Nicotiana velutina mosaic furovirus
			Sowbane mosaic sobemovirus
			Spinach latent ilarvirus
			Tobacco streak ilarvirus
			Wineberry latent virus
		갯근대(Beta maritima)	Beet mosaic potyvirus
		Beta patellaris	Beet curly top hybrigeminivirus
			Beet mild yellowing luteovirus
			Beet mosaic potyvirus
			Beet necrotic yellow vein furovirus
			Beet western yellows luteovirus
			Dogwood mosaic nepovirus
			Helenium S carlavirus
			Lychnis ringspot hordeivirus
			Tobacco streak ilarvirus
		비트(Beta vulgaris)	Alfalfa mosaic alfamovirus
			Arabis mosaic nepovirus
			Arracacha A nepovirus
			Asparagus 2 ilarvirus
			Asparagus 3 potexvirus
			Barley stripe mosaic hordeivirus
			Beet 1 alphacryptovirus
			Beet 2 alphacryptovirus
			Beet 3 alphacryptovirus
			Beet curly top hybrigeminivirus
			Beet distortion mosaic virus
			Beet leaf curl rhabdovirus
			Beet mild yellowing luteovirus
			Beet mosaic potyvirus
			Beet necrotic yellow vein furovirus
			Beet pseudo-yellows closterovirus
			Beet soil-borne furovirus
			Beet western yellows luteovirus
			Beet yellow net luteovirus
			Beet yellow stunt closterovirus
			Beet yellows closterovirus

		Broad bean wilt fabavirus
		Butterbur mosaic carlavirus
		Cacao necrosis nepovirus
		Cacao yellow mosaic tymovirus
		Cactus X potexvirus
		Caraway latent nepovirus
		Carnation latent carlavirus
		Carnation mottle carmovirus
		Carnation vein mottle potyvirus
		Celery latent potyvirus
		Cherry leaf roll nepovirus
		Chickpea chlorotic dwarf monogeminivirus
		Chicory yellow blotch carlavirus
		Clover yellow mosaic potexvirus
		Clover yellow vein potyvirus
		Cowpea chlorotic mottle bromovirus
		Cowpea mild mottle carlavirus
		Croton yellow vein mosaic bigeminivirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Cucumber soil-borne carmovirus
		Cycas necrotic stunt nepovirus
		Cymbidium ringspot tobusvirus
		Dogwood mosaic nepovirus
		Elderberry carlavirus
		Elderberry latent carmovirus
		Elm mottle ilarvirus
		Epirus cherry ourmiavirus
		Foxtail mosaic potexvirus
		Grapevine Bulgarian latent nepovirus
		Grapevine fanleaf nepovirus
		Groundnut eyespot potyvirus
		Helenium S carlavirus
		Heracleum latent trichovirus
		Humulus japonicus ilarvirus
		Impatiens latent potexvirus
		Lettuce infectious yellows closterovirus
		Lettuce mosaic potyvirus
		Lettuce speckles mottle umbravirus
		Lilac chlorotic leafspot capillovirus
		Marigold mottle potyvirus
		Mulberry latent carlavirus
		Odontoglossum ringspot tobamovirus
		Parsnip leafcurl virus
		Parsnip yellow fleck sequivirus
		Pea seed-borne mosaic potyvirus
		Peanut clump furovirus
		Peanut stunt cucumovirus
		Pelargonium line pattern carmovirus
		Pepper ringspot tobavirus
		Physalis mild chlorosis luteovirus
		Potato 14R tobamovirus
		Potato black ringspot nepovirus
		Potato M carlavirus
		Potato mop-top furovirus
		Potato T trichovirus
		Potato U nepovirus
		Radish mosaic comovirus
		Raspberry ringspot nepovirus
		Red clover necrotic mosaic dianthovirus
		Ribgrass mosaic tobamovirus
		Rubus Chinese seed-borne nepovirus
		Sowbane mosaic sobemovirus
		Soybean dwarf luteovirus

		Spinach latent ilarvirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Subterranean clover red leaf luteovirus
		Sunn-hemp mosaic tobamovirus
		Sweet potato mild mottle ipomovirus
		Tobacco etch potyvirus
		Tobacco mosaic tobamovirus
		Tobacco necrosis necrovirus
		Tobacco rattle tobavirus
		Tobacco ringspot nepovirus
		Tobacco streak ilarvirus
		Tobacco stunt varicosavirus
		Tobacco yellow dwarf monogeminivirus
		Tomato black ring nepovirus
		Tulip halo necrosis virus
		Tulip X potexvirus
		Turnip mosaic potyvirus
		Viola mottle potexvirus
	근대 (Beta vulgaris ssp. cicla)	Beet 3 alphacryptovirus
		Beet yellow net luteovirus
		Helenium S carlavirus
		Tobacco ringspot nepovirus
	명아주과 (Chenopodiaceae)	Apple stem grooving capillovirus
		Potato mop-top furovirus
	명아주속 (Chenopodium)	Cassava Colombian symptomless potexvirus
		Sweet potato yellow dwarf ipomovirus
	흰명아주 (Chenopodium album)	Alfalfa mosaic alfamovirus
		Amaranthus leaf mottle potyvirus
		Arabis mosaic nepovirus
		Artichoke latent potyvirus
		Asparagus 1 potyvirus
		Barley stripe mosaic hordeivirus
		Bean yellow mosaic potyvirus
		Beet curly top hybrigeminivirus
		Beet leaf curl rhabdovirus
		Beet mosaic potyvirus
		Beet necrotic yellow vein furovirus
		Beet pseudo-yellows closterovirus
		Beet soil-borne furovirus
		Beet yellows closterovirus
		Blueberry leaf mottle nepovirus
		Broad bean mottle bromovirus
		Broad bean stain comovirus
		Canavalia maritima mosaic potyvirus
		Carnation yellow stripe necrovirus
		Cassava common mosaic potexvirus
		Cassia severe mosaic closterovirus
		Celery latent potyvirus
		Clover yellow mosaic potexvirus
		Clover yellow vein potyvirus
		Cowpea chlorotic mottle bromovirus
		Cowpea severe mosaic comovirus
		Crimson clover latent nepovirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Daphne Y potyvirus
		Eggplant mosaic tymovirus
		Elm mottle ilarvirus
		Foxtail mosaic potexvirus
		Galinsoga mosaic carmovirus
		Grapevine Bulgarian latent nepovirus
		Grapevine fanleaf nepovirus
		Guar symptomless potyvirus

			Helenium S carlavirus
			Helenium Y potyvirus
			Heracleum latent trichovirus
			Hop American latent carlavirus
			Hop latent carlavirus
			Hop mosaic carlavirus
			Humulus japonicus ilarvirus
			Impatiens latent potexvirus
			Kalanchoe latent carlavirus
			Lamium mild mottle fabavirus
			Leek yellow stripe potyvirus
			Lettuce mosaic potyvirus
			Lilac ring mottle ilarvirus
			Lucerne Australian latent nepovirus
			Lucerne transient streak sobemovirus
			Lychnis ringspot hordeivirus
			Maclura mosaic macluravirus
			Okra mosaic tymovirus
			Parietaria mottle ilarvirus
			Parsnip leafcurl virus
			Passiflora latent carlavirus
			Passiflora ringspot potyvirus
			Passionfruit Sri Lankan mottle potyvirus
			Passionfruit woodiness potyvirus
			Pea enation mosaic enamovirus
			Pea seed-borne mosaic potyvirus
			Peach enation nepovirus
			Pelargonium line pattern carmovirus
			Pepper ringspot tobnavirus
			Potato 14R tobnavirus
			Potato black ringspot nepovirus
			Potato M carlavirus
			Potato mop-top furovirus
			Potato S carlavirus
			Potato T trichovirus
			Potato U nepovirus
			Primula mosaic potyvirus
			Primula mottle potyvirus
			Prunus necrotic ringspot ilarvirus
			Radish mosaic comovirus
			Ribgrass mosaic tobnavirus
			Rubus Chinese seed-borne nepovirus
			Shallot latent carlavirus
			Sowbane mosaic sobemovirus
			Soybean mild mosaic virus
			Soybean mosaic potyvirus
			Spring beauty latent bromovirus
			Squash mosaic comovirus
			Strawberry latent ringspot nepovirus
			Swordbean distortion mosaic potyvirus
			Tobacco etch potyvirus
			Tobacco necrosis necrovirus
			Tobacco rattle tobnavirus
			Tobacco ringspot nepovirus
			Tobacco streak ilarvirus
			Tobacco stunt varicosavirus
			Tomato bushy stunt tombusvirus
			Tomato ringspot nepovirus
			Turnip crinkle carmovirus
			Viola mottle potexvirus
			Watermelon mosaic 2 potyvirus
			Wineberry latent virus
			Wisteria vein mosaic potyvirus

		Zygocactus Montana X potexvirus
	명아주 (Chenopodium amaranticolor)	Abelia latent tymovirus
		Ahlum waterborne carmovirus
		Alfalfa mosaic alfamovirus
		Alsike clover vein mosaic virus
		Alstroemeria ilarvirus
		Alstroemeria streak potyvirus
		Amaranthus leaf mottle potyvirus
		Amazon lily mosaic potyvirus
		Anthoxanthum latent blanching hordeivirus
		Anthriscus carlavirus
		Apple chlorotic leaf spot trichovirus
		Aquilegia potyvirus
		Arabis mosaic nepovirus
		Arracacha A nepovirus
		Arracacha B nepovirus
		Arracacha latent carlavirus
		Arracacha Y potyvirus
		Artichoke latent potyvirus
		Artichoke latent S carlavirus
		Artichoke mottled crinkle tomosvirus
		Artichoke vein banding nepovirus
		Asparagus 1 potyvirus
		Asparagus 2 ilarvirus
		Asparagus 3 potexvirus
		Aster chlorotic stunt carlavirus
		Asystasia gangetica mottle potyvirus
		Bamboo mosaic potexvirus
		Barley stripe mosaic hordeivirus
		Bean common mosaic potyvirus
		Bean rugose mosaic comovirus
		Bean yellow mosaic potyvirus
		Bean yellow vein banding umbravirus
		Beet curly top hybrigeminivirus
		Beet leaf curl rhabdovirus
		Beet mosaic potyvirus
		Beet necrotic yellow vein furovirus
		Beet pseudo-yellows closterovirus
		Beet soil-borne furovirus
		Beet yellows closterovirus
		Bidens mosaic potyvirus
		Bidens mottle potyvirus
		Black raspberry necrosis virus
		Blueberry leaf mottle nepovirus
		Broad bean B virus
		Broad bean mottle bromovirus
		Broad bean necrosis furovirus
		Broad bean severe chlorosis closterovirus
		Broad bean wilt fabavirus
		Brome mosaic bromovirus
		Burdock mottle virus
		Burdock yellow mosaic potexvirus
		Butterbur mosaic carlavirus
		Cacao necrosis nepovirus
		Cacao yellow mosaic tymovirus
		Cactus X potexvirus
		Canavalia maritima mosaic potyvirus
		Caper latent carlavirus
	Caraway latent nepovirus	
	Carnation latent carlavirus	
	Carnation mottle carmovirus	
	Carnation ringspot dianthovirus	
	Carnation vein mottle potyvirus	

			Carnation yellow stripe necrovirus
			Carrot mosaic potyvirus
			Carrot mottle umbravirus
			Carrot thin leaf potyvirus
			Cassava brown streak-associated carlavirus
			Cassava common mosaic potexvirus
			Cassava green mottle nepovirus
			Cassava Ivorian bacilliform ourmiavirus
			Cassia mild mosaic carlavirus
			Cassia severe mosaic closterovirus
			Cassia yellow blotch bromovirus
			Cassia yellow spot potyvirus
			Celery latent potyvirus
			Celery mosaic potyvirus
			Celery yellow mosaic potyvirus
			Cherry leaf roll nepovirus
			Cherry mottle leaf trichovirus
			Cherry rasp leaf nepovirus
			Chickpea bushy dwarf potyvirus
			Chickpea filiform potyvirus
			Chicory X potexvirus
			Chicory yellow mottle nepovirus
			Citrus ringspot virus
			Clitoria mosaic potexvirus
			Clover yellow mosaic potexvirus
			Clover yellow vein potyvirus
			Coffee ringspot nucleorhabdovirus
			Cole latent carlavirus
			Cowpea chlorotic mottle bromovirus
			Cowpea green vein-banding potyvirus
			Cowpea mild mottle carlavirus
			Cowpea mosaic comovirus
			Cowpea mottle carmovirus
			Cowpea rugose mosaic potyvirus
			Cowpea severe mosaic comovirus
			Crimson clover latent nepovirus
			Croton vein yellowing nucleorhabdovirus
			Croton yellow vein mosaic bigeminivirus
			Cucumber green mottle mosaic tobamovirus
			Cucumber leaf spot carmovirus
			Cucumber mosaic cucumovirus
			Cucumber necrosis tobusvirus
			Cucumber soil-borne carmovirus
			Cycas necrotic stunt nepovirus
			Cymbidium mosaic potexvirus
			Cymbidium ringspot tobusvirus
			Dandelion latent carlavirus
			Dandelion yellow mosaic sequivirus
			Daphne Y potyvirus
			Dasheen mosaic potyvirus
			Dioscorea green banding mosaic potyvirus
			Dogwood mosaic nepovirus
			Eggplant mild mottle carlavirus
			Eggplant mosaic tymovirus
			Eggplant mottled crinkle tobusvirus
			Eggplant mottled dwarf nucleorhabdovirus
			Elderberry carlavirus
			Elderberry latent carmovirus
			Elm mottle ilarvirus
			Epirus cherry ourmiavirus
			Eucharis mottle nepovirus

			Foxtail mosaic potexvirus
			Fragaria chiloensis ilarvirus
			Freesia leaf necrosis varicosavirus
			Galinsoga mosaic carmovirus
			Garlic common latent carlavirus
			Glycine mosaic comovirus
			Grapevine Algerian latent tombusvirus
			Grapevine Bulgarian latent nepovirus
			Grapevine chrome mosaic nepovirus
			Grapevine fanleaf nepovirus
			Groundnut chlorotic spot potexvirus
			Groundnut rosette umbravirus
			Guar symptomless potyvirus
			Habenaria mosaic potyvirus
			Helenium S carlavirus
			Helenium Y potyvirus
			Henbane mosaic potyvirus
			Heracleum latent trichovirus
			Hibiscus latent ringspot nepovirus
			Hibiscus yellow mosaic tobamovirus
			Honeysuckle latent carlavirus
			Hop American latent carlavirus
			Hop mosaic carlavirus
			Humulus japonicus ilarvirus
			Hydrangea mosaic ilarvirus
			Hydrangea ringspot potexvirus
			Hypochoeris mosaic furovirus
			Impatiens latent potexvirus
			Iris mild mosaic potyvirus
			Kalanchoe isometric virus
			Kalanchoe latent carlavirus
			Kalanchoe mosaic potyvirus
			Lamium mild mottle fabavirus
			Leek yellow stripe potyvirus
			Lettuce big-vein varicosavirus
			Lettuce mosaic potyvirus
			Lilac chlorotic leafspot capillovirus
			Lilac mottle carlavirus
			Lilac ring mottle ilarvirus
			Lisianthus necrosis necrovirus
			Lucerne Australian latent nepovirus
			Lucerne Australian symptomless nepovirus
			Lucerne transient streak sobemovirus
			Lychnis ringspot hordeivirus
			Maclura mosaic macluravirus
			Malva veinal necrosis potexvirus
			Malvastrum mottle virus
			Maracuja mosaic tobamovirus
			Marigold mottle potyvirus
			Melandrium yellow fleck bromovirus
			Melilotus mosaic potyvirus
			Melon Ourmia ourmiavirus
			Melothria mottle potyvirus
			Mulberry latent carlavirus
			Mung bean mottle potyvirus
			Muskmelon vein necrosis carlavirus
			Nandina mosaic potexvirus
			Narcissus mosaic potexvirus
			Narcissus tip necrosis carmovirus
			Nerine latent carlavirus
			Nerine potyvirus
			Nerine X potexvirus
			Nicotiana velutina mosaic furovirus

			Oat golden stripe furovirus
			Odontoglossum ringspot tobamovirus
			Okra mosaic tymovirus
			Olive latent ringspot nepovirus
			Olive latent 1 sobemovirus
			Onion mite-borne latent potexvirus
			Opuntia Sammons' tobamovirus
			Orchid fleck rhabdovirus
			Papaya mosaic potexvirus
			Papaya ringspot potyvirus
			Parietaria mottle ilarvirus
			Parsley green mottle potyvirus
			Parsnip leafcurl virus
			Parsnip mosaic potyvirus
			Parsnip yellow fleck sequivirus
			Passiflora ringspot potyvirus
			Passionfruit Sri Lankan mottle potyvirus
			Passionfruit woodiness potyvirus
			Patchouli mosaic potyvirus
			Patchouli mottle potyvirus
			Pea early browning tobravirus
			Pea enation mosaic enamovirus
			Pea mosaic potyvirus
			Pea seed-borne mosaic potyvirus
			Pea stem necrosis virus
			Pea streak carlavirus
			Peach enation nepovirus
			Peach rosette mosaic nepovirus
			Peanut clump furovirus
			Peanut green mosaic potyvirus
			Peanut mottle potyvirus
			Peanut stunt cucumovirus
			Peanut top paralysis potyvirus
			Peanut yellow spot tospovirus
			Pelargonium flower break carmovirus
			Pelargonium leaf curl tombusvirus
			Pelargonium line pattern carmovirus
			Pelargonium zonate spot ourmiavirus
			Pepper Indian mottle potyvirus
			Pepper mild mottle tobamovirus
			Pepper Moroccan tombusvirus
			Pepper mottle potyvirus
			Pepper ringspot tobravirus
			Pepper severe mosaic potyvirus
			Pepper veinal mottle potyvirus
			Perilla mottle potyvirus
			Pittosporum vein yellowing nucleorhabdovirus
			Plantain X potexvirus
			Potato 14R tobamovirus
			Potato Andean latent tymovirus
			Potato black ringspot nepovirus
			Potato M carlavirus
			Potato mop-top furovirus
			Potato S carlavirus
			Potato T trichovirus
			Potato U nepovirus
			Potato Y potyvirus
			Primula mosaic potyvirus
			Primula mottle potyvirus
			Radish mosaic comovirus
			Raspberry bushy dwarf idaeovirus
			Raspberry ringspot nepovirus

			Red clover mottle comovirus
			Red clover necrotic mosaic dianthovirus
			Red clover vein mosaic carlavirus
			Ribgrass mosaic tobamovirus
			Rice stripe necrosis furovirus
			Rose tobamovirus
			Rubus Chinese seed-borne nepovirus
			Saguaro cactus carmovirus
			Shallot latent carlavirus
			Sieg River potexvirus
			Silene X potexvirus
			Sitke waterborne tombusvirus
			Sorghum chlorotic spot furovirus
			Sowbane mosaic sobemovirus
			Soybean mild mosaic virus
			Soybean spherical virus
			Soybean yellow vein virus
			Spinach latent ilarvirus
			Spring beauty latent bromovirus
			Statice Y potyvirus
			Strawberry latent ringspot nepovirus
			Strawberry mottle virus
			Sunflower ringspot ilarvirus
			Sweet clover necrotic mosaic dianthovirus
			Sweet potato feathery mottle potyvirus
			Sweet potato latent potyvirus
			Sweet potato ringspot nepovirus
			Tamus latent potexvirus
			Telfairia mosaic potyvirus
			Tobacco etch potyvirus
			Tobacco mild green mosaic tobamovirus
			Tobacco mosaic satellivirus
			Tobacco mosaic tobamovirus
			Tobacco necrosis necrovirus
			Tobacco rattle tobavirus
			Tobacco ringspot nepovirus
			Tobacco streak ilarvirus
			Tobacco stunt varicosavirus
			Tomato aspermy cucumovirus
			Tomato black ring nepovirus
			Tomato bushy stunt tombusvirus
			Tomato mosaic tobamovirus
			Tomato Peru potyvirus
			Tomato ringspot nepovirus
			Tulip chlorotic blotch potyvirus
			Tulip halo necrosis virus
			Tulip X potexvirus
			Turnip crinkle carmovirus
			Turnip mosaic potyvirus
			Ullucus C comovirus
			Ullucus mild mottle tobamovirus
			Ullucus mosaic potyvirus
			Vallota mosaic potyvirus
			Vanilla necrosis potyvirus
			Viola mottle potexvirus
			Voandzeia necrotic mosaic tymovirus
			Watercress yellow spot virus
			Watermelon mosaic 1 potyvirus
			Watermelon mosaic 2 potyvirus
			Weddel waterborne carmovirus
			Welsh onion yellow stripe potyvirus
			Wheat soil-borne mosaic furovirus
			Wineberry latent virus

		Wisteria vein mosaic potyvirus
		Zucchini yellow mosaic potyvirus
	양명아주 (Chenopodium ambrosioides)	Artichoke latent potyvirus
		Artichoke vein banding nepovirus
		Beet yellows closterovirus
		Carnation yellow stripe necrovirus
		Carrot thin leaf potyvirus
		Dasheen mosaic potyvirus
		Foxtail mosaic potexvirus
		Grapevine Bulgarian latent nepovirus
		Grapevine fanleaf nepovirus
		Maclura mosaic macluravirus
		Marigold mottle potyvirus
		Okra mosaic tymovirus
		Parsnip mosaic potyvirus
		Parsnip yellow fleck sequivirus
		Plum pox potyvirus
		Potato 14R tobamovirus
		Potato T trichovirus
		Primula mosaic potyvirus
		Statice Y potyvirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Wineberry latent virus
	Chenopodium berthaultii	Potato U nepovirus
	Chenopodium botrys	Dogwood mosaic nepovirus
	시금치딸기 (Chenopodium capitatum)	Alstroemeria mosaic potyvirus
		Asparagus 1 potyvirus
		Beet curly top hybrigeminivirus
		Beet leaf curl rhabdovirus
		Beet mosaic potyvirus
		Beet pseudo-yellow closterovirus
		Beet soil-borne furovirus
		Beet western yellows luteovirus
		Beet yellows closterovirus
		Blueberry leaf mottle nepovirus
		Broad bean stain comovirus
		Carrot mottle umbravirus
		Commelina X potexvirus
		Cowpea severe mosaic comovirus
		Cucumber leaf spot carmovirus
		Dahlia mosaic caulimovirus
		Foxtail mosaic potexvirus
		Grapevine Bulgarian latent nepovirus
		Grapevine fanleaf nepovirus
		Heracleum latent trichovirus
		Kalanchoe latent carlavirus
		Lettuce infectious yellows closterovirus
		Lettuce mosaic potyvirus
		Lettuce speckles mottle umbravirus
		Lilac chlorotic leafspot capillovirus
		Lily X potexvirus
		Lychnis ringspot hordeivirus
		Narcissus tip necrosis carmovirus
		Nerine latent carlavirus
		Nerine potyvirus
		Nerine X potexvirus
		Parsnip leafcurl virus
		Parsnip mosaic potyvirus
		Parsnip yellow fleck sequivirus
		Pea seed-borne mosaic potyvirus
		Pelargonium flower break carmovirus
		Pelargonium line pattern carmovirus
		Plum pox potyvirus

		Potato 14R tobamovirus
		Potato black ringspot nepovirus
		Potato U nepovirus
		Red clover necrotic mosaic dianthovirus
		Saguaro cactus carmovirus
		Sieg River potexvirus
		Sowbane mosaic sobemovirus
		Statice Y potyvirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Sweet potato ringspot nepovirus
		Telfairia mosaic potyvirus
		Tobacco streak ilarvirus
		Tomato ringspot nepovirus
		Ullucus mild mottle tobamovirus
	좁명아주 (Chenopodium ficifolium)	Potato U nepovirus
	Chenopodium foetidum	Arabis mosaic nepovirus
		Arracacha B nepovirus
		Beet soil-borne furovirus
		Blueberry leaf mottle nepovirus
		Cactus X potexvirus
		Cassia severe mosaic closterovirus
		Celery latent potyvirus
		Cherry leaf roll nepovirus
		Cowpea mild mottle carlavirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Dogwood mosaic nepovirus
		Elm mottle ilarvirus
		Foxtail mosaic potexvirus
		Grapevine chrome mosaic nepovirus
		Grapevine fanleaf nepovirus
		Heracleum latent trichovirus
		Hop American latent carlavirus
		Hop mosaic carlavirus
		Humulus japonicus ilarvirus
		Leek yellow stripe potyvirus
		Lilac ring mottle ilarvirus
		Lucerne Australian latent nepovirus
		Maclura mosaic macluravirus
		Okra mosaic tymovirus
		Parsnip leafcurl virus
		Parsnip mosaic potyvirus
		Passionfruit Sri Lankan mottle potyvirus
		Pea seed-borne mosaic potyvirus
		Peanut stunt cucumovirus
		Pepper Moroccan tombusvirus
		Pepper veinal mottle potyvirus
		Physalis mosaic tymovirus
		Plum pox potyvirus
		Poplar mosaic carlavirus
		Potato black ringspot nepovirus
		Potato T trichovirus
		Primula mosaic potyvirus
		Radish mosaic comovirus
		Rubus Chinese seed-borne nepovirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Tobacco etch potyvirus
		Tobacco rattle tobnavirus
		Tobacco streak ilarvirus
		Tomato black ring nepovirus
		Tomato ringspot nepovirus
		Watermelon mosaic 2 potyvirus
		Wineberry latent virus

	버들명아주 (Chenopodium foliosum)	Arracacha A nepovirus
		Beet leaf curl rhabdovirus
		Beet soil-borne furovirus
		Beet yellows closterovirus
		Carrot thin leaf potyvirus
		Grapevine fanleaf nepovirus
		Heracleum latent trichovirus
		Humulus japonicus ilarvirus
		Lamium mild mottle fabavirus
		Maclura mosaic macluravirus
		Parsnip leafcurl virus
		Plum pox potyvirus
		Potato 14R tobamovirus
		Potato black ringspot nepovirus
		Potato mop-top furovirus
		Potato T trichovirus
		Potato U nepovirus
		Radish mosaic comovirus
		Rubus Chinese seed-borne nepovirus
		Sieg River potexvirus
	Statice Y potyvirus	
	Strawberry latent ringspot nepovirus	
	Watermelon mosaic 2 potyvirus	
	Chenopodium giganteum	Chicory yellow blotch carlavirus
		Zygocactus Montana X potexvirus
	취명아주 (Chenopodium glaucum)	Potato U nepovirus
	얇은명아주 (Chenopodium hybridum)	Beet yellows closterovirus
		Broad bean mottle bromovirus
		Broad bean wilt fabavirus
		Brome mosaic bromovirus
		Cowpea chlorotic mottle bromovirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Eggplant mosaic tymovirus
		Foxtail mosaic potexvirus
		Grapevine Bulgarian latent nepovirus
		Grapevine fanleaf nepovirus
		Hop latent carlavirus
		Melandrium yellow fleck bromovirus
		Okra mosaic tymovirus
		Ribgrass mosaic tobamovirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Tobacco mosaic tobamovirus
Tobacco streak ilarvirus		
Tomato ringspot nepovirus		
Watermelon mosaic 2 potyvirus		
얇은잎명아주 (Chenopodium murale)	Abelia latent tymovirus	
	Alfalfa mosaic alfamovirus	
	Alstroemeria ilarvirus	
	Alstroemeria mosaic potyvirus	
	Amaranthus leaf mottle potyvirus	
	Apple mosaic ilarvirus	
	Apple stem pitting virus	
	Arabis mosaic nepovirus	
	Arracacha A nepovirus	
	Arracacha B nepovirus	
	Arracacha Y potyvirus	
	Artichoke latent potyvirus	
	Artichoke vein banding nepovirus	
	Asparagus 2 ilarvirus	
	Asparagus 3 potexvirus	
	Beet curly top hybrigeminivirus	
	Beet leaf curl rhabdovirus	

			Beet mosaic potyvirus
			Beet necrotic yellow vein furovirus
			Beet pseudo-yellows closterovirus
			Beet soil-borne furovirus
			Black raspberry necrosis virus
			Blueberry leaf mottle nepovirus
			Bramble yellow mosaic potyvirus
			Broad bean stain comovirus
			Burdock mottle virus
			Burdock yellow mosaic potexvirus
			Cactus X potexvirus
			Carnation vein mottle potyvirus
			Carrot thin leaf potyvirus
			Cassava common mosaic potexvirus
			Cassava green mottle nepovirus
			Cassava Ivorian bacilliform ourmiavirus
			Cassia mild mosaic carlavirus
			Cassia severe mosaic closterovirus
			Cherry leaf roll nepovirus
			Chickpea bushy dwarf potyvirus
			Commelina X potexvirus
			Cowpea mild mottle carlavirus
			Cowpea rugose mosaic potyvirus
			Cucumber green mottle mosaic tobamovirus
			Cucumber leaf spot carmovirus
			Cucumber mosaic cucumovirus
			Cycas necrotic stunt nepovirus
			Cymbidium ringspot tombusvirus
			Dandelion yellow mosaic sequivirus
			Dogwood mosaic nepovirus
			Elm mottle ilarvirus
			Foxtail mosaic potexvirus
			Garlic common latent carlavirus
			Grapevine Bulgarian latent nepovirus
			Grapevine fanleaf nepovirus
			Groundnut rosette umbravirus
			Guar symptomless potyvirus
			Heracleum latent trichovirus
			Hibiscus latent ringspot nepovirus
			Honeysuckle latent carlavirus
			Hop American latent carlavirus
			Hop latent carlavirus
			Hop mosaic carlavirus
			Humulus japonicus ilarvirus
			Hypochoeris mosaic furovirus
			Kalanchoe latent carlavirus
			Leek yellow stripe potyvirus
			Lettuce infectious yellows closterovirus
			Lettuce mosaic potyvirus
			Lettuce speckles mottle umbravirus
			Lilac chlorotic leafspot capillovirus
			Lily X potexvirus
			Lucerne Australian symptomless nepovirus
			Lychnis ringspot hordeivirus
			Maclura mosaic macluravirus
			Maracuja mosaic tobamovirus
			Melandrium yellow fleck bromovirus
			Melothria mottle potyvirus
			Mulberry ringspot nepovirus
			Narcissus tip necrosis carmovirus
			Nerine latent carlavirus
			Nerine potyvirus

		Nerine X potexvirus
		Onion mite-borne latent potexvirus
		Opuntia Sammons' tobamovirus
		Parietaria mottle ilarvirus
		Parsnip leafcurl virus
		Parsnip mosaic potyvirus
		Parsnip yellow fleck sequivirus
		Passionfruit Sri Lankan mottle potyvirus
		Patchouli mosaic potyvirus
		Pea early browning tobravirus
		Pea seed-borne mosaic potyvirus
		Peanut stunt cucumovirus
		Pelargonium flower break carmovirus
		Pelargonium line pattern carmovirus
		Pepper Moroccan tombusvirus
		Pepper ringspot tobravirus
		Plum American line pattern ilarvirus
		Plum pox potyvirus
		Poplar mosaic carlavirus
		Potato 14R tobamovirus
		Potato black ringspot nepovirus
		Potato T trichovirus
		Potato U nepovirus
		Primula mosaic potyvirus
		Radish mosaic comovirus
		Raspberry bushy dwarf idaeovirus
		Red clover necrotic mosaic dianthovirus
		Ribgrass mosaic tobamovirus
		Rose tobamovirus
		Rubus Chinese seed-borne nepovirus
		Sieg River potexvirus
		Sowbane mosaic sobemovirus
		Statice Y potyvirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Strawberry mild yellow edge-associated potexvirus
		Sweet potato latent potyvirus
		Sweet potato mild mottle ipomovirus
		Sweet potato ringspot nepovirus
		Tamus latent potexvirus
		Telfairia mosaic potyvirus
		Tobacco streak ilarvirus
		Tomato bushy stunt tombusvirus
		Tomato mosaic tobamovirus
		Tomato ringspot nepovirus
		Tomato top necrosis nepovirus
		Tomato vein clearing nucleorhabdovirus
		Turnip crinkle carmovirus
		Turnip mosaic potyvirus
		Ullucus C comovirus
		Ullucus mild mottle tobamovirus
		Ullucus mosaic potyvirus
		Viola mottle potexvirus
		Watermelon mosaic 2 potyvirus
		Wineberry latent virus
		Wisteria vein mosaic potyvirus
	Chenopodium polyspermum	Zygocactus Montana X potexvirus
	퀴노아 (Chenopodium quinoa)	Abelia latent tymovirus
		Ahlu waterborne carmovirus
		Alfalfa mosaic alfamovirus
		Alsike clover vein mosaic virus
		Alstroemeria ilarvirus

		Alstroemeria mosaic potyvirus
		Amaranthus leaf mottle potyvirus
		Amazon lily mosaic potyvirus
		Anthoxanthum latent blanching hordeivirus
		Anthriscus carlavirus
		Apple chlorotic leaf spot trichovirus
		Apple mosaic ilarvirus
		Apple stem grooving capillovirus
		Apple stem pitting virus
		Aquilegia potyvirus
		Arabis mosaic nepovirus
		Arracacha A nepovirus
		Arracacha B nepovirus
		Arracacha latent carlavirus
		Arracacha Y potyvirus
		Artichoke Italian latent nepovirus
		Artichoke latent potyvirus
		Artichoke latent S carlavirus
		Artichoke mottled crinkle tombusvirus
		Artichoke vein banding nepovirus
		Artichoke yellow ringspot nepovirus
		Asparagus 1 potyvirus
		Asparagus 2 ilarvirus
		Asparagus 3 potexvirus
		Aster chlorotic stunt carlavirus
		Barley stripe mosaic hordeivirus
		Barley yellow streak mosaic virus
		Bean common mosaic potyvirus
		Bean pod mottle comovirus
		Bean yellow mosaic potyvirus
		Bean yellow vein banding umbravirus
		Beet leaf curl rhabdovirus
		Beet mosaic potyvirus
		Beet necrotic yellow vein furovirus
		Beet soil-borne furovirus
		Beet yellows closterovirus
		Belladonna mottle tymovirus
		Bidens mosaic potyvirus
		Bidens mottle potyvirus
		Black raspberry necrosis virus
		Blueberry leaf mottle nepovirus
		Blueberry scorch carlavirus
		Bramble yellow mosaic potyvirus
		Broad bean B virus
		Broad bean mottle bromovirus
		Broad bean necrosis furovirus
		Broad bean severe chlorosis closterovirus
		Broad bean stain comovirus
		Broad bean wilt fabavirus
		Brome mosaic bromovirus
		Burdock mottle virus
		Burdock yellow mosaic potexvirus
		Butterbur mosaic carlavirus
		Cacao necrosis nepovirus
		Cacao yellow mosaic tymovirus
		Cactus 2 carlavirus
		Cactus X potexvirus
		Canavalia maritima mosaic potyvirus
		Caper latent carlavirus
		Caraway latent nepovirus
		Cardamine latent carlavirus
		Carnation latent carlavirus
		Carnation mottle carmovirus

			Carnation ringspot dianthovirus
			Carnation vein mottle potyvirus
			Carnation yellow stripe necrovirus
			Carrot mosaic potyvirus
			Carrot mottle umbravirus
			Carrot thin leaf potyvirus
			Cassava brown streak-associated carlavirus
			Cassava Caribbean mosaic potexvirus
			Cassava common mosaic potexvirus
			Cassava green mottle nepovirus
			Cassava Ivorian bacilliform ourmiavirus
			Cassia mild mosaic carlavirus
			Cassia severe mosaic closterovirus
			Cassia yellow blotch bromovirus
			Celery latent potyvirus
			Celery mosaic potyvirus
			Celery yellow mosaic potyvirus
			Cherry leaf roll nepovirus
			Cherry mottle leaf trichovirus
			Cherry rasp leaf nepovirus
			Chickpea bushy dwarf potyvirus
			Chickpea filiform potyvirus
			Chicory X potexvirus
			Chicory yellow blotch carlavirus
			Chicory yellow mottle nepovirus
			Citrus ringspot virus
			Citrus tatter leaf capillovirus
			Clover yellow mosaic potexvirus
			Clover yellow vein potyvirus
			Coffee ringspot nucleorhabdovirus
			Cole latent carlavirus
			Commelina X potexvirus
			Cowpea chlorotic mottle bromovirus
			Cowpea green vein-banding potyvirus
			Cowpea mild mottle carlavirus
			Cowpea mosaic comovirus
			Cowpea mottle carmovirus
			Cowpea rugose mosaic potyvirus
			Cowpea severe mosaic comovirus
			Crimson clover latent nepovirus
			Cucumber leaf spot carmovirus
			Cucumber mosaic cucumovirus
			Cucumber necrosis tobusvirus
			Cucumber soil-borne carmovirus
			Cycas necrotic stunt nepovirus
			Cymbidium ringspot tobusvirus
			Dandelion latent carlavirus
			Dandelion yellow mosaic sequivirus
			Daphne X potexvirus
			Daphne Y potyvirus
			Dasheen mosaic potyvirus
			Dioscorea green banding mosaic potyvirus
			Dogwood mosaic nepovirus
			Eggplant mosaic tymovirus
			Eggplant mottled crinkle tobusvirus
			Eggplant mottled dwarf nucleorhabdovirus
			Elderberry carlavirus
			Elderberry latent carmovirus
			Elm mottle ilarvirus
			Endive necrotic mosaic (potyvirus)
			Epirus cherry ourmiavirus
			Euphorbia ringspot potyvirus

			Foxtail mosaic potexvirus
			Fragaria chiloensis ilarvirus
			Frangipani mosaic tobamovirus
			Freesia leaf necrosis varicosavirus
			Galinsoga mosaic carmovirus
			Garlic common latent carlavirus
			Glycine mosaic comovirus
			Grapevine Algerian latent tombusvirus
			Grapevine Bulgarian latent nepovirus
			Grapevine chrome mosaic nepovirus
			Grapevine fanleaf nepovirus
			Groundnut rosette umbravirus
			Guar symptomless potyvirus
			Habenaria mosaic potyvirus
			Helenium S carlavirus
			Helenium Y potyvirus
			Henbane mosaic potyvirus
			Heracleum latent trichovirus
			Hibiscus chlorotic ringspot carmovirus
			Hibiscus latent ringspot nepovirus
			Hippeastrum mosaic potyvirus
			Honeysuckle latent carlavirus
			Hop American latent carlavirus
			Hop latent carlavirus
			Hop mosaic carlavirus
			Humulus japonicus ilarvirus
			Hydrangea mosaic ilarvirus
			Hydrangea ringspot potexvirus
			Hypochoeris mosaic furovirus
			Impatiens latent potexvirus
			Iris fulva mosaic potyvirus
			Iris mild mosaic potyvirus
			Kalanchoe isometric virus
			Kalanchoe latent carlavirus
			Kalanchoe mosaic potyvirus
			Lamium mild mottle fabavirus
			Lato River tombusvirus
			Leek yellow stripe potyvirus
			Lettuce big-vein varicosavirus
			Lettuce infectious yellows closterovirus
			Lettuce mosaic potyvirus
			Lettuce speckles mottle umbravirus
			Lilac chlorotic leafspot capillovirus
			Lilac mottle carlavirus
			Lilac ring mottle ilarvirus
			Lily X potexvirus
			Lisianthus necrosis necrovirus
			Lucerne Australian latent nepovirus
			Lucerne Australian symptomless nepovirus
			Lucerne transient streak sobemovirus
			Maclura mosaic macluravirus
			Malva veinal necrosis potexvirus
			Malvastrum mottle virus
			Maracuja mosaic tobamovirus
			Melandrium yellow fleck bromovirus
			Melon Ourmia ourmiavirus
			Melothria mottle potyvirus
			Mulberry latent carlavirus
			Mulberry ringspot nepovirus
			Mung bean mottle potyvirus
			Muskmelon vein necrosis carlavirus
			Myrobalan latent ringspot nepovirus
			Nandina mosaic potexvirus

			Narcissus mosaic potexvirus
			Narcissus tip necrosis carmovirus
			Neckar River tombusvirus
			Nerine latent carlavirus
			Nerine potyvirus
			Nerine X potexvirus
			Nicotiana velutina mosaic furovirus
			Odontoglossum ringspot tobamovirus
			Okra mosaic tymovirus
			Olive latent ringspot nepovirus
			Olive latent 1 sobemovirus
			Olive latent 2 ourmiavirus
			Opuntia Sammons' tobamovirus
			Orchid fleck rhabdovirus
			Ornithogalum mosaic potyvirus
			Papaya ringspot potyvirus
			Parietaria mottle ilarvirus
			Parsley green mottle potyvirus
			Parsnip leafcurl virus
			Parsnip mosaic potyvirus
			Parsnip yellow fleck sequivirus
			Passiflora latent carlavirus
			Passionfruit Sri Lankan mottle potyvirus
			Patchouli mosaic potyvirus
			Patchouli mottle potyvirus
			Pea early browning tobavirus
			Pea enation mosaic enamovirus
			Pea mosaic potyvirus
			Pea seed-borne mosaic potyvirus
			Pea streak carlavirus
			Peach enation nepovirus
			Peach rosette mosaic nepovirus
			Peanut clump furovirus
			Peanut green mosaic potyvirus
			Peanut stunt cucumovirus
			Peanut yellow spot tospovirus
			Pelargonium flower break carmovirus
			Pelargonium line pattern carmovirus
			Pelargonium zonate spot ourmiavirus
			Pepper mild mottle tobamovirus
			Pepper Moroccan tombusvirus
			Pepper ringspot tobavirus
			Pepper severe mosaic potyvirus
			Pepper veinal mottle potyvirus
			Perilla mottle potyvirus
			Physalis mosaic tymovirus
			Pittosporum vein yellowing nucleorhabdovirus
			Plum American line pattern ilarvirus
			Plum pox potyvirus
			Pokeweed mosaic potyvirus
			Poplar decline potyvirus
			Poplar mosaic carlavirus
			Potato 14R tobamovirus
			Potato Andean latent tymovirus
			Potato black ringspot nepovirus
			Potato M carlavirus
			Potato mop-top furovirus
			Potato S carlavirus
			Potato T trichovirus
			Potato U nepovirus
			Potato Y potyvirus
			Primula mosaic potyvirus

		Prunus necrotic ringspot ilarvirus
		Quail pea mosaic comovirus
		Radish mosaic comovirus
		Raspberry bushy dwarf idaeovirus
		Raspberry ringspot nepovirus
		Red clover mottle comovirus
		Red clover necrotic mosaic dianthovirus
		Red clover vein mosaic carlavirus
		Ribgrass mosaic tobamovirus
		Rose tobamovirus
		Rubus Chinese seed-borne nepovirus
		Saguaro cactus carmovirus
		Satsuma dwarf nepovirus
		Scrophularia mottle tymovirus
		Shallot latent carlavirus
		Sieg River potexvirus
		Silene X potexvirus
		Sitke waterborne tobusvirus
		Solanum nodiflorum mottle sobemovirus
		Sonchus cytorhabdovirus
		Sonchus yellow net nucleorhabdovirus
		Sorghum chlorotic spot furovirus
		Sowbane mosaic sobemovirus
		Soybean mild mosaic virus
		Soybean mosaic potyvirus
		Soybean spherical virus
		Soybean yellow vein virus
		Spinach latent ilarvirus
		Spring beauty latent bromovirus
		Squash mosaic comovirus
		Statice Y potyvirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Strawberry mild yellow edge-associated potexvirus
		Strawberry mottle virus
		Sunflower ringspot ilarvirus
		Sweet clover necrotic mosaic dianthovirus
		Sweet potato latent potyvirus
		Sweet potato mild mottle ipomovirus
		Sweet potato ringspot nepovirus
		Tamus latent potexvirus
		Telfairia mosaic potyvirus
		Tobacco etch potyvirus
		Tobacco mild green mosaic tobamovirus
		Tobacco mosaic satellivirus
		Tobacco mosaic tobamovirus
		Tobacco necrosis necrovirus
		Tobacco rattle tobravirus
		Tobacco ringspot nepovirus
		Tobacco streak ilarvirus
		Tobacco stunt varicosavirus
		Tomato aspermy cucumovirus
		Tomato black ring nepovirus
		Tomato bushy stunt tobusvirus
		Tomato mosaic tobamovirus
		Tomato Peru potyvirus
		Tomato ringspot nepovirus
		Tomato top necrosis nepovirus
		Tulip chlorotic blotch potyvirus
		Tulip halo necrosis virus
		Tulip X potexvirus
		Turnip crinkle carmovirus
		Turnip mosaic potyvirus

		Ullucus C comovirus
		Ullucus mild mottle tobamovirus
		Ullucus mosaic potyvirus
		Vallota mosaic potyvirus
		Vanilla necrosis potyvirus
		Viola mottle potexvirus
		Watercress yellow spot virus
		Watermelon mosaic 1 potyvirus
		Watermelon mosaic 2 potyvirus
		Weddel waterborne carmovirus
		Welsh onion yellow stripe potyvirus
		Wheat soil-borne mosaic furovirus
		Wineberry latent virus
		Wisteria vein mosaic potyvirus
		Zucchini yellow mosaic potyvirus
		Zygocactus Montana X potexvirus
		Zygocactus potexvirus
	Chenopodium schraderianum	Sieg River potexvirus
	좁명아주 (Chenopodium serotinum)	Cycas necrotic stunt nepovirus
	Chenopodium urbicum	Zygocactus Montana X potexvirus
	Hablitzia tamnoides	Zygocactus Montana X potexvirus
	시금치 (Spinacia oleracea)	Alfalfa mosaic alfamovirus
		Amaranthus leaf mottle potyvirus
		Arabis mosaic nepovirus
		Asparagus 3 potexvirus
		Barley stripe mosaic hordeivirus
		Bean yellow mosaic potyvirus
		Beet curly top hybrigeminivirus
		Beet leaf curl rhabdovirus
		Beet mild yellowing luteovirus
		Beet mosaic potyvirus
		Beet necrotic yellow vein furovirus
		Beet pseudo-yellows closterovirus
		Beet soil-borne furovirus
		Beet western yellows luteovirus
		Beet yellows closterovirus
		Black raspberry necrosis virus
		Broad bean wilt fabavirus
		Canavalia maritima mosaic potyvirus
		Carnation mottle carmovirus
		Carnation ringspot dianthovirus
		Carnation vein mottle potyvirus
		Celery latent potyvirus
		Cherry leaf roll nepovirus
		Clover yellow mosaic potexvirus
		Clover yellow vein potyvirus
		Cowpea mild mottle carlavirus
		Cowpea mosaic comovirus
		Croton yellow vein mosaic bigeminivirus
		Cucumber leaf spot carmovirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Cycas necrotic stunt nepovirus
		Cymbidium ringspot tobusvirus
		Dandelion yellow mosaic sequivirus
		Daphne Y potyvirus
		Dogwood mosaic nepovirus
		Elderberry latent carmovirus
		Elm mottle ilarvirus
		Epirus cherry ourmiavirus
		Foxtail mosaic potexvirus
		Galinsoga mosaic carmovirus

		Habenaria mosaic potyvirus
		Heracleum latent trichovirus
		Lettuce infectious yellows closterovirus
		Lettuce mosaic potyvirus
		Lettuce necrotic yellows cytorhabdovirus
		Lettuce speckles mottle umbravirus
		Lucerne Australian latent nepovirus
		Lucerne Australian symptomless nepovirus
		Lucerne transient streak sobemovirus
		Lychnis ringspot hordeivirus
		Melon Ourmia ourmiavirus
		Melothria mottle potyvirus
		Milk vetch dwarf nanavirus
		Mulberry latent carlavirus
		Nandina mosaic potexvirus
		Nicotiana velutina mosaic furovirus
		Oat blue dwarf marafivirus
		Okra mosaic tymovirus
		Parietaria mottle ilarvirus
		Parsnip leafcurl virus
		Parsnip mosaic potyvirus
		Parsnip yellow fleck sequivirus
		Patchouli mosaic potyvirus
		Pea early browning tobavirus
		Pea streak carlavirus
		Peanut chlorotic streak caulimovirus
		Peanut clump furovirus
		Peanut mottle potyvirus
		Peanut stunt cucumovirus
		Pelargonium flower break carmovirus
		Pelargonium line pattern carmovirus
		Pepper Moroccan tombusvirus
		Pepper ringspot tobavirus
		Petunia asteroid mosaic tombusvirus
		Physalis mild chlorosis luteovirus
		Potato 14R tobamovirus
		Potato T trichovirus
		Potato U nepovirus
		Radish mosaic comovirus
		Raspberry ringspot nepovirus
		Red clover necrotic mosaic dianthovirus
		Ribgrass mosaic tobamovirus
		Rose tobamovirus
		Sowbane mosaic sobemovirus
		Soybean mild mosaic virus
		Spinach latent ilarvirus
		Spinach temperate alphacryptovirus
		Statice Y potyvirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Sunflower ringspot ilarvirus
		Sunn-hemp mosaic tobamovirus
		Sweet potato mild mottle ipomovirus
		Tobacco necrosis necrovirus
		Tobacco necrotic dwarf luteovirus
		Tobacco rattle tobavirus
		Tobacco ringspot nepovirus
		Tobacco streak ilarvirus
		Tobacco stunt varicosavirus
		Tomato black ring nepovirus
		Tomato bushy stunt tombusvirus
		Tomato spotted wilt tospovirus
		Tulip halo necrosis virus
		Tulip X potexvirus

			Turnip mosaic potyvirus Vallota mosaic potyvirus Viola mottle potyvirus Watermelon mosaic 2 potyvirus Wineberry latent virus Wisteria vein mosaic potyvirus
		Spinacia tetrandra	Beet leaf curl rhabdovirus
풍접초과 (Cleomaceae)	온대 아열대 열대	풍접초 (Cleome spinosa)	Turnip yellow mosaic tymovirus
국화과 (Compositae)	온대 아열대 열대	Acanthospermum hispidum	Bidens mosaic potyvirus
		등골나물아재비 (Ageratum conyzoides)	Ageratum yellow vein bigeminivirus
			Alfalfa mosaic alfamovirus
			Bidens mottle potyvirus
			Croton yellow vein mosaic bigeminivirus
			Dahlia mosaic caulimovirus
			Pepper veinal mottle potyvirus
			Tobacco leaf curl bigeminivirus
			Tobacco ringspot nepovirus
		암브로시아(Ambrosia)	Tomato pseudo curly top hybrigeminivirus
		우엉(Arctium lappa)	Burdock mosaic virus
			Burdock mottle virus
			Burdock yellows closterovirus
		우방자 (Arctium minus)	Burdock yellow mosaic potyvirus
		케이프민들레 (Arctotheca calendula)	Beet western yellows luteovirus
		미케르마스 데이지 (Aster amellus)	Chrysanthemum B carlavirus
		숙근아스타 (Aster novae-angliae)	Aster chlorotic stunt carlavirus
		우선국 (Aster novi-belgii)	Aster chlorotic stunt carlavirus
		Balsamorhiza sagittata	Cherry rasp leaf nepovirus
		데이지(Bellis perennis)	Arabis mosaic nepovirus
			Beet curly top hybrigeminivirus
			Tobacco rattle tobnavirus
			Tobacco ringspot nepovirus
		울산도깨비바늘 (Bidens pilosa)	Bidens mosaic potyvirus
			Bidens mottle potyvirus
			Patchouli mosaic potyvirus
			Pepper ringspot tobnavirus
			Sonchus yellow net nucleorhabdovirus
			Tomato spotted wilt tospovirus
		금잔화 (Calendula officinalis)	Alfalfa mosaic alfamovirus
			Arabis mosaic nepovirus
			Beet curly top hybrigeminivirus
			Bidens mottle potyvirus
			Broad bean wilt fabavirus
			Butterbur mosaic carlavirus
			Chicory yellow mottle nepovirus
Cucumber mosaic cucumovirus			
Galinsoga mosaic carmovirus			
Marigold mottle potyvirus			
Melandrium yellow fleck bromovirus			
Melon Ourmia ourmiavirus			
Pepper veinal mottle potyvirus			
Strawberry latent ringspot nepovirus			
Tobacco rattle tobnavirus			
Tobacco ringspot nepovirus			
Tomato black ring nepovirus			
Tomato spotted wilt tospovirus			
Turnip mosaic potyvirus			

		과꽃 (Callistephus chinensis)	Artichoke curly dwarf potexvirus
			Beet pseudo-yellow closterovirus
			Bidens mosaic potyvirus
			Callistephus chinensis chlorosis rhabdovirus
			Carnation ringspot dianthovirus
			Lychnis ringspot hordeivirus
			Melon Ourmia ourmiavirus
		잇꽃 (Carthamus tinctorius)	Lettuce infectious yellows closterovirus
			Lettuce mosaic potyvirus
		수레국화 (Centaurea cyanus)	Artichoke curly dwarf potexvirus
			Oat blue dwarf marafivirus
		Chondrilla juncea	Chondrilla juncea stunting nucleorhabdovirus
		국화(Chrysanthemum)	Chrysanthemum vein chlorosis rhabdovirus
		크리산테카리나툼 (Chrysanthemum carinatum)	Chrysanthemum B carlavirus
		쑥갓 (Chrysanthemum coronarium)	Garland chrysanthemum temperate alphacryptovirus
		마거리트 (Chrysanthemum frutescens)	Chrysanthemum spot potyvirus
		프랑스국화 (Chrysanthemum leucanthemum)	Potato yellow dwarf nucleorhabdovirus
		국화 (Chrysanthemum morifolium)	Chrysanthemum B carlavirus
			Cucumber mosaic cucumovirus
			Oat blue dwarf marafivirus
			Tomato aspermy cucumovirus
		공작국화 (Chrysanthemum segetum)	Pelargonium zonate spot ourmiavirus
		엔디브 (Cichorium endiva)	Alfalfa mosaic alfamovirus
			Beet pseudo-yellow closterovirus
			Bidens mottle potyvirus
			Carnation ringspot dianthovirus
			Carrot thin leaf potyvirus
			Cassia mild mosaic carlavirus
			Cucumber mosaic cucumovirus
			Dandelion yellow mosaic sequivirus
			Endive necrotic mosaic potyvirus
			Galinsoga mosaic carmovirus
			Lettuce infectious yellows closterovirus
Lettuce mosaic potyvirus			
Oat blue dwarf marafivirus			
Ribgrass mosaic tobamovirus			
Tobacco necrosis necrovirus			
Tobacco ringspot nepovirus			
Tomato spotted wilt tospovirus			
Turnip mosaic potyvirus			
Watermelon mosaic 2 potyvirus			
치커리 (Cichorium intybus)	Artichoke Italian latent nepovirus		
	Chicory X potexvirus		
	Chicory yellow blotch carlavirus		
	Chicory yellow mottle nepovirus		
조뱅이 (Cirsium arvense)	Amaranthus leaf mottle potyvirus		
	Thistle mottle caulimovirus		
큰금계국 (Coreopsis lanceolata)	Bidens mosaic potyvirus		
Crepis neglecta	Artichoke Italian latent nepovirus		
카르둔 (Cynara cardunculus)	Artichoke curly dwarf potexvirus		
	Artichoke latent potyvirus		
	Artichoke yellow ringspot nepovirus		
아티초크 (Cynara scolymus)	Artichoke curly dwarf potexvirus		
	Artichoke Italian latent nepovirus		
	Artichoke latent M carlavirus		

		Artichoke latent potyvirus
		Artichoke latent S carlavirus
		Artichoke mottled crinkle tombusvirus
		Artichoke vein banding nepovirus
		Artichoke yellow ringspot nepovirus
		Cynara nucleorhabdovirus
		Pelargonium zonate spot ourmiavirus
		Pepper ringspot tobnavirus
	Cynara syriaca	Cynara nucleorhabdovirus
	달리아(Dahlia pinnata)	Dahlia mosaic caulimovirus
		Tobacco streak ilarvirus
		Tomato spotted wilt tospovirus
	한련초 (Eclipta prostrata)	Mung bean yellow mosaic bigeminivirus
	Embergeria megalocarpa	Lettuce necrotic yellows cytorhabdovirus
	Emilia flammea	Melandrium yellow fleck bromovirus
	카칼리아 (Emilia sagittata)	Alfalfa mosaic alfamovirus
		Arabis mosaic nepovirus
		Carnation ringspot dianthovirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Cymbidium ringspot tombusvirus
		Galinsoga mosaic carmovirus
		Pepper veinal mottle potyvirus
		Plum pox potyvirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Tomato black ring nepovirus
	자배초 (Emilia sonchifolia)	Ageratum yellow vein bigeminivirus
		Galinsoga mosaic carmovirus
	에리제론(Erigeron)	Bidens mottle potyvirus
	숙근 천인국 (Gaillardia aristata)	Oat blue dwarf marafivirus
	벌꽃아재비 (Galinsoga parviflora)	Galinsoga mosaic carmovirus
		Sunflower ringspot ilarvirus
	가자니아 리젠스 (Gazania rigens)	Beet western yellows luteovirus
	거베라(Gerbera)	Gerbera symptomless rhabdovirus
	기누라 아우란티아카 (Gynura aurantiaca)	Carnation latent carlavirus
		Chrysanthemum B carlavirus
	헬레니움 아마름 (Helenium amarum)	Helenium S carlavirus
		Helenium Y potyvirus
	Helenium amarum hybrids	Helenium Y potyvirus
	해바라기 (Helianthus annuus)	Alfalfa mosaic alfamovirus
		Artichoke curly dwarf potexvirus
		Artichoke latent potyvirus
		Beet western yellows luteovirus
		Bidens mosaic potyvirus
		Bidens mottle potyvirus
		Cassia mild mosaic carlavirus
		Cherry leaf roll nepovirus
		Citrus ringspot virus
		Clover yellow mosaic potexvirus
		Clover yellow vein potyvirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Cymbidium ringspot tombusvirus
		Elm mottle ilarvirus
		Galinsoga mosaic carmovirus
		Humulus japonicus ilarvirus
		Lettuce infectious yellows closterovirus
		Maracuja mosaic tobamovirus
		Melandrium yellow fleck bromovirus
		Patchouli mosaic potyvirus
		Peanut stunt cucumovirus
		Pepper veinal mottle potyvirus
		Physalis mosaic tymovirus

			Prune dwarf ilarvirus
			Prunus necrotic ringspot ilarvirus
			Red clover necrotic mosaic dianthovirus
			Sunflower crinkle umbravirus
			Sunflower mosaic potyvirus
			Sunflower ringspot ilarvirus
			Sunflower yellow blotch umbravirus
			Tobacco necrosis necrovirus
			Tobacco rattle tobnavirus
			Tobacco streak ilarvirus
			Tomato black ring nepovirus
			Tomato spotted wilt tospovirus
			Tropaeolum 2 potyvirus
		밀짚꽃 (Helichrysum bracteatum)	Artichoke curly dwarf potexvirus
		Helminthia echioides	Artichoke Italian latent nepovirus
		Hypochoeris aetensis	Artichoke Italian latent nepovirus
		Hypochoeris radiata	Hypochoeris mosaic furovirus
		상추(Lactuca sativa)	Alfalfa mosaic alfamovirus
			Arabis mosaic nepovirus
			Beet curly top hybrigeminivirus
			Beet pseudo-yellows closterovirus
			Beet western yellows luteovirus
			Beet yellow stunt closterovirus
			Beet yellows closterovirus
			Bidens mosaic potyvirus
			Bidens mottle potyvirus
			Broad bean wilt fabavirus
			Carnation ringspot dianthovirus
			Cassava green mottle nepovirus
			Cassia mild mosaic carlavirus
			Chicory yellow mottle nepovirus
			Clover yellow mosaic potexvirus
			Cymbidium ringspot tombusvirus
			Dandelion yellow mosaic sequivirus
			Dogwood mosaic nepovirus
			Endive necrotic mosaic potyvirus
			Epirus cherry ourmiavirus
			Galinsoga mosaic carmovirus
			Lettuce big-vein varicosavirus
			Lettuce infectious yellows closterovirus
			Lettuce mosaic potyvirus
			Lettuce necrotic yellows cytorhabdovirus
			Lettuce speckles mottle umbravirus
			Narcissus mosaic potexvirus
			Pepper veinal mottle potyvirus
			Plum American line pattern ilarvirus
			Potato black ringspot nepovirus
			Prune dwarf ilarvirus
			Prunus necrotic ringspot ilarvirus
			Red clover necrotic mosaic dianthovirus
			Ribgrass mosaic tobamovirus
			Rubus Chinese seed-borne nepovirus
			Sonchus cytorhabdovirus
			Sonchus yellow net nucleorhabdovirus
			Sowthistle yellow vein nucleorhabdovirus
			Soybean dwarf luteovirus
			Strawberry latent ringspot nepovirus
			Subterranean clover red leaf luteovirus
			Tobacco mosaic tobamovirus
			Tobacco necrosis necrovirus
			Tobacco rattle tobnavirus
			Tobacco ringspot nepovirus

		Tobacco streak ilarvirus
		Tomato black ring nepovirus
		Tomato infectious chlorosis closterovirus
		Tomato pseudo curly top hybrigeminivirus
		Tomato spotted wilt tospovirus
		Turnip crinkle carmovirus
		Turnip mosaic potyvirus
		Viola mottle potexvirus
	가시 상추 (<i>Lactuca serriola</i>)	Beet western yellows luteovirus
		Dandelion yellow mosaic sequivirus
		Sonchus cytorhabdovirus
	야생 상추 (<i>Lactuca virosa</i>)	Artichoke Italian latent nepovirus
		Dandelion yellow mosaic sequivirus
	<i>Launaea aspleniifolia</i>	Launaea mosaic potyvirus
	<i>Launaea naudicaulis</i>	Launaea mosaic potyvirus
	가을 민들레 (<i>Leontodon autumnalis</i>)	Hypochoeris mosaic furovirus
	머위 (<i>Petasites officinalis</i>)	Butterbur mosaic carlavirus
		Butterbur nucleorhabdovirus
	방가지뚥아재비 (<i>Reichardia tingitana</i>)	Lettuce necrotic yellows cytorhabdovirus
	<i>Rudbeckia hirta hybridum</i>	Bidens mottle potyvirus
	세네시오속(<i>Senecio</i>)	Bidens mottle potyvirus
	시네라리아 (<i>Senecio cruentus</i>)	Cassava Ivorian bacilliform ourmiavirus
		Chrysanthemum B carlavirus
	개썩갓 (<i>Senecio vulgaris</i>)	Arabis mosaic nepovirus
		Beet curly top hybrigeminivirus
		Beet mild yellowing luteovirus
		Beet mosaic potyvirus
		Beet pseudo-yellowing closterovirus
		Beet western yellows luteovirus
		Cherry leaf roll nepovirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Cymbidium ringspot tombusvirus
		Elm mottle ilarvirus
		Lettuce mosaic potyvirus
		Pea seed-borne mosaic potyvirus
		Plum pox potyvirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Subterranean clover red leaf luteovirus
		Tobacco etch potyvirus
		Tobacco rattle tobnavirus
		Tobacco ringspot nepovirus
		Tomato black ring nepovirus
		Turnip mosaic potyvirus
		Watermelon mosaic 2 potyvirus
		Zucchini yellow mosaic potyvirus
	방가지뚥속(<i>Sonchus</i>)	Artichoke Italian latent nepovirus
		Lettuce mosaic potyvirus
	여러해살이 방가지뚥 (<i>Sonchus arvensis</i>)	Artichoke Italian latent nepovirus
		Beet mosaic potyvirus
	큰방가지뚥 (<i>Sonchus asper</i>)	Beet western yellows luteovirus
		Lettuce big-vein varicosavirus
		Sonchus mosaic potexvirus
	<i>Sonchus hydrophilus</i>	Lettuce necrotic yellows cytorhabdovirus
	방가지뚥 (<i>Sonchus oleraceus</i>)	Alfalfa mosaic alfamovirus
		Beet pseudo-yellowing closterovirus
		Beet western yellows luteovirus
		Beet yellow stunt closterovirus
		Cassia mild mosaic carlavirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Galinsoga mosaic carmovirus
		Lettuce big-vein varicosavirus

		Lettuce infectious yellows closterovirus
		Lettuce necrotic yellows cytorhabdovirus
		Physalis mosaic tymovirus
		Sonchus cytorhabdovirus
		Sonchus yellow net nucleorhabdovirus
		Sowthistle yellow vein nucleorhabdovirus
		Tobacco necrosis necrovirus
		Tobacco ringspot nepovirus
		Tobacco yellow dwarf monogeminivirus
		Tomato black ring nepovirus
		Tomato spotted wilt tospovirus
		Tomato yellow leaf curl bigeminivirus
		Watermelon mosaic 2 potyvirus
	Synedrella nodiflora	Ageratum yellow vein bigeminivirus
	매리골드(Tagetes)	Ageratum yellow vein bigeminivirus
	천수국(Tageteserecta)	Marigold mottle potyvirus
	서양민들레 (Taraxacum officinale)	Arabis mosaic nepovirus
		Beet pseudo-yellows closterovirus
		Cherry rasp leaf nepovirus
		Dandelion carlavirus
		Dandelion latent carlavirus
		Dandelion yellow mosaic sequivirus
		Peach rosette mosaic nepovirus
	Strawberry latent ringspot nepovirus	
	멕시코해바라기 (Tithonia speciosa)	Abelia latent tymovirus
		Clover yellow mosaic potexvirus
		Prune dwarf ilarvirus
		Tobacco streak ilarvirus
	Urospermum dalechampii	Cucumber mosaic cucumovirus
		Dahlia mosaic caulimovirus
		Dogwood mosaic nepovirus
		Pepper veinal mottle potyvirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
	베르노니아(Vernonia)	Mung bean yellow mosaic bigeminivirus
	도꼬마리 (Xanthium strumarium)	Mung bean yellow mosaic bigeminivirus
	백일홍(Zinnia elegans)	Alfalfa mosaic alfamovirus
		Arabis mosaic nepovirus
		Artichoke curly dwarf potexvirus
		Artichoke latent S carlavirus
		Artichoke vein banding nepovirus
		Asparagus 3 potexvirus
		Bean yellow mosaic potyvirus
		Beet curly top hybrigeminivirus
		Beet mild yellowing luteovirus
		Beet mosaic potyvirus
		Beet pseudo-yellows closterovirus
		Beet western yellows luteovirus
		Bidens mosaic potyvirus
		Bidens mottle potyvirus
		Butterbur mosaic carlavirus
		Caraway latent nepovirus
		Carnation ringspot dianthovirus
		Carrot thin leaf potyvirus
		Cassia mild mosaic carlavirus
		Celery latent potyvirus
		Cherry leaf roll nepovirus
		Citrus ringspot virus
		Clover yellow vein potyvirus
		Cowpea mosaic comovirus
		Croton yellow vein mosaic bigeminivirus
		Cucumber leaf spot carmovirus
		Cymbidium mosaic potexvirus

			Cymbidium ringspot tobusvirus
			Dahlia mosaic caulimovirus
			Dogwood mosaic nepovirus
			Elm mottle ilarvirus
			Foxtail mosaic potexvirus
			Galinsoga mosaic carmovirus
			Humulus japonicus ilarvirus
			Lettuce infectious yellows closterovirus
			Lettuce mosaic potyvirus
			Lisianthus necrosis necrovirus
			Lucerne transient streak sobemovirus
			Maracuja mosaic tobamovirus
			Melon Ourmia ourmiavirus
			Nasturtium mosaic potyvirus
			Odontoglossum ringspot tobamovirus
			Patchouli mosaic potyvirus
			Pea seed-borne mosaic potyvirus
			Pea streak carlavirus
			Peach enation nepovirus
			Peanut stunt cucumovirus
			Pepper Moroccan tobusvirus
			Pepper veinal mottle potyvirus
			Plantain X potexvirus
			Plum American line pattern ilarvirus
			Plum pox potyvirus
			Poplar mosaic carlavirus
			Primula mosaic potyvirus
			Prune dwarf ilarvirus
			Prunus necrotic ringspot ilarvirus
			Ribgrass mosaic tobamovirus
			Sonchus yellow net nucleorhabdovirus
			Soybean crinkle leaf bigeminivirus
			Strawberry latent ringspot nepovirus
			Subterranean clover red leaf luteovirus
			Sweet potato mild mottle ipomovirus
			Tobacco etch potyvirus
			Tobacco leaf curl bigeminivirus
			Tobacco necrosis necrovirus
			Tobacco ringspot nepovirus
			Tobacco streak ilarvirus
			Tomato black ring nepovirus
			Tomato bushy stunt tobusvirus
			Tomato infectious chlorosis closterovirus
			Tomato spotted wilt tospovirus
			Tropaeolum 2 potyvirus
			Turnip mosaic potyvirus
			Watermelon mosaic 2 potyvirus
			Wisteria vein mosaic potyvirus
			Zinnia mild mottle potyvirus
메꽃과 (Convolvulaceae)	온대 아열대	삼색메꽃 (Convolvulus tricolor)	Carnation ringspot dianthovirus
		Hewittia sublobata	Cassava African mosaic bigeminivirus
		공심채 (Ipomoea aquatica)	Sweet potato phytoreovirus
		고구마 (Ipomoea batatas)	Cassava green mottle nepovirus
			Sweet potato caulimovirus
			Sweet potato feathery mottle potyvirus
			Sweet potato G potyvirus
Sweet potato latent potyvirus			
Sweet potato leaf curl badnavirus			

			Sweet potato mild mottle ipomovirus	
			Sweet potato ringspot nepovirus	
			Sweet potato sunken vein closterovirus	
			Sweet potato vein mosaic potyvirus	
			Sweet potato yellow dwarf ipomovirus	
		Ipomoea congesta	Tomato spotted wilt tospovirus	
		동근잎미국나팔꽃 (Ipomoea hederacea)	Sweet potato sunken vein closterovirus	
		Ipomoea incarnata	Sweet potato feathery mottle potyvirus	
		나팔꽃(Ipomoea nil)	Apple mosaic ilarvirus	
			Cucumber mosaic cucumovirus	
			Dulcamara mottle tymovirus	
			Prune dwarf ilarvirus	
			Quail pea mosaic comovirus	
			Sweet potato feathery mottle potyvirus	
			Sweet potato latent potyvirus	
			Sweet potato leaf curl badnavirus	
			Sweet potato ringspot nepovirus	
			Sweet potato sunken vein closterovirus	
			Sweet potato vein mosaic potyvirus	
			Watermelon mosaic 2 potyvirus	
			동근잎나팔꽃 (Ipomoea purpurea)	Sweet potato feathery mottle potyvirus
			Ipomoea setosa	Beet curly top hybrigeminivirus
		Sweet potato caulimovirus		
		Sweet potato feathery mottle potyvirus		
		Sweet potato latent potyvirus		
		Sweet potato phytoreovirus		
		Sweet potato ringspot nepovirus		
		Sweet potato sunken vein closterovirus		
		Sweet potato vein mosaic potyvirus		
		Ipomoea trichocarpa	Sweet potato sunken vein closterovirus	
		Ipomoea trifida	Sweet potato sunken vein closterovirus	
		선나팔꽃 (Jacquemontia tamnifolia)	Jatropha mosaic bigeminivirus	
박과 (Cucurbitaceae)	온대 아열대 열대	동과 (Benincasa hispida)	Trichosanthes mottle potyvirus	
		Bryonia cretica	White bryony potyvirus	
		브리오니아 디오이카 (Bryonia dioica)	Bryonia mottle potyvirus	
			White bryony mosaic carlavirus	
		Bryonopsis laciniosa	Melothria mottle potyvirus	
		콜로신스 (Citrullus colocynthis)	Watermelon chlorotic stunt bigeminivirus	
		수박(Citrullus lanatus)	Beet curly top hybrigeminivirus	
			Beet western yellows luteovirus	
			Cassia mild mosaic carlavirus	
			Cole latent carlavirus	
			Cucumber green mottle mosaic tobamovirus	
			Cucumber mosaic cucumovirus	
			Cucumber vein yellowing virus	
			Lettuce infectious yellows closterovirus	
			Melon leaf curl bigeminivirus	
			Melon necrotic spot carmovirus	
			Melon rugose mosaic tymovirus	
			Melothria mottle potyvirus	
			Okra mosaic tymovirus	
Peanut mottle potyvirus				
Peanut stunt cucumovirus				
Ribgrass mosaic tobamovirus				
Squash mosaic comovirus				
Strawberry latent ringspot nepovirus				
Trichosanthes mottle potyvirus				
	Watermelon chlorotic stunt bigeminivirus			

			Watermelon curly mottle bigeminivirus
			Watermelon Moroccan mosaic potyvirus
			Watermelon mosaic 1 potyvirus
			Watermelon mosaic 2 potyvirus
			Wild cucumber mosaic tymovirus
			Zucchini yellow fleck potyvirus
			Zucchini yellow mosaic potyvirus
		수박 (Citrullus vulgaris)	Cucumber green mottle mosaic tobamovirus
			Cucumber vein yellowing virus
			Telfairia mosaic potyvirus
			Watermelon chlorotic stunt bigeminivirus
			Wild cucumber mosaic tymovirus
		멜론(Cucumis melo)	Abutilon mosaic bigeminivirus
			Alfalfa mosaic alfamovirus
			Apple mosaic ilarvirus
			Arabis mosaic nepovirus
			Beet pseudo-yellow closterovirus
			Cacao yellow mosaic tymovirus
			Cassia mild mosaic carlavirus
			Cherry leaf roll nepovirus
			Cucumber leaf spot carmovirus
			Cucumber mosaic cucumovirus
			Daphne X potexvirus
			Humulus japonicus ilarvirus
			Kyuri green mottle mosaic tobamovirus
			Lettuce infectious yellows closterovirus
			Melon leaf curl bigeminivirus
			Melon necrotic spot carmovirus
			Melon Ourmia ourmiavirus
			Melon rugose mosaic tymovirus
			Melon variegation cytorhabdovirus
			Melon vein-banding mosaic potyvirus
			Melothria mottle potyvirus
			Muskmelon vein necrosis carlavirus
			Papaya ringspot potyvirus
			Pea streak carlavirus
			Peanut stunt cucumovirus
			Pepper Moroccan tombusvirus
			Pepper veinal mottle potyvirus
			Prune dwarf ilarvirus
			Squash mosaic comovirus
			Strawberry latent ringspot nepovirus
			Telfairia mosaic potyvirus
			Tobacco mosaic tobamovirus
			Tobacco necrosis necrovirus
			Tobacco rattle tobavirus
			Tobacco ringspot nepovirus
			Tobacco streak ilarvirus
			Tomato black ring nepovirus
			Trichosanthes mottle potyvirus
			Watermelon curly mottle bigeminivirus
			Watermelon Moroccan mosaic potyvirus
			Watermelon mosaic 1 potyvirus
			Watermelon mosaic 2 potyvirus
			Wild cucumber mosaic tymovirus
			Zucchini yellow fleck potyvirus
			Zucchini yellow mosaic potyvirus
		칸탈루프 (Cucumis melo var. cantalupensis)	Watermelon curly mottle bigeminivirus
		키와노 (Cucumis metuliferus)	Melon Ourmia ourmiavirus
			Papaya ringspot potyvirus
			Squash mosaic comovirus

		Watermelon mosaic 1 potyvirus
		Watermelon mosaic 2 potyvirus
		Zucchini yellow mosaic potyvirus
	오이(Cucumis sativus)	Abutilon mosaic bigeminivirus
		Alfalfa mosaic alfamovirus
		Apple mosaic ilarvirus
		Apple stem pitting virus
		Arabis mosaic nepovirus
		Arracacha A nepovirus
		Arracacha B nepovirus
		Artichoke Italian latent nepovirus
		Artichoke mottled crinkle tobusvirus
		Artichoke vein banding nepovirus
		Artichoke yellow ringspot nepovirus
		Asparagus 2 ilarvirus
		Beet curly top hybrigeminivirus
		Beet mild yellowing luteovirus
		Beet pseudo-yellow closterovirus
		Beet western yellows luteovirus
		Blueberry leaf mottle nepovirus
		Broad bean wilt fabavirus
		Cacao necrosis nepovirus
		Caraway latent nepovirus
		Carnation mottle carmovirus
		Carnation ringspot dianthovirus
		Cassava green mottle nepovirus
		Cassia mild mosaic carlavirus
		Cassia yellow blotch bromovirus
		Cherry leaf roll nepovirus
		Cherry rasp leaf nepovirus
		Chicory yellow mottle nepovirus
		Citrus ringspot virus
		Clover yellow mosaic potexvirus
		Clover yellow vein potyvirus
		Cowpea chlorotic mottle bromovirus
		Cucumber chlorotic spot closterovirus
		Cucumber green mottle mosaic tobamovirus
		Cucumber leaf spot carmovirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Cucumber necrosis tobusvirus
		Cucumber soil-borne carmovirus
		Cucumber toad-skin rhabdovirus
		Cucumber vein yellowing virus
		Cymbidium mosaic potexvirus
		Cymbidium ringspot tobusvirus
		Dandelion yellow mosaic sequivirus
		Daphne X potexvirus
		Dogwood mosaic nepovirus
		Eggplant mosaic tymovirus
		Eggplant mottled crinkle tobusvirus
		Elderberry latent carmovirus
		Elm mottle ilarvirus
		Epirus cherry ourmiavirus
		Erysimum latent tymovirus
		Eucharis mottle nepovirus
		Foxtail mosaic potexvirus
		Fragaria chiloensis ilarvirus
		Grapevine Bulgarian latent nepovirus
		Grapevine chrome mosaic nepovirus
		Grapevine fanleaf nepovirus
		Grapevine line pattern ilarvirus
		Heracleum latent trichovirus

			Honeysuckle latent carlavirus
			Humulus japonicus ilarvirus
			Hypochoeris mosaic furovirus
			Kalanchoe isometric virus
			Kyuri green mottle mosaic tobamovirus
			Lettuce infectious yellows closterovirus
			Lisianthus necrosis necrovirus
			Lucerne Australian latent nepovirus
			Maracuja mosaic tobamovirus
			Melandrium yellow fleck bromovirus
			Melon leaf curl bigeminivirus
			Melon necrotic spot carmovirus
			Melon Ourmia ourmiavirus
			Melon rugose mosaic tymovirus
			Melothria mottle potyvirus
			Muskmelon vein necrosis carlavirus
			Okra mosaic tymovirus
			Olive latent ringspot nepovirus
			Olive latent 1 sobemovirus
			Papaya ringspot potyvirus
			Parsnip leafcurl virus
			Parsnip yellow fleck sequivirus
			Passionfruit woodiness potyvirus
			Pea early browning tobavirus
			Pea streak carlavirus
			Peanut clump furovirus
			Peanut mottle potyvirus
			Peanut stunt cucumovirus
			Pelargonium zonate spot ourmiavirus
			Pepino mosaic potexvirus
			Pepper Moroccan tombusvirus
			Pepper ringspot tobavirus
			Pepper veinal mottle potyvirus
			Plantain 8 carlavirus
			Plum American line pattern ilarvirus
			Poplar mosaic carlavirus
			Potato 14R tobamovirus
			Potato Andean latent tymovirus
			Potato black ringspot nepovirus
			Potato U nepovirus
			Primula mosaic potyvirus
			Prune dwarf ilarvirus
			Prunus necrotic ringspot ilarvirus
			Radish mosaic comovirus
			Raspberry ringspot nepovirus
			Red clover necrotic mosaic dianthovirus
			Ribgrass mosaic tobamovirus
			Rose tobamovirus
			Rubus Chinese seed-borne nepovirus
			Silene X potexvirus
			Sowbane mosaic sobemovirus
			Soybean mild mosaic virus
			Spinach latent ilarvirus
			Spring beauty latent bromovirus
			Squash mosaic comovirus
			Strawberry latent ringspot nepovirus
			Sweet clover necrotic mosaic dianthovirus
			Sweet potato ringspot nepovirus
			Telfairia mosaic potyvirus
			Tobacco mosaic tobamovirus
			Tobacco necrosis necrovirus
			Tobacco rattle tobavirus
			Tobacco ringspot nepovirus

		Tobacco streak ilarvirus
		Tobacco stunt varicosavirus
		Tomato aspermy cucumovirus
		Tomato black ring nepovirus
		Tomato bushy stunt tombusvirus
		Tomato ringspot nepovirus
		Tomato spotted wilt tospovirus
		Trichosanthes mottle potyvirus
		Tulip X potexvirus
		Turnip crinkle carmovirus
		Ullucus mild mottle tobamovirus
		Urd bean leaf crinkle virus
		Watermelon curly mottle bigeminivirus
		Watermelon Moroccan mosaic potyvirus
		Watermelon mosaic 1 potyvirus
		Watermelon mosaic 2 potyvirus
		White clover mosaic potexvirus
		Wild cucumber mosaic tymovirus
		Zucchini yellow fleck potyvirus
		Zucchini yellow mosaic potyvirus
	서양종호박 (Cucurbita maxima)	Apple mosaic ilarvirus
		Bean yellow mosaic potyvirus
		Beet curly top hybrigeminivirus
		Cherry leaf roll nepovirus
		Clover yellow mosaic potexvirus
		Cucumber leaf spot carmovirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Daphne X potexvirus
		Elm mottle ilarvirus
		Eucharis mottle nepovirus
		Grapevine fanleaf nepovirus
		Humulus japonicus ilarvirus
		Kyuri green mottle mosaic tobamovirus
		Lettuce infectious yellows closterovirus
		Lisianthus necrosis necrovirus
		Maracuja mosaic tobamovirus
		Melandrium yellow fleck bromovirus
		Melon leaf curl bigeminivirus
		Melothria mottle potyvirus
		Papaya ringspot potyvirus
		Pea seed-borne mosaic potyvirus
		Peanut stunt cucumovirus
		Poplar mosaic carlavirus
		Prune dwarf ilarvirus
		Prunus necrotic ringspot ilarvirus
		Radish mosaic comovirus
		Sowbane mosaic sobemovirus
		Squash leaf curl bigeminivirus
		Squash mosaic comovirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Sunflower ringspot ilarvirus
		Tobacco necrosis necrovirus
		Tobacco ringspot nepovirus
		Tobacco streak ilarvirus
		Tomato bushy stunt tombusvirus
		Watermelon curly mottle bigeminivirus
		Watermelon mosaic 1 potyvirus
		Watermelon mosaic 2 potyvirus
		Wild cucumber mosaic tymovirus
		Zucchini yellow fleck potyvirus
		Zucchini yellow mosaic potyvirus
	서양계호박 (Cucurbita maxima x C.	Trichosanthes mottle potyvirus

	moschata)	
	호박 (Cucurbita moschata)	Beet curly top hybrigeminivirus
		Beet pseudo-yellows closterovirus
		Beet western yellows luteovirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Kyuri green mottle mosaic tobamovirus
		Lettuce infectious yellows closterovirus
		Lisianthus necrosis necrovirus
		Maracuja mosaic tobamovirus
		Melandrium yellow fleck bromovirus
		Melon leaf curl bigeminivirus
		Melon necrotic spot carmovirus
		Melothria mottle potyvirus
		Papaya ringspot potyvirus
		Peanut stunt cucumovirus
		Prune dwarf ilarvirus
		Prunus necrotic ringspot ilarvirus
		Rose tobamovirus
		Squash leaf curl bigeminivirus
		Squash mosaic comovirus
		Tobacco ringspot nepovirus
		Tobacco streak ilarvirus
		Trichosanthes mottle potyvirus
		Watermelon curly mottle bigeminivirus
		Watermelon mosaic 1 potyvirus
		Watermelon mosaic 2 potyvirus
		Zucchini yellow mosaic potyvirus
	Cucurbita okeechobeensis	Watermelon mosaic 2 potyvirus
		Zucchini yellow mosaic potyvirus
	페포호박 (Cucurbita pepo)	Alfalfa mosaic alfamovirus
		Arabis mosaic nepovirus
		Arracacha A nepovirus
		Artichoke Italian latent nepovirus
		Artichoke mottled crinkle tombusvirus
		Artichoke vein banding nepovirus
		Beet curly top hybrigeminivirus
		Beet mosaic potyvirus
		Beet western yellows luteovirus
		Cacao yellow mosaic tymovirus
		Cassia mild mosaic carlavirus
		Cassia yellow spot potyvirus
		Cherry leaf roll nepovirus
		Chicory yellow mottle nepovirus
		Clover yellow vein potyvirus
		Cowpea chlorotic mottle bromovirus
		Cucumber leaf spot carmovirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Eggplant mottled crinkle tombusvirus
		Elm mottle ilarvirus
		Grapevine chrome mosaic nepovirus
		Kyuri green mottle mosaic tobamovirus
		Lettuce infectious yellows closterovirus
		Lisianthus necrosis necrovirus
		Melon rugose mosaic tymovirus
		Melothria mottle potyvirus
		Okra mosaic tymovirus
		Olive latent 1 sobemovirus
		Papaya ringspot potyvirus
		Pea streak carlavirus
		Peanut clump furovirus
		Peanut stunt cucumovirus
		Pelargonium zonate spot ourmiavirus
		Pepper Indian mottle potyvirus

		Pepper Moroccan tobusvirus
		Pepper mottle potyvirus
		Poplar mosaic carlavirus
		Prune dwarf ilarvirus
		Prunus necrotic ringspot ilarvirus
		Spring beauty latent bromovirus
		Squash leaf curl bigeminivirus
		Squash mosaic comovirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Telfairia mosaic potyvirus
		Tobacco mosaic satellivirus
		Tobacco mosaic tobamovirus
		Tobacco necrosis necrovirus
		Tobacco ringspot nepovirus
		Tobacco streak ilarvirus
		Tomato black ring nepovirus
		Tomato bushy stunt tobusvirus
		Tomato ringspot nepovirus
		Trichosanthes mottle potyvirus
		Turnip mosaic potyvirus
		Watermelon curly mottle bigeminivirus
		Watermelon Moroccan mosaic potyvirus
		Watermelon mosaic 1 potyvirus
		Watermelon mosaic 2 potyvirus
		White clover mosaic potexvirus
		Wild cucumber mosaic tymovirus
		Zucchini yellow fleck potyvirus
		Zucchini yellow mosaic potyvirus
	박과(Cucurbitaceae)	Apple stem grooving capillovirus
		Beet curly top hybrigeminivirus
	스쿼팅오이 (Ecballium elaterium)	Squash mosaic comovirus
		Zucchini yellow fleck potyvirus
	Echinocystis	Wild cucumber mosaic tymovirus
	Lagenaria cylindrica	Urd bean leaf crinkle virus
	박 (Lagenaria leucantha)	Trichosanthes mottle potyvirus
	조롱박 (Lagenaria siceraria)	Cucumber green mottle mosaic tobamovirus
		Melon necrotic spot carmovirus
		Zucchini yellow fleck potyvirus
	각수세미 (Luffa acutangula)	Cucumber leaf spot carmovirus
		Epirus cherry ourmiavirus
		Maracuja mosaic tobamovirus
		Melon Ourmia ourmiavirus
		Watermelon mosaic 1 potyvirus
		Watermelon mosaic 2 potyvirus
		Zucchini yellow mosaic potyvirus
	수세미 (Luffa cylindrica)	Trichosanthes mottle potyvirus
	Marah macrocarpus	Wild cucumber mosaic tymovirus
	Marah oreganus	Wild cucumber mosaic tymovirus
	Melothria liukuensis	Melothria mottle potyvirus
	Melothria pendula	Watermelon mosaic 1 potyvirus
		Zucchini yellow mosaic potyvirus
	Momordica balsamina	Abelia latent tymovirus
		Abutilon mosaic bigeminivirus
		Apple mosaic ilarvirus
		Cherry leaf roll nepovirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Epirus cherry ourmiavirus
		Okra mosaic tymovirus
		Olive latent 1 sobemovirus
		Prune dwarf ilarvirus
		Prunus necrotic ringspot ilarvirus

			Tobacco rattle tobavirus
			Tobacco streak ilarvirus
		여주 (Momordica charantia)	Ribgrass mosaic tobamovirus
			Trichosanthes mottle potyvirus
			Watermelon mosaic 1 potyvirus
		Telfairia occidentalis	Telfairia mosaic potyvirus
		긴열매하늘타리 (Trichosanthes anguina)	Trichosanthes mottle potyvirus
		Trichosanthes rostrata	Trichosanthes mottle potyvirus
측백나무과 (Cupressaceae)	온대 아열대 열대	미국편백 (Chamaecyparis lawsoniana)	Arabis mosaic nepovirus
소철속 (Cycadaceae)	온대 아열대 열대	소철(Cycas revoluta)	Cycas necrotic stunt nepovirus
난초과 (Cypripediaceae)	온대 아열대 열대	노란개불알꽃 (Cypripedium calceolus)	Cypripedium calceolus potyvirus
게스네리아과 (Gesneriaceae)	온대 아열대 열대	아프리카제비꽃 (Saintpaulia ionantha)	Carnation ringspot dianthovirus
			Saintpaulia leaf necrosis rhabdovirus
		글록시니아 (Sinningia speciosa)	Belladonna mottle tymovirus
			Dulcamara mottle tymovirus
Smithiantha	Tobacco necrosis necrovirus		
		Smithiantha	Smithiantha potexvirus
벼과(Gramineae)	온대 아열대 열대	에이질톱속(Aegilops)	Wheat streak mosaic rymovirus
		Aegilops cylindrica	Maize streak monogeminivirus
		Aegilops kotschyi	Barley mild mosaic bymovirus
		Aegilops searsii	Barley mild mosaic bymovirus
		Aegilops speltoides	Barley mild mosaic bymovirus
		Aegilops triaristata	Maize streak monogeminivirus
		Aegilops triuncialis	Maize streak monogeminivirus
		Aegilops umbellulata	Maize streak monogeminivirus
		Agropyron	Wheat streak mosaic rymovirus
		Agropyron sibiricum	Maize streak monogeminivirus
		흰겨이삭 (Agrostis alba)	Barley yellow dwarf luteovirus
		레드톱 (Agrostis gigantea)	Maize streak monogeminivirus
		Agrostis puchella	Cynosurus mottle sobemovirus
		애기겨이삭 (Agrostis stolonifera)	Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
			Cynosurus mottle sobemovirus
		카필라리스이삭 (Agrostis tenuis)	Cynosurus mottle sobemovirus
		뚝새풀 (Alopecurus aequalis)	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
			Echinochloa ragged stunt oryzavirus
			Rice dwarf phytoreovirus
		Alopecurus geniculatus	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
		Alopecurus japonicus	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
			Rice dwarf phytoreovirus
		큰뚝새풀 (Alopecurus pratensis)	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
			Maize streak monogeminivirus
		Andropogon gerardi	Maize streak monogeminivirus
		Anthoxanthum aristatum	Barley stripe mosaic hordeivirus
			Cocksfoot streak potyvirus
		향기풀 (Anthoxanthum odoratum)	Anthoxanthum latent blanching hordeivirus
			Anthoxanthum mosaic potyvirus
			Barley stripe mosaic hordeivirus
			Barley yellow dwarf luteovirus
			Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
	Sugarcane mosaic potyvirus		
개나래새 (Arrhenatherum elatius)	Oat sterile dwarf fivirus		
Arundinaria amabilis	Sugarcane mosaic potyvirus		
물대(Arundo donax)	Beet western yellows luteovirus		
	Maize dwarf mosaic potyvirus		
	Sugarcane mosaic potyvirus		

	귀리속(Avena)	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
		Brome streak mosaic rymovirus
	Avena byzantina	Barley yellow dwarf luteovirus
		Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
		Oat mosaic bymovirus
	메귀리(Avena fatua)	Anthoxanthum mosaic potyvirus
		Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
		Cynosurus mottle sobemovirus
		Guinea grass mosaic potyvirus
		Maize streak monogeminivirus
		Oat blue dwarf marafivirus
		Oat sterile dwarf fijivirus
	귀리(Avena sativa)	Anthoxanthum latent blanching hordeivirus
		Anthoxanthum mosaic potyvirus
		Barley mosaic virus
		Barley stripe mosaic hordeivirus
		Barley yellow dwarf luteovirus
		Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
		Bermuda grass etched-line marafivirus
		Cereal chlorotic mottle nucleorhabdovirus
		Cereal flame chlorosis virus
		Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
		Chloris striate mosaic monogeminivirus
		Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
		Cocksfoot mottle sobemovirus
		Cynosurus mottle sobemovirus
		Digitaria streak monogeminivirus
		Digitaria striate cytorhabdovirus
		Digitaria striate mosaic monogeminivirus
		Foxtail mosaic potyvirus
		Holcus streak potyvirus
		Hordeum mosaic rymovirus
		Johnsongrass mosaic potyvirus
		Maize eyespot virus
		Maize rough dwarf fijivirus
		Maize streak monogeminivirus
		Oat blue dwarf marafivirus
		Oat chlorotic stunt tombusvirus
		Oat golden stripe furovirus
		Oat mosaic bymovirus
		Oat necrotic mottle rymovirus
		Oat pseudorosette tenuivirus
		Oat sterile dwarf fijivirus
		Panicum mosaic sobemovirus
		Paspalum striate mosaic monogeminivirus
		Phleum green stripe tenuivirus
		Poa semilatifolius hordeivirus
		Rice black-streaked dwarf fijivirus
		Rice dwarf phytoreovirus
		Rice gall dwarf phytoreovirus
		Rice hoja blanca tenuivirus
		Rice stripe tenuivirus
		Ryegrass mosaic rymovirus
		Ryegrass mottle sobemovirus
		Tobacco necrosis necrovirus
		Tobacco rattle tobnavirus
		Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus
		Wheat dwarf monogeminivirus
		Wheat European striate mosaic tenuivirus
		Wheat streak mosaic rymovirus
		Wheat yellow leaf closterovirus

		Avena strigosa	Anthoxanthum mosaic potyvirus
			Barley yellow dwarf luteovirus
			Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
			Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
			Cocksfoot streak potyvirus
			Holcus streak potyvirus
			Oat mosaic bymovirus
			Wheat dwarf monogeminivirus
		Axonopus compressus	Rice tungro spherical waikavirus
		Bambusa beecheyana	Bamboo mosaic potexvirus
		Bambusa edulis	Bamboo mosaic potexvirus
		Bambusa multiplex	Bamboo mosaic potexvirus
		올덤 대나무 (Bambusa oldhamii)	Bamboo mosaic potexvirus
		밤부사 불가리스 (Bambusa vulgaris)	Bamboo mosaic potexvirus
		개피 (Beckmannia syzigachne)	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
		Bothriochloa alta	Maize streak monogeminivirus
		Brachiaria eruciformis	Maize streak monogeminivirus
		Brachiaria miliiformis	Digitaria striate cytorhabdovirus
			Johnsongrass mosaic potyvirus
		Brachiaria mutica	Rice tungro spherical waikavirus
		Brachiaria ramosa	Mung bean yellow mosaic bigeminivirus
		Brachiaria reptens	Maize streak monogeminivirus
		방울새풀속(Briza)	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
		새귀리속(Bromus)	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
			Brome streak mosaic rymovirus
			Wheat streak mosaic rymovirus
		Bromus aleutensis	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
		Bromus arvensis	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
		Bromus catharticus	Paspalum striate mosaic monogeminivirus
		Bromus commutatus	Wheat soil-borne mosaic furovirus
		좁쌀새귀리 (Bromus inermis)	Barley yellow dwarf luteovirus
			Bermuda grass etched-line marafivirus
			Brome mosaic bromovirus
			Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
			Foxtail mosaic potexvirus
			Maize chlorotic mottle machlomovirus
			Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus
		Bromus macrostachys	Guinea grass mosaic potyvirus
			Holcus streak potyvirus
		털참새귀리 (Bromus mollis)	Barley yellow dwarf luteovirus
			Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
			Brome streak mosaic rymovirus
Cocksfoot mild mosaic sobemovirus			
Cocksfoot streak potyvirus			
Holcus streak potyvirus			
Maize chlorotic mottle machlomovirus			
Maize dwarf mosaic potyvirus			
Ryegrass mosaic rymovirus			
Bromus racemosus	Barley yellow dwarf luteovirus		
	Cocksfoot mild mosaic sobemovirus		
	Maize chlorotic mottle machlomovirus		
Bromus rigidus	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus		
Bromus secalinus	Agropyron mosaic rymovirus		
	Barley stripe mosaic hordeivirus		
	Barley yellow dwarf luteovirus		

		Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
		Cynosurus mottle sobemovirus
		Maize chlorotic mottle machlomovirus
		Maize dwarf mosaic potyvirus
		Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus
		Wheat dwarf monogeminivirus
	브로머스 스테릴리스 (<i>Bromus sterilis</i>)	Guinea grass mosaic potyvirus
		Maize eyespot virus
	털빚새귀리 <i>Bromus tectorum</i>	Barley stripe mosaic hordeivirus
		Barley yellow dwarf luteovirus
		Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
		Maize chlorotic mottle machlomovirus
		Maize dwarf mosaic potyvirus
		Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus
		Wheat soil-borne mosaic furovirus
	<i>Bromus uniloides</i>	Maize streak monogeminivirus
	<i>Calamagrostis canadensis</i>	Maize streak monogeminivirus
	산조풀 (<i>Calamagrostis epigejos</i>)	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
	<i>Cenchrus argentea</i>	Maize streak monogeminivirus
	버펄그라스 (<i>Cenchrus ciliaris</i>)	Johnsongrass mosaic potyvirus
	<i>Cenchrus cucullata</i>	Maize streak monogeminivirus
	미국가시풀 (<i>Cenchrus echinatus</i>)	Maize streak monogeminivirus
		Sugarcane streak monogeminivirus
	<i>Cenchrus gayana</i>	Maize streak monogeminivirus
		Sugarcane streak monogeminivirus
	<i>Cenchrus radiata</i>	Maize streak monogeminivirus
	<i>Cenchrus submutica</i>	Maize streak monogeminivirus
	<i>Cenchrus virgata</i>	Maize streak monogeminivirus
	클로리스 가야나 (<i>Chloris gayana</i>)	Barley yellow dwarf luteovirus
		Chloris striate mosaic monogeminivirus
		Digitaria striate mosaic monogeminivirus
		Maize dwarf mosaic potyvirus
		Maize streak monogeminivirus
		Paspalum striate mosaic monogeminivirus
	나도바랭이 (<i>Chloris virgata</i>)	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
	염주 (<i>Coix lacryma-jobi</i>)	Maize streak monogeminivirus
	<i>Cymbopogon distans</i>	Maize streak monogeminivirus
	<i>Cymbopogon schoenanthus</i>	Maize streak monogeminivirus
	우산잔디 (<i>Cynodon dactylon</i>)	Bermuda grass etched-line marafivirus
		Cynodon chlorotic streak nucleorhabdovirus
		Cynodon mosaic carlavirus
		Foxtail mosaic potyvirus
		Maize dwarf mosaic potyvirus
		Maize rough dwarf fijivirus
		Maize streak monogeminivirus
		Rice grassy stunt tenuivirus
		Rice stripe tenuivirus
		Rice tungro spherical waikavirus
		Sugarcane mosaic potyvirus
	빛살재 (<i>Cynosurus cristatus</i>)	Cynosurus mottle sobemovirus
		Oat sterile dwarf fijivirus
	<i>Dactylis</i>	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
	오리새 (<i>Dactylis glomerata</i>)	Barley stripe mosaic hordeivirus
		Barley yellow dwarf luteovirus
		Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
		Chloris striate mosaic monogeminivirus

		Cocksfoot alphacryptovirus
		Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
		Cocksfoot mottle sobemovirus
		Cocksfoot streak potyvirus
		Rice stripe tenuivirus
		Ryegrass mosaic rymovirus
		Ryegrass mottle sobemovirus
	해변왕바랭이 (<i>Dactyloctenium aegyptium</i>)	Digitaria striate mosaic monogeminivirus
		Paspalum striate mosaic monogeminivirus
	맞추대나무 (<i>Dendrocalamus latiflorus</i>)	Bamboo mosaic potexvirus
	디지타리아(<i>Digitaria</i>)	Rice hoja blanca tenuivirus
		Wheat streak mosaic rymovirus
	<i>Digitaria abyssinica</i>	Maize streak monogeminivirus
	<i>Digitaria adscendens</i>	Rice stripe tenuivirus
	바랭이 (<i>Digitaria ciliaris</i>)	Cereal chlorotic mottle nucleorhabdovirus
		Digitaria striate cytorhabdovirus
		Rice tungro spherical waikavirus
	디기타리아 데쿰벤스 (<i>Digitaria decumbens</i>)	Digitaria striate cytorhabdovirus
		Pangola stunt fijivirus
		Sugarcane mosaic potyvirus
	<i>Digitaria didactyla</i>	Digitaria striate mosaic monogeminivirus
	<i>Digitaria enantha</i>	Maize streak monogeminivirus
	<i>Digitaria horizontalis</i>	Digitaria horizontalis
	<i>Digitaria longiflora</i>	Maize streak monogeminivirus
		Pangola stunt fijivirus
	<i>Digitaria marginata</i>	Maize streak monogeminivirus
	<i>Digitaria milanjana</i>	Maize streak monogeminivirus
	<i>Digitaria pentzii</i>	Pangola stunt fijivirus
	유럽바랭이 (<i>Digitaria sanguinalis</i>)	Digitaria striate cytorhabdovirus
		Maize chlorotic dwarf waikavirus
		Maize rough dwarf fijivirus
		Maize streak monogeminivirus
		Maize white line mosaic virus
	<i>Digitaria setigera</i>	Digitaria streak monogeminivirus
	<i>Digitaria setivalvola</i>	Pangola stunt fijivirus
	<i>Digitaria ternata</i>	Maize streak monogeminivirus
	<i>Digitaria valida</i>	Pangola stunt fijivirus
	<i>Digitaria velutina</i>	Maize streak monogeminivirus
	민바랭이 (<i>Digitaria violascens</i>)	Rice stripe tenuivirus
	<i>Dinebra retroflexa</i>	Cereal chlorotic mottle nucleorhabdovirus
		Digitaria striate cytorhabdovirus
		Rice yellow mottle sobemovirus
	갯드렁새 (<i>Diplachne fusca</i>)	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
	들피(<i>Echinochloa</i>)	Maize Iranian mosaic nucleorhabdovirus
		Wheat streak mosaic rymovirus
	열대피 (<i>Echinochloa colona</i>)	Cereal chlorotic mottle nucleorhabdovirus
		Rice grassy stunt tenuivirus
		Rice tungro spherical waikavirus
	<i>Echinochloa crus-galli</i>	Barley stripe mosaic hordeivirus
		Barley yellow streak mosaic virus
		Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
		Echinochloa ragged stunt oryzavirus
		Guinea grass mosaic potyvirus
		Hordeum mosaic rymovirus
		Johnsongrass mosaic potyvirus
		Maize dwarf mosaic potyvirus
		Maize rough dwarf fijivirus
		Rice dwarf phytoreovirus
		Sugarcane mosaic potyvirus

		Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus
	Echinochloa crus-galli var. formosensis	Echinochloa ragged stunt oryzavirus
	강피 (Echinochloa crus-galli var. oryzicola)	Echinochloa ragged stunt oryzavirus
	Echinochloa polystachya	Maize streak monogeminivirus
	Eleusine africana	Maize streak monogeminivirus
	엘류시네 코라카나 (Eleusine coracana)	Cereal chlorotic mottle nucleorhabdovirus
		Chloris striate mosaic monogeminivirus
		Echinochloa ragged stunt oryzavirus
		Finger millet mosaic nucleorhabdovirus
		Guinea grass mosaic potyvirus
		Johnsongrass mosaic potyvirus
		Maize dwarf mosaic potyvirus
		Maize streak monogeminivirus
		Sugarcane mosaic potyvirus
		왕바랭이 (Eleusine indica)
	Maize streak monogeminivirus	
	Rice tungro bacilliform badnavirus	
	Rice tungro spherical waikavirus	
	Sugarcane streak monogeminivirus	
	Elymus canadensis	Hordeum mosaic rymovirus
	Elymus trachycaulus	Hordeum mosaic rymovirus
		Poa semilatifolius hordeivirus
	Elymus virginicus	Hordeum mosaic rymovirus
	Elytrigia intermedia	Agropyron mosaic rymovirus
		Barley stripe mosaic hordeivirus
		Barley yellow dwarf luteovirus
	구주개밀 (Elytrigia repens)	Agropyron mosaic rymovirus
		Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
		Maize streak monogeminivirus
		Sugarcane mosaic potyvirus
	그령속(Eragrostis)	Wheat streak mosaic rymovirus
	테프 (Eragrostis abyssinica)	Maize streak monogeminivirus
	Eragrostis aspera	Maize streak monogeminivirus
	참새그령 (Eragrostis cilianensis)	Barley stripe mosaic hordeivirus
		Cereal chlorotic mottle nucleorhabdovirus
		Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
		Johnsongrass mosaic potyvirus
		Sugarcane mosaic potyvirus
		Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus
	Eragrostis ciliaris	Maize streak monogeminivirus
	능수참새그령 (Eragrostis curvula)	Maize streak monogeminivirus
	비노리 (Eragrostis multicaulis)	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
	Eragrostis multiflorum	Rice stripe tenuivirus
	큰비노리 (Eragrostis pilosa)	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
	좁새그령(Eragrostis poaeoides)	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
	Eragrostis tenella	Rice tungro spherical waikavirus
	Eragrostis valida	Maize streak monogeminivirus
	외대쇠치기아재비 (Eremochloa ophiuroides)	Panicum mosaic sobemovirus
	Eremopyrum hirsutum	Barley mild mosaic bymovirus
	Euchlaena mexicana	Maize streak monogeminivirus
	큰김의털 (Festuca arundinacea)	Bermuda grass etched-line marafivirus
		Maize streak monogeminivirus
	Festuca elatior	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
	Festuca gigantea	Festuca leaf streak cytorhabdovirus

		넓은김의털 (Festuca pratensis)	Barley stripe mosaic hordeivirus
			Barley yellow dwarf luteovirus
			Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
			Fescue alphacryptovirus
			Festuca necrosis closterovirus
			Oat sterile dwarf fijivirus
			Ryegrass mosaic rymovirus
		왕김의털 (Festuca rubra)	Ryegrass mottle sobemovirus
		글리세리아 플루이탄스 (Glyceria fluitans)	Maize streak monogeminivirus
		Heteropogon contortus	Maize streak monogeminivirus
		흰털새 (Holcus lanatus)	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
			Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
			Holcus lanatus yellowing rhabdovirus
			Holcus streak potyvirus
			Maize streak monogeminivirus
		Oat sterile dwarf fijivirus	
		Holcus mollis	Holcus streak potyvirus
		보리속(Hordeum)	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
			Brome streak mosaic rymovirus
			Wheat streak mosaic rymovirus
		홀데움 주바툼 (Hordeum jubatum)	Hordeum mosaic rymovirus
			Oat blue dwarf marafivirus
		보리풀 (Hordeum murinum)	Brome streak mosaic rymovirus
		보리 (Hordeum sativum)	Rice dwarf phytoereovirus
		여섯줄 보리 (Hordeum vulgare)	Abelia latent tymovirus
			Agropyron mosaic rymovirus
			Anthoxanthum latent blanching hordeivirus
			Anthoxanthum mosaic potyvirus
			Barley dubia tenuivirus
			Barley mild mosaic bymovirus
			Barley mosaic virus
			Barley stripe mosaic hordeivirus
			Barley yellow dwarf luteovirus
			Barley yellow mosaic bymovirus
			Barley yellow streak mosaic virus
			Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
			Brome mosaic bromovirus
			Brome streak mosaic rymovirus
			Cereal chlorotic mottle nucleorhabdovirus
			Cereal flame chlorosis virus
			Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
			Chloris striate mosaic monogeminivirus
Cocksfoot mild mosaic sobemovirus			
Cocksfoot mottle sobemovirus			
Cynosurus mottle sobemovirus			
Digitaria streak monogeminivirus			
Digitaria striate cytorhabdovirus			
Digitaria striate mosaic monogeminivirus			
Foxtail mosaic potexvirus			
Hordeum mosaic rymovirus			
Maize chlorotic mottle machlomovirus			
Maize eyespot virus			
Maize Iranian mosaic nucleorhabdovirus			
Maize rough dwarf fijivirus			
Maize streak monogeminivirus			
Maize stripe tenuivirus			
Maize yellow stripe tenuivirus			
Oat blue dwarf marafivirus			

		Oat sterile dwarf fijivirus
		Panicum mosaic sobemovirus
		Paspalum striate mosaic monogeminivirus
		Phleum green stripe tenuivirus
		Poa semilatifolius hordeivirus
		Ribgrass mosaic tobamovirus
		Rice black-streaked dwarf fijivirus
		Rice dwarf phyto-reovirus
		Rice gall dwarf phyto-reovirus
		Rice hoja blanca tenuivirus
		Rice ragged stunt oryzavirus
		Rice stripe tenuivirus
		Ryegrass mottle sobemovirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Sugarcane mosaic potyvirus
		Tobacco necrosis necrovirus
		Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus
		Wheat dwarf monogeminivirus
		Wheat European striate mosaic tenuivirus
		Wheat soil-borne mosaic furovirus
		Wheat streak mosaic rymovirus
		Wheat yellow leaf closterovirus
	Hyparrhenia rufa	Maize streak monogeminivirus
	Imperata arundinacea	Maize streak monogeminivirus
	띠 (Imperata cylindrica)	Echinochloa ragged stunt oryzavirus
		Rice tungro spherical waikavirus
		Sugarcane mosaic potyvirus
	Imperata cylindrica var. major	Echinochloa ragged stunt oryzavirus
	기장대풀 (Isachne globosa)	Isachne mosaic potyvirus
	Ixophorus unisetus	Chloris striate mosaic monogeminivirus
	Lagurus	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
	라그러스 오바투스 (Lagurus ovatus)	Anthoxanthum latent blanching hordeivirus
		Anthoxanthum mosaic potyvirus
		Barley mild mosaic bymovirus
		Barley stripe mosaic hordeivirus
		Cocksfoot streak potyvirus
		Cynosurus mottle sobemovirus
		Foxtail mosaic potyvirus
		Maize dwarf mosaic potyvirus
		Oat sterile dwarf fijivirus
		Wheat dwarf monogeminivirus
	Lamarckia aurea	Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
		Cocksfoot streak potyvirus
	Leersia hexandra	Rice grassy stunt tenuivirus
		Rice tungro bacilliform badnavirus
		Rice tungro spherical waikavirus
	드렁새속(Leptochloa)	Rice hoja blanca tenuivirus
	Leptochloa filliformis	Cereal chlorotic mottle nucleorhabdovirus
		Digitaria striate mosaic monogeminivirus
		Paspalum striate mosaic monogeminivirus
	Leptochloa virgata	Maize streak monogeminivirus
	쥐보리속(Lolium)	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
		Wheat streak mosaic rymovirus
	쥐보리 (Lolium multiflorum)	Agropyron mosaic rymovirus
		Barley stripe mosaic hordeivirus
		Barley yellow dwarf luteovirus
		Canary reed mosaic potyvirus
		Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
		Cocksfoot mild mosaic sobemovirus

			Cocksfoot streak potyvirus
			Digitaria striate cytorhabdovirus
			Digitaria striate mosaic monogeminivirus
			Echinochloa ragged stunt oryzavirus
			Festuca necrosis closterovirus
			Hordeum mosaic rymovirus
			Maize streak monogeminivirus
			Oat sterile dwarf fijivirus
			Poa semilatifolius hordeivirus
			Rice gall dwarf phyto-reovirus
			Ryegrass alphacryptovirus
			Ryegrass mosaic rymovirus
			Ryegrass mottle sobemovirus
			Strawberry latent ringspot nepovirus
			Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus
			Wheat dwarf monogeminivirus
			Wheat European striate mosaic tenuivirus
			Wheat yellow leaf closterovirus
		Lolium multiflorum x L. perenne	Cynosurus mottle sobemovirus
			Ryegrass alphacryptovirus
			Ryegrass bacilliform nucleorhabdovirus
			Ryegrass mosaic rymovirus
		호밀풀 (Lolium perenne)	Barley stripe mosaic hordeivirus
			Barley yellow dwarf luteovirus
			Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
			Cocksfoot streak potyvirus
			Cynosurus mottle sobemovirus
			Maize rough dwarf fijivirus
			Maize streak monogeminivirus
			Oat sterile dwarf fijivirus
			Rice stripe tenuivirus
			Ryegrass alphacryptovirus
			Ryegrass bacilliform nucleorhabdovirus
			Ryegrass mosaic rymovirus
			Ryegrass mottle sobemovirus
			Sugarcane mosaic potyvirus
			Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus
			Wheat dwarf monogeminivirus
			Wheat European striate mosaic tenuivirus
			Wheat yellow leaf closterovirus
		Lolium persicum	Barley stripe mosaic hordeivirus
			Barley yellow streak mosaic virus
			Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
		Lolium remotum	Wheat dwarf monogeminivirus
		Lolium subulatum	Maize streak monogeminivirus
		독보리 (Lolium temulentum)	Barley stripe mosaic hordeivirus
			Barley yellow dwarf luteovirus
			Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
			Oat sterile dwarf fijivirus
			Wheat dwarf monogeminivirus
		Lolium vulgare	Digitaria striate cytorhabdovirus
		Lophopyrum elongatum	Agropyron mosaic rymovirus
			Barley stripe mosaic hordeivirus
			Foxtail mosaic potyvirus
		물억새 (Miscanthus sacchariflorus)	Miscanthus streak monogeminivirus
		Muhlenbergia schreberi	Panicum mosaic sobemovirus
		가지주름조개풀 (Oplismenus compositus)	Sugarcane mosaic potyvirus
		Oryza australiensis	Rice tungro bacilliform badnavirus
			Rice tungro spherical waikavirus

Oryza barthii	Rice tungro bacilliform badnavirus
	Rice tungro spherical waikavirus
	Rice yellow mottle sobemovirus
Oryza cubensis	Rice dwarf phytoeovirus
아프리카벼 (Oryza glaberrima)	Rice tungro bacilliform badnavirus
	Rice tungro spherical waikavirus
Oryza latifolia	Rice ragged stunt oryzavirus
	Rice tungro bacilliform badnavirus
	Rice tungro spherical waikavirus
Oryza longistaminata	Rice tungro bacilliform badnavirus
	Rice tungro spherical waikavirus
	Rice yellow mottle sobemovirus
오리자 니바라 (Oryza nivara)	Rice ragged stunt oryzavirus
	Rice tungro bacilliform badnavirus
	Rice tungro spherical waikavirus
오리자 페레니스 (Oryza perennis)	Rice tungro bacilliform badnavirus
	Rice tungro spherical waikavirus
Oryza punctata	Rice grassy stunt tenuivirus
	Rice yellow mottle sobemovirus
벼(Oryza sativa)	Barley stripe mosaic hordeivirus
	Barley yellow dwarf luteovirus
	Cymbidium mosaic potexvirus
	Echinochloa ragged stunt oryzavirus
	Foxtail mosaic potexvirus
	Maize dwarf mosaic potyvirus
	Maize rough dwarf fijivirus
	Rice black-streaked dwarf fijivirus
	Rice bunchy stunt phytoeovirus
	Rice dwarf phytoeovirus
	Rice gall dwarf phytoeovirus
	Rice grassy stunt tenuivirus
	Rice hoja blanca tenuivirus
	Rice necrosis mosaic bymovirus
	Rice ragged stunt oryzavirus
	Rice stripe necrosis furovirus
	Rice stripe tenuivirus
	Rice transitory yellowing nucleorhabdovirus
	Rice tungro bacilliform badnavirus
	Rice tungro spherical waikavirus
	Rice yellow mottle sobemovirus
	Ryegrass mosaic rymovirus
	Sugarcane mosaic potyvirus
Oryza sativa var. japonica	Rice black-streaked dwarf fijivirus
	Rice stripe tenuivirus
	Rice transitory yellowing nucleorhabdovirus
Oryzopsis miliacea	Barley stripe mosaic hordeivirus
기장속(Panicum)	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
	Wheat streak mosaic rymovirus
Panicum bergii	Maize streak monogeminivirus
개기장 (Panicum bisulcatum)	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
Panicum capillare	Barley stripe mosaic hordeivirus
	Foxtail mosaic potexvirus
	Johnsongrass mosaic potyvirus
	Maize chlorotic mottle machlomovirus
	Maize dwarf mosaic potyvirus
	Sugarcane mosaic potyvirus
Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus	
Panicum coloratum	Maize streak monogeminivirus
미국개기장 (Panicum dichotomiflorum)	Barley yellow dwarf luteovirus
	Maize chlorotic mottle machlomovirus
	Maize white line mosaic virus

			Panicum mosaic sobemovirus
		Panicum hallii	Maize streak monogeminivirus
		Panicum maximum	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
			Foxtail mosaic potyvirus
			Guinea grass mosaic potyvirus
			Maize chlorotic mottle machlomovirus
			Maize dwarf mosaic potyvirus
			Maize streak monogeminivirus
			Panicum streak monogeminivirus
		기장 (Panicum miliaceum)	Barley stripe mosaic hordeivirus
			Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
			Foxtail mosaic potyvirus
			Johnsongrass mosaic potyvirus
			Maize chlorotic dwarf waikavirus
			Maize chlorotic mottle machlomovirus
			Maize dwarf mosaic potyvirus
			Maize streak monogeminivirus
			Panicum mosaic sobemovirus
			Rice dwarf phytoreovirus
		Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus	
		Panicum texanum	Maize streak monogeminivirus
		지팡이풀 (Panicum virgatum)	Maize streak monogeminivirus
			Panicum mosaic satellivirus
			Panicum mosaic sobemovirus
		Paspalum alnum	Maize streak monogeminivirus
		Paspalum conjugatum	Paspalum striate mosaic monogeminivirus
		파스팔룸 딜라타툼 (Paspalum dilatatum)	Barley yellow dwarf luteovirus
			Maize dwarf mosaic potyvirus
			Paspalum striate mosaic monogeminivirus
			Sugarcane mosaic potyvirus
		Paspalum membranaceum	Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
			Cocksfoot streak potyvirus
		바히아그래스 (Paspalum notatum)	Maize streak monogeminivirus
		Paspalum orbiculare	Johnsongrass mosaic potyvirus
		Paspalum scrobiculatum	Maize streak monogeminivirus
			Paspalum striate mosaic monogeminivirus
		참새피 (Paspalum thumbergii)	Rice dwarf phytoreovirus
		Paspalum urvillei	Maize streak monogeminivirus
		수크령 (Pennisetum alopecuroides)	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
		진주조 (Pennisetum americanum)	Guinea grass mosaic potyvirus
		펜니세툼 클란데스티눔 (Pennisetum clandestinum)	Maize streak monogeminivirus
		진주조 (Pennisetum glaucum)	Maize chlorotic dwarf waikavirus
		Pennisetum pedicellatum	Cynodon mosaic carlavirus
		펜니세툼 푸르푸레움 (Pennisetum purpureum)	Maize streak monogeminivirus
		Pennisetum typhoides	Johnsongrass mosaic potyvirus
		갈풀속(Phalaris)	Wheat streak mosaic rymovirus
		갈풀 (Phalaris arundinacea)	Barley stripe mosaic hordeivirus
			Barley yellow dwarf luteovirus
			Canary reed mosaic potyvirus
			Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
			Foxtail mosaic potyvirus
		카나리새풀 (Phalaris canariensis)	Oat sterile dwarf fijivirus
		날개카나리새풀 (Phalaris paradoxa)	Barley stripe mosaic hordeivirus
			Cocksfoot streak potyvirus
			Holcus streak potyvirus

		Maize dwarf mosaic potyvirus
		Sugarcane mosaic potyvirus
	산조아재비속(Phleum)	Phleum green stripe tenuivirus
	Phleum arenarium	Barley stripe mosaic hordeivirus
		Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
		Cynosurus mottle sobemovirus
		Rice yellow mottle sobemovirus
	Phleum paniculatum	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
	큰조아재비 (Phleum pratense)	Barley stripe mosaic hordeivirus
		Barley yellow dwarf luteovirus
		Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
		Foxtail mosaic potexvirus
		Phleum green stripe tenuivirus
		Poa semilatifolius hordeivirus
		Rice stripe tenuivirus
	갈대 (Phragmites australis)	Sugarcane mosaic potyvirus
	오죽 (Phyllostachys nigra)	Bamboo mosaic potexvirus
	Pleioblastus chino	Pleioblastus chino potyvirus
	Poa	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
		Wheat streak mosaic rymovirus
	새 포아풀(Poa annua)	Barley stripe mosaic hordeivirus
		Barley yellow dwarf luteovirus
		Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
		Cynosurus mottle sobemovirus
		Oat sterile dwarf fijivirus
		Rice dwarf phytoreovirus
		Strawberry latent ringspot nepovirus
		Wheat dwarf monogeminivirus
	Poa canadensis	Oat necrotic mottle rymovirus
	좁포아풀 (Poa compressa)	Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
		Poa semilatifolius hordeivirus
		Wheat streak mosaic rymovirus
	Poa palustris	Hordeum mosaic rymovirus
		Poa semilatifolius hordeivirus
	왕포아풀 (Poa pratensis)	Agropyron mosaic rymovirus
		Barley stripe mosaic hordeivirus
		Barley yellow dwarf luteovirus
		Foxtail mosaic potexvirus
		Oat necrotic mottle rymovirus
	큰새 포아풀 (Poa trivialis)	Barley yellow dwarf luteovirus
		Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
	쇠돌피 (Polypogon fugax)	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
	Rottboellia cochinchinensis	Rottboellia yellow mottle sobemovirus
	Rottboellia exaltata	Maize dwarf mosaic potyvirus
		Maize mosaic nucleorhabdovirus
		Maize streak monogeminivirus
		Maize stripe tenuivirus
	개사탕수수속 (Saccharum)	Maize streak monogeminivirus
	사탕수수 (Saccharum officinarum)	Maize dwarf mosaic potyvirus
		Sorghum mosaic potyvirus
		Sugarcane bacilliform badnavirus
		Sugarcane Fiji disease fijivirus
		Sugarcane mosaic potyvirus
		Sugarcane streak monogeminivirus
	좁물뚝새 (Sacciolepis indica)	Maize dwarf mosaic potyvirus
		Sugarcane mosaic potyvirus
	Schedonnardus paniculatus	Maize streak monogeminivirus
	앤드로포곤즈 스코파리우스 (Schizachrium scoparium)	Maize streak monogeminivirus

	호밀속(<i>Secale</i>)	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
	호밀(<i>Secale cereale</i>)	Agropyron mosaic rymovirus
		Barley stripe mosaic hordeivirus
		Barley yellow dwarf luteovirus
		Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
		Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
		Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
		Cynosurus mottle sobemovirus
		Foxtail mosaic potyvirus
		Hordeum mosaic rymovirus
		Maize rough dwarf fijivirus
		Maize streak monogeminivirus
		Maize stripe tenuivirus
		Oat blue dwarf marafivirus
		Oat sterile dwarf fijivirus
		Panicum mosaic sobemovirus
		Poa semilatifolius hordeivirus
		Rice dwarf phytoreovirus
		Rice gall dwarf phytoreovirus
		Rice hoja blanca tenuivirus
		Rice stripe tenuivirus
		Ryegrass mottle sobemovirus
		Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus
		Wheat dwarf monogeminivirus
		Wheat European striate mosaic tenuivirus
		Wheat soil-borne mosaic furovirus
		Wheat spindle streak mosaic bymovirus
	Wheat streak mosaic rymovirus	
	Wheat yellow leaf closterovirus	
	Wheat yellow mosaic bymovirus	
	강아지풀속(<i>Setaria</i>)	Wheat streak mosaic rymovirus
	<i>Setaria chevalieri</i>	Maize streak monogeminivirus
	가을강아지풀(<i>Setaria faberi</i>)	Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
		Maize chlorotic dwarf waikavirus
		Maize streak monogeminivirus
		Maize white line mosaic virus
	<i>Setaria halepense</i>	Maize chlorotic dwarf waikavirus
	<i>Setaria homonyma</i>	Maize streak monogeminivirus
	조(<i>Setaria italica</i>)	Barley stripe mosaic hordeivirus
		Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
		Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
		Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
		Digitaria striate mosaic monogeminivirus
		Echinochloa ragged stunt oryzavirus
		Foxtail mosaic potyvirus
		Guinea grass mosaic potyvirus
		Johnsongrass mosaic potyvirus
		Maize dwarf mosaic potyvirus
		Maize rough dwarf fijivirus
		Maize streak monogeminivirus
		Millet red leaf luteovirus
		Panicum mosaic sobemovirus
		Peanut clump furovirus
		Rice stripe tenuivirus
		Ryegrass mottle sobemovirus
	Sugarcane mosaic potyvirus	
	주름금강아지풀(<i>Setaria lutescens</i>)	Maize chlorotic dwarf waikavirus
	<i>Setaria macrostachya</i>	Barley stripe mosaic hordeivirus
		Cocksfoot streak potyvirus

	<i>Setaria pallidifusca</i>	Maize streak monogeminivirus
	<i>Setaria verticillata</i>	Cereal chlorotic mottle nucleorhabdovirus
		Maize rough dwarf fijivirus
		Maize streak monogeminivirus
	강아지풀 (<i>Setaria viridis</i>)	Agropyron mosaic rymovirus
		Barley stripe mosaic hordeivirus
		Barley yellow streak mosaic virus
		Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
		Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
		Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
		Cocksfoot streak potyvirus
		Foxtail mosaic potexvirus
		Johnsongrass mosaic potyvirus
		Maize dwarf mosaic potyvirus
		Maize streak monogeminivirus
		Maize white line mosaic virus
		Rice stripe tenuivirus
		Sugarcane mosaic potyvirus
		Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus
	<i>Setaria vulpiseta</i>	Maize mosaic nucleorhabdovirus
	황금수염풀 (<i>Sorghastrum nutans</i>)	Maize streak monogeminivirus
	<i>Sorghum arundinaceum</i>	Peanut clump furovirus
	수수 (<i>Sorghum bicolor</i>)	Barley stripe mosaic hordeivirus
		Bermuda grass etched-line marafivirus
		Cassia mild mosaic carlavirus
		Cynodon mosaic carlavirus
		Foxtail mosaic potexvirus
		Johnsongrass mosaic potyvirus
		Maize chlorotic dwarf waikavirus
		Maize dwarf mosaic potyvirus
		Maize mosaic nucleorhabdovirus
		Maize streak monogeminivirus
		Maize stripe tenuivirus
		Maize yellow stripe tenuivirus
		Panicum mosaic sobemovirus
		Peanut clump furovirus
		Sorghum chlorotic spot furovirus
		Sorghum mosaic potyvirus
		Sugarcane Fiji disease fijivirus
		Sugarcane mosaic potyvirus
	<i>Sorghum genotypes</i>	Sugarcane mosaic potyvirus
	시리아수수새 (<i>Sorghum halepense</i>)	Bermuda grass etched-line marafivirus
		Johnsongrass chlorotic stripe carmovirus
		Johnsongrass mosaic potyvirus
		Maize chlorotic dwarf waikavirus
		Maize dwarf mosaic potyvirus
		Sugarcane mosaic potyvirus
	<i>Sorghum laxiflorum</i>	Johnsongrass mosaic potyvirus
	<i>Sorghum macrospermum</i>	Johnsongrass mosaic potyvirus
	<i>Sorghum miliaceum</i>	Johnsongrass mosaic potyvirus
	<i>Sorghum stipoideum</i>	Johnsongrass mosaic potyvirus
	<i>Sorghum sudanense</i>	Johnsongrass mosaic potyvirus
		Maize Iranian mosaic nucleorhabdovirus
		Maize streak monogeminivirus
	<i>Sorghum verticilliflorum</i>	Johnsongrass mosaic potyvirus
	수수 (<i>Sorghum vulgare</i>)	Johnsongrass mosaic potyvirus
		Maize yellow stripe tenuivirus
		Sorghum stunt mosaic nucleorhabdovirus
	<i>Sorghum vulgare</i> var. <i>sudanense</i>	Maize chlorotic dwarf waikavirus
	<i>Sorghum x alnum</i>	Johnsongrass mosaic potyvirus

		<i>Spartina alternifolia</i>	<i>Spartina mottle rymovirus</i>
		<i>Spartina anglica</i>	<i>Spartina mottle rymovirus</i>
		<i>Spartina glabra</i>	<i>Spartina mottle rymovirus</i>
		스파르티나 마리티마 (<i>Spartina maritima</i>)	<i>Spartina mottle rymovirus</i>
		<i>Spartina townsendii</i>	<i>Spartina mottle rymovirus</i>
		세인트 어거스틴그래스 (<i>Stenotaphrum secundatum</i>)	Guinea grass mosaic potyvirus Panicum mosaic sobemovirus
		나래새속(<i>Stipa</i>)	Wheat streak mosaic rymovirus
		<i>Trichachne californica</i>	Maize streak monogeminivirus
		<i>Trichloris crinita</i>	Maize streak monogeminivirus
		<i>Trichloris pluriflora</i>	Maize streak monogeminivirus
		잠자리피속(<i>Trisetum</i>)	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
		<i>Triticum</i>	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus Brome streak mosaic rymovirus
		밀(<i>Triticum aestivum</i>)	Agropyron mosaic rymovirus Anthoxanthum mosaic potyvirus Barley mosaic virus Barley stripe mosaic hordeivirus Barley yellow dwarf luteovirus Barley yellow streak mosaic virus Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus Brome streak mosaic rymovirus Cereal chlorotic mottle nucleorhabdovirus Cereal flame chlorosis virus Cereal northern mosaic cytorhabdovirus Chloris striate mosaic monogeminivirus Cocksfoot mild mosaic sobemovirus Cocksfoot mottle sobemovirus Cynosurus mottle sobemovirus Digitaria striate mosaic monogeminivirus Echinochloa ragged stunt oryzavirus Foxtail mosaic potyvirus Hordeum mosaic rymovirus Maize chlorotic dwarf waikavirus Maize chlorotic mottle machlomovirus Maize eyespot virus Maize rough dwarf fijivirus Maize streak monogeminivirus Maize yellow stripe tenuivirus Oat blue dwarf marafivirus Oat mosaic bymovirus Oat sterile dwarf fijivirus Panicum mosaic sobemovirus Paspalum striate mosaic monogeminivirus Peanut clump furovirus Phleum green stripe tenuivirus Physalis mosaic tymovirus Poa semilatifolius hordeivirus Ribgrass mosaic tobamovirus Rice black-streaked dwarf fijivirus Rice dwarf phytoreovirus Rice gall dwarf phytoreovirus Rice hoja blanca tenuivirus Rice stripe tenuivirus Ryegrass mosaic rymovirus Ryegrass mottle sobemovirus Sorghum stunt mosaic nucleorhabdovirus Tobacco necrosis necrovirus Wheat chlorotic spot rhabdovirus

		Wheat dwarf monogeminivirus
		Wheat European striate mosaic tenuivirus
		Wheat Iranian stripe tenuivirus
		Wheat soil-borne mosaic furovirus
		Wheat spindle streak mosaic bymovirus
		Wheat streak mosaic rymovirus
		Wheat yellow leaf closterovirus
		Wheat yellow mosaic bymovirus
		Winter wheat Russian mosaic cytorhabdovirus
	Triticum compactum	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
	엠머밀 (Triticum dicoccum)	Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus
	듀럼밀 (Triticum durum)	Agropyron mosaic rymovirus
		Barley stripe mosaic hordeivirus
		Barley yellow dwarf luteovirus
		Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
		Bermuda grass etched-line marafivirus
		Cereal flame chlorosis virus
		Foxtail mosaic potexvirus
		Hordeum mosaic rymovirus
		Maize eyespot virus
		Oat blue dwarf marafivirus
		Panicum mosaic sobemovirus
		Poa semilatifolius hordeivirus
		Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus
		Wheat dwarf monogeminivirus
		Wheat spindle streak mosaic bymovirus
	밀(Triticum sativum)	Rice black-streaked dwarf fijivirus
	트리티쿰 유포 (Triticum vulgare)	Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus
	Urochloa helopus	Maize streak monogeminivirus
	Urochloa panicoides	Cereal chlorotic mottle nucleorhabdovirus
		Maize streak monogeminivirus
	Urochloa trichopus	Maize streak monogeminivirus
	Vaseyochloa multinervosa	Maize streak monogeminivirus
	Vulpia	Brome streak mosaic rymovirus
	옥수수속(Zea)	Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
	옥수수(Zea mays)	Anthoxanthum latent blanching hordeivirus
		Barley stripe mosaic hordeivirus
		Barley yellow dwarf luteovirus
		Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus
		Bermuda grass etched-line marafivirus
		Brome mosaic bromovirus
		Cassia mild mosaic carlavirus
		Cassia yellow blotch bromovirus
		Cereal chlorotic mottle nucleorhabdovirus
		Cereal northern mosaic cytorhabdovirus
		Chloris striate mosaic monogeminivirus
		Cocksfoot mild mosaic sobemovirus
		Cowpea chlorotic mottle bromovirus
		Cynodon chlorotic streak nucleorhabdovirus
		Cynodon mosaic carlavirus
		Digitaria streak monogeminivirus
		Digitaria striate mosaic monogeminivirus
		Echinochloa ragged stunt oryzavirus
		Foxtail mosaic potexvirus
		Guinea grass mosaic potyvirus
		Heracleum latent trichovirus
		Johnsongrass mosaic potyvirus

			Maize chlorotic dwarf waikavirus
			Maize chlorotic mottle machlomovirus
			Maize dwarf mosaic potyvirus
			Maize eyespot virus
			Maize Iranian mosaic nucleorhabdovirus
			Maize line virus
			Maize mosaic nucleorhabdovirus
			Maize mottle/chlorotic stunt virus
			Maize rayado fino marafivirus
			Maize rough dwarf fijivirus
			Maize streak dwarf nucleorhabdovirus
			Maize streak monogeminivirus
			Maize stripe tenuivirus
			Maize white line mosaic satellivirus
			Maize white line mosaic virus
			Maize yellow stripe tenuivirus
			Oat sterile dwarf fijivirus
			Panicum mosaic sobemovirus
			Paspalum striate mosaic monogeminivirus
			Pepper veinal mottle potyvirus
			Poa semilatif hordeivirus
			Rice black-streaked dwarf fijivirus
			Rice ragged stunt oryzavirus
			Rice stripe tenuivirus
			Rottboellia yellow mottle sobemovirus
			Sorghum chlorotic spot furovirus
			Sorghum stunt mosaic nucleorhabdovirus
			Sugarcane Fiji disease fijivirus
			Sugarcane mosaic potyvirus
			Sugarcane streak monogeminivirus
			Tobacco necrosis necrovirus
			Tobacco ringspot nepovirus
			Tobacco streak ilarvirus
			Wheat American striate mosaic nucleorhabdovirus
			Wheat streak mosaic rymovirus
		Zea mays ssp. mays	Maize rayado fino marafivirus
		Zea mays ssp. mexicana	Maize rayado fino marafivirus
		잔디속(Zoysia)	Zoysia mosaic potyvirus
		라이밀(x Triticosecale)	Cereal chlorotic mottle nucleorhabdovirus
철엽수과 (Hippocastanaceae)	온대 아열대 열대	꽃철엽수 (Aesculus carnea)	Strawberry latent ringspot nepovirus
무릇아과 (Hyacinthaceae)	온대 아열대 열대	히아신스속 (Hyacinthus)	Tobacco rattle tobnavirus
		히아신스 (Hyacinthus orientalis)	Hyacinth mosaic potyvirus
		Lachenalia	Ornithogalum mosaic potyvirus
		베들레헴의 별 (Ornithogalum thyrsoides)	Ornithogalum mosaic potyvirus Tulip breaking potyvirus
수국과 (Hydrangeaceae)	온대 아열대 열대	수국 (Hydrangea macrophylla)	Elm mottle ilarvirus
			Hydrangea latent carlavirus
			Hydrangea mosaic ilarvirus
			Hydrangea ringspot potexvirus
물풀잎과 (Hydrophyllaceae)	온대 아열대 열대	Phacelia campanularia	Beet mosaic potyvirus
붓꽃과(Iridaceae)	온대 아열대	범부채 (Belamcanda chinensis)	Iris fulva mosaic potyvirus
			Iris mild mosaic potyvirus
			Iris severe mosaic potyvirus
			Tomato spotted wilt tospovirus
		크로쿠스 베르누스 (Crocus vernus)	Iris severe mosaic potyvirus
프리지어속(Freesia)	Bean yellow mosaic potyvirus		
			Vallota mosaic potyvirus

		프리지어 (<i>Freesia refracta</i>)	<i>Freesia</i> leaf necrosis varicosavirus <i>Freesia</i> mosaic potyvirus
		글라디올러스 (<i>Gladiolus</i>)	<i>Artichoke</i> Italian latent nepovirus
			Bean yellow mosaic potyvirus
			<i>Cycas</i> necrotic stunt nepovirus
			<i>Narcissus</i> latent macluravirus
		아이리스(<i>Iris</i>)	<i>Iris</i> mild mosaic potyvirus
			<i>Iris</i> severe mosaic potyvirus
		단포르디에 아이리스 (<i>Iris danfordiae</i>)	<i>Iris</i> mild mosaic potyvirus
		풀바아이리스 (<i>Iris fulva</i>)	<i>Iris fulva</i> mosaic potyvirus
		<i>Iris fulva</i> x <i>I. brevicaulis</i>	<i>Iris fulva</i> mosaic potyvirus
		아이리스 크로아티아 (<i>Iris germanica</i>)	<i>Iris germanica</i> leaf stripe rhabdovirus
			Tobacco ringspot nepovirus
		꽃창포(<i>Iris kaempferi</i>)	<i>Iris</i> Japanese necrotic ring virus
		제비붓꽃 (<i>Iris laevigata</i>)	<i>Iris</i> Japanese necrotic ring virus
		레티쿨라타붓꽃 (<i>Iris reticulata</i>)	<i>Iris</i> mild mosaic potyvirus
		붓꽃(<i>Iris sanguinea</i>)	<i>Iris</i> Japanese necrotic ring virus
시베리아붓꽃 (<i>Iris sibirica</i>)	<i>Iris fulva</i> mosaic potyvirus		
<i>Iris tingitana</i> x <i>I. xiphium</i>	<i>Iris</i> severe mosaic potyvirus		
아이리스 지피움 (<i>Iris xiphium</i>)	<i>Iris</i> mild mosaic potyvirus		
	<i>Narcissus</i> latent macluravirus		
라티폴리아아이리스 (<i>Iris xiphoides</i>)	<i>Iris</i> mild mosaic potyvirus		
가래나무과 (<i>Juglandaceae</i>)	온대 아열대 열대	호두나무 (<i>Juglans regia</i>)	Cherry leaf roll nepovirus
꿀풀과(<i>Labiatae</i>)	온대 아열대 열대	검은 하지초 (<i>Ballota nigra</i>)	<i>Lamium</i> mild mottle fabavirus
		병꽃풀 (<i>Glechoma hederacea</i>)	Carnation mottle carmovirus
		꿀풀과(<i>Lamiaceae</i>)	Apple stem grooving capillovirus
		광대수염 (<i>Lamium album</i>)	<i>Lamium</i> mild mottle fabavirus
		광대나물 (<i>Lamium amplexicaule</i>)	<i>Arabis</i> mosaic nepovirus
			<i>Artichoke</i> Italian latent nepovirus
			Beet mild yellowing luteovirus
			Strawberry latent ringspot nepovirus
		라미움 마쿨라툼 (<i>Lamium maculatum</i>)	Carnation ringspot dianthovirus
		자주광대나물(<i>Lamium purpureum</i>)	<i>Lamium</i> mild mottle fabavirus
		<i>Marrubium peregrinum</i>	<i>Lamium</i> mild mottle fabavirus
		흰털박하 (<i>Marrubium vulgare</i>)	<i>Lamium</i> mild mottle fabavirus
		멘타아벤시스 (<i>Mentha arvensis</i>)	<i>Arabis</i> mosaic nepovirus
		바질 (<i>Ocimum basilicum</i>)	Alfalfa mosaic alfamovirus
			<i>Amaranthus</i> leaf mottle potyvirus
			<i>Arabis</i> mosaic nepovirus
			<i>Artichoke</i> mottled crinkle tobusvirus
			<i>Artichoke</i> vein banding nepovirus
			<i>Asparagus</i> 2 ilarvirus
			Broad bean wilt fabavirus
Cactus X potexvirus			
Cherry leaf roll nepovirus			
Cucumber leaf spot carmovirus			
<i>Cymbidium</i> ringspot tobusvirus			
Elm mottle ilarvirus			
<i>Erysimum</i> latent tymovirus			
<i>Lamium</i> mild mottle fabavirus			
Melon Ourmia ourmiavirus			
<i>Parietaria</i> mottle ilarvirus			

			Peanut stunt cucumovirus Pelargonium flower break carmovirus Pelargonium line pattern carmovirus Pepper mild mottle tobamovirus Pepper Moroccan tombusvirus Pepper ringspot tobavirus Pepper veinal mottle potyvirus Poplar mosaic carlavirus Red clover necrotic mosaic dianthovirus Ribgrass mosaic tobamovirus Strawberry latent ringspot nepovirus Tobacco mild green mosaic tobamovirus Tobacco rattle tobavirus Tobacco streak ilarvirus Tomato bushy stunt tombusvirus
		소엽 (<i>Perilla frutescens</i>)	Perilla mottle potyvirus
		파출리 (<i>Pogostemon patchouli</i>)	Patchouli mosaic potyvirus Patchouli mottle potyvirus
		깨꽃(<i>Salvia splendens</i>)	Patchouli mottle rhabdovirus Beet curly top hybrigeminivirus Maracuja mosaic tobamovirus Tobacco rattle tobavirus Tobacco ringspot nepovirus Tobacco streak ilarvirus Tomato black ring nepovirus
		레몬타임 (<i>Thymus x citriodorus</i>)	Thyme nucleorhabdovirus
녹나무과 (<i>Lauraceae</i>)	온대 아열대 열대	아보카도 (<i>Persea americana</i>)	Avocado 3 alphacryptovirus
실거리나무아과 (<i>Leguminosae-Caesal</i> <i>pinoideae</i>)	열대 아열대	피플 오키드 트리 (<i>Bauhinia purpurea</i>)	Clitoria yellow vein tymovirus Turnip rosette sobemovirus
		카시아 (<i>Cassia bicapsularis</i>)	Peanut mottle potyvirus
		황호접 (<i>Cassia coluteoides</i>)	Cassia mild mosaic carlavirus
		<i>Cassia corymbosa</i>	Cassia severe mosaic closterovirus
		<i>Cassia hirsuta</i>	Cassia yellow blotch bromovirus
		<i>Cassia hoffmanseggii</i>	Cassia yellow spot potyvirus
		<i>Cassia leptocarpa</i>	Peanut mottle potyvirus
		<i>Cassia macranthera</i>	Cassia mild mosaic carlavirus
		결명차 (<i>Cassia obtusifolia</i>)	Cassia mild mosaic carlavirus Chickpea bushy dwarf potyvirus Peanut green mosaic potyvirus Peanut mottle potyvirus Tobacco etch potyvirus
		석결명 (<i>Cassia occidentalis</i>)	Apple mosaic ilarvirus Bean pod mottle comovirus Bidens mosaic potyvirus Cassava common mosaic potexvirus Cassia mild mosaic carlavirus Cassia mosaic virus Cassia ringspot virus Cassia severe mosaic closterovirus Cassia yellow blotch bromovirus Cassia yellow spot potyvirus Chickpea distortion mosaic potyvirus Clitoria yellow vein tymovirus Clover yellow vein potyvirus Cowpea chlorotic mottle bromovirus Cowpea severe mosaic comovirus Cymbidium mosaic potexvirus
			Glycine mottle carmovirus

			Nandina mosaic potexvirus
			Negro coffee mosaic potexvirus
			Odontoglossum ringspot tobamovirus
			Papaya mosaic potexvirus
			Passiflora ringspot potyvirus
			Passionfruit Sri Lankan mottle potyvirus
			Pea streak carlavirus
			Peanut green mosaic potyvirus
			Peanut mottle potyvirus
			Peanut stunt cucumovirus
			Soybean mosaic potyvirus
			Soybean spherical virus
			Sweet potato yellow dwarf ipomovirus
			Tobacco ringspot nepovirus
			Tobacco streak ilarvirus
			Tomato spotted wilt tospovirus
			Turnip mosaic potyvirus
			Watermelon mosaic 2 potyvirus
		Cassia pleurocarpa	Cassia yellow blotch bromovirus
		Cassia sylvestris	Cassia mild mosaic carlavirus
		결명차(Cassia tora)	Bean common mosaic potyvirus
			Cassia mosaic virus
			Cassia ringspot virus
			Cassia severe mosaic closterovirus
			Cassia yellow blotch bromovirus
			Cowpea chlorotic mottle bromovirus
			Cowpea mosaic comovirus
			Marigold mottle potyvirus
			Milk vetch dwarf nanavirus
			Passionfruit Sri Lankan mottle potyvirus
			Peanut mottle potyvirus
			Prunus necrotic ringspot ilarvirus
			Soybean crinkle leaf bigeminivirus
			Sunn-hemp mosaic tobamovirus
			Tobacco etch potyvirus
			Tobacco streak ilarvirus
			Tomato spotted wilt tospovirus
실거리나무아과-미모사군 (Leguminosae-Mimosoideae)	열대 아열대	자귀나무 (Albizia julibrissin)	Mimosa striped chlorosis badnavirus
		미모사 (Mimosa sensitiva)	Mimosa mosaic virus
실거리나무아과-콩아과 (Leguminosae-Papilionoideae)	열대 아열대	홍두 (Abrus precatorius)	Clitoria yellow vein tymovirus
		땅콩 (Arachis hypogaea)	Abutilon mosaic bigeminivirus
			Alfalfa mosaic alfamovirus
			Bean leaf roll luteovirus
			Bean yellow mosaic potyvirus
			Beet western yellows luteovirus
			Cassia mild mosaic carlavirus
			Cassia ringspot virus
			Clitoria yellow vein tymovirus
			Clover yellow mosaic potexvirus
			Clover yellow vein potyvirus
			Cowpea mild mottle carlavirus
			Cymbidium ringspot tombusvirus
			Elderberry carlavirus
			Groundnut chlorotic spot potexvirus
			Groundnut eyespot potyvirus
			Groundnut ringspot tospovirus
			Groundnut rosette assistor luteovirus
			Groundnut rosette umbravirus
			Milk vetch dwarf nanavirus
			Okra mosaic tymovirus

			Passionfruit woodiness potyvirus
			Peanut chlorotic streak caulimovirus
			Peanut clump furovirus
			Peanut green mosaic potyvirus
			Peanut mottle potyvirus
			Peanut stunt cucumovirus
			Peanut top paralysis potyvirus
			Peanut veinal chlorosis rhabdovirus
			Peanut yellow spot tospovirus
			Poplar mosaic carlavirus
			Red clover necrotic mosaic dianthovirus
			Soybean dwarf luteovirus
			Strawberry latent ringspot nepovirus
			Subterranean clover stunt nanavirus
			Tobacco necrosis necrovirus
			Tobacco rattle tobnavirus
			Tobacco streak ilarvirus
			Tobacco yellow vein umbravirus
			Tomato spotted wilt tospovirus
		핀토땅콩 (<i>Arachis pintoi</i>)	Peanut mottle potyvirus
		황기속 (<i>Astragalus glycyphyllos</i>)	Alfalfa mosaic alfamovirus
		자운영 (<i>Astragalus sinicus</i>)	Bean leaf roll luteovirus
			Milk vetch dwarf nanavirus
			Soybean dwarf luteovirus
			Subterranean clover red leaf luteovirus
			Subterranean clover stunt nanavirus
			Watermelon mosaic 2 potyvirus
		비둘기콩 (<i>Cajanus cajan</i>)	Bean common mosaic potyvirus
			Bean golden mosaic bigeminivirus
			Bean yellow mosaic potyvirus
			Clitoria yellow vein tymovirus
			Cowpea chlorotic mottle bromovirus
			Cowpea mild mottle carlavirus
			Cowpea mosaic comovirus
			Cowpea mottle carmovirus
			Cowpea severe mosaic comovirus
			Glycine mosaic comovirus
			Horsegram yellow mosaic bigeminivirus
			Kennedya yellow mosaic tymovirus
			Lucerne Australian latent nepovirus
			Melilotus mosaic potyvirus
			Mung bean yellow mosaic bigeminivirus
			Okra mosaic tymovirus
			Pigeonpea proliferation rhabdovirus
			Pigeonpea sterility mosaic virus
			Quail pea mosaic comovirus
			Rhynchosia mosaic bigeminivirus
			Sunn-hemp mosaic tobamovirus
			Swordbean distortion mosaic potyvirus
			Urd bean leaf crinkle virus
		Calopogonium mucunoides	Centrosema mosaic potexvirus
			Cowpea severe mosaic comovirus
			Crotalaria spectabilis yellow mosaic potexvirus
		작두콩 (<i>Canavalia ensiformis</i>)	Artichoke yellow ringspot nepovirus
			Cassia yellow spot potyvirus
			Chickpea bushy dwarf potyvirus
			Chickpea distortion mosaic potyvirus
			Cowpea mild mottle carlavirus
			Cowpea mosaic comovirus
			Cowpea severe mosaic comovirus
			Crotalaria spectabilis yellow mosaic

		potexvirus
		Peanut chlorotic streak caulimovirus
		Rhynchosia mosaic bigeminivirus
		Swordbean distortion mosaic potyvirus
		Tephrosia symptomless carmovirus
	Canavalia ensiformis x C. virosa	Swordbean distortion mosaic potyvirus
	작두콩 (Canavalia gladiata)	Swordbean distortion mosaic potyvirus
		Tomato spotted wilt tospovirus
	Canavalia maritima	Canavalia maritima mosaic potyvirus
	Canavalia obtusifolia	Tomato spotted wilt tospovirus
	Canavalia occidentalis	Tomato spotted wilt tospovirus
	Canavalia virosa	Swordbean distortion mosaic potyvirus
	카스타노스펠름 (Castanospermum)	Cotton leaf crumple bigeminivirus
	그린볼 (Castanospermum australe)	Cotton leaf crumple bigeminivirus
	Centrosema	Centrosema mosaic potexvirus
		Cowpea rugose mosaic potyvirus
	Centrosema pubescens	Centrosema mosaic potexvirus
		Cowpea severe mosaic comovirus
		Passionfruit woodiness potyvirus
	병아리콩 (Cicer arietinum)	Alfalfa mosaic alfamovirus
		Bean common mosaic potyvirus
		Bean leaf roll luteovirus
		Bean yellow mosaic potyvirus
		Beet curly top hybrigeminivirus
		Beet western yellows luteovirus
		Broad bean stain comovirus
		Broad bean true mosaic comovirus
		Cassia yellow blotch bromovirus
		Chickpea bushy dwarf potyvirus
		Chickpea chlorotic dwarf monogeminivirus
		Chickpea distortion mosaic potyvirus
		Chickpea filiform potyvirus
		Clitoria yellow vein tymovirus
		Cucumber mosaic cucumovirus
		Epirus cherry ourmiavirus
		Faba bean necrotic yellows nanavirus
		Glycine mosaic comovirus
		Lettuce mosaic potyvirus
		Lucerne Australian latent nepovirus
		Lucerne transient streak sobemovirus
		Pea enation mosaic enamovirus
		Pea mild mosaic comovirus
		Pea streak carlavirus
		Peanut stunt cucumovirus
		Swordbean distortion mosaic potyvirus
		Turnip mosaic potyvirus
		Wisteria vein mosaic potyvirus
	클리토리아 (Clitoria ternatea)	Arracacha A nepovirus
		Clitoria mosaic potexvirus
		Clitoria yellow vein tymovirus
		Horsegram yellow mosaic bigeminivirus
		Kennedya yellow mosaic tymovirus
	왕관나비나물 (Coronilla varia)	Peanut stunt cucumovirus
	Crotalaria anagyroides	Cassia mosaic virus
		Centrosema mosaic potexvirus
	Crotalaria goreensis	Centrosema mosaic potexvirus
	Crotalaria intermedia	Subterranean clover stunt nanavirus
	숙마 (Crotalaria juncea)	Apple mosaic ilarvirus
		Cassia yellow spot potyvirus

			Centrosema mosaic potexvirus	
			Cowpea mosaic comovirus	
			Cowpea severe mosaic comovirus	
			Elderberry carlavirus	
			Okra mosaic tymovirus	
			Sunn-hemp mosaic tobamovirus	
			Tomato spotted wilt tospovirus	
		Crotalaria medicaginea	Melilotus mosaic potyvirus	
		Crotalaria mucronata	Centrosema mosaic potexvirus	
		Crotalaria retusa	Bean yellow mosaic potyvirus	
			Centrosema mosaic potexvirus	
			Passiflora ringspot potyvirus	
			Sunn-hemp mosaic tobamovirus	
		Crotalaria spectabilis	Alfalfa mosaic alfamovirus	
			Apple mosaic ilarvirus	
			Bean common mosaic potyvirus	
			Bean yellow mosaic potyvirus	
			Carnation ringspot dianthovirus	
			Cassia yellow spot potyvirus	
			Centrosema mosaic potexvirus	
			Citrus leaf rugose ilarvirus	
			Citrus ringspot virus	
			Clitoria mosaic potexvirus	
			Clover yellow vein potyvirus	
			Cowpea mosaic comovirus	
			Crotalaria spectabilis yellow mosaic potexvirus	
			Cucumber mosaic cucumovirus	
			Foxtail mosaic potexvirus	
			Milk vetch dwarf nanavirus	
			Pea streak carlavirus	
			Peanut stunt cucumovirus	
			Pepper veinal mottle potyvirus	
			Plum American line pattern ilarvirus	
			Prune dwarf ilarvirus	
			Soybean mosaic potyvirus	
			Subterranean clover stunt nanavirus	
			Sunn-hemp mosaic tobamovirus	
			Tobacco ringspot nepovirus	
			Tobacco streak ilarvirus	
			Watermelon mosaic 2 potyvirus	
			White clover mosaic potexvirus	
			Wisteria vein mosaic potyvirus	
			구아 (Cyamopsis tetragonoloba)	Abutilon mosaic bigeminivirus
				Alfalfa mosaic alfamovirus
				Apple mosaic ilarvirus
				Arabis mosaic nepovirus
		Arracacha A nepovirus		
		Arracacha B nepovirus		
		Bean common mosaic potyvirus		
		Bean mild mosaic carmovirus		
		Bean southern mosaic sobemovirus		
		Bean yellow mosaic potyvirus		
		Bidens mottle potyvirus		
		Blackgram mottle carmovirus		
		Blueberry leaf mottle nepovirus		
		Broad bean mottle bromovirus		
		Broad bean wilt fabavirus		
		Caraway latent nepovirus		
		Cherry rasp leaf nepovirus		
		Chickpea bushy dwarf potyvirus		
		Chickpea distortion mosaic potyvirus		
		Cowpea chlorotic mottle bromovirus		

			Cowpea mosaic comovirus
			Desmodium mosaic potyvirus
			Elderberry carlavirus
			Foxtail mosaic potyvirus
			Glycine mottle carmovirus
			Guar symptomless potyvirus
			Guar top necrosis virus
			Hibiscus chlorotic ringspot carmovirus
			Muskmelon vein necrosis carlavirus
			Pea streak carlavirus
			Peanut chlorotic streak caulimovirus
			Peanut green mosaic potyvirus
			Peanut mottle potyvirus
			Peanut stunt cucumovirus
			Plum pox potyvirus
			Potato 14R tobamovirus
			Potato black ringspot nepovirus
			Potato M carlavirus
			Potato S carlavirus
			Potato T trichovirus
			Prune dwarf ilarvirus
			Prunus necrotic ringspot ilarvirus
			Soybean mild mosaic virus
			Soybean mosaic potyvirus
			Soybean spherical virus
			Strawberry mottle virus
			Sunn-hemp mosaic tobamovirus
			Swordbean distortion mosaic potyvirus
			Tobacco necrosis necrovirus
			Tobacco ringspot nepovirus
			Tobacco streak ilarvirus
			Tobacco stunt varicosavirus
			Watermelon mosaic 2 potyvirus
			White clover mosaic potyvirus
		Desmodium canescens	Cowpea severe mosaic comovirus
		Desmodium canum	Desmodium mosaic potyvirus
		Desmodium distortum	Centrosema mosaic potyvirus
		Desmodium intortum	Subterranean clover stunt nanavirus
		Desmodium laevigatum	Desmodium yellow mottle tymovirus
		도둑놈의 갈고리 속 (Desmodium paniculatum)	Bean pod mottle comovirus
			Desmodium yellow mottle tymovirus
		Desmodium scorpiurus	Kennedya yellow mosaic tymovirus

- 국내 아열대작물 재배 현황 data를 토대로 하여, 총 10개의 작물을 선정하였으며, 각 작물에 대한 바이러스병을 일으키는 국내외 주요 바이러스 리스트를 구축함.

[표] 용과(아열대 과수)에 대한 바이러스병을 일으키는 국내외 주요 바이러스 리스트

No.	Virus	발생지	피해규모	Ref.
1	Cactus virus X(CVX)	Taiwan, Isreal, USA, Korea(2010) China	-	Mao et al. 2018 Kim et al. 2016
		Florida (2017-2018)	-	Gazis et al. 2018
2	Pitaya virus X(PiVX)	Taiwan (2008, 2010)	-	Mao et al. 2015
3	Schlumbergera virus X (SchVX)	Brazil(2008), China(2017)	-	Mao et al. 2015
4	Zygocactus virus X (ZyVX)	Taiwan(2008), Brazil(2008), China(2017)	-	Mao et al. 2015

[표] 파파야(아열대 과수)에 대한 바이러스병을 일으키는 국내외 주요 바이러스 리스트

기주	Virus	발생지	피해규모	Ref.
1	Papaya ringspot virus (PRSV)	Mexico(1997-2000)	Mexico에서 1975년 85% 수확량 손실	Noa-Carrazana et al. 2006
		Hawaii(1945), Australia(1991), Spain(1994), Northern Mariana Islands(1994), Guam(1994), French, Polinesia(2005), Cook Islands(2005)	-	Davis et al. 2005
		South America, Africa, India, Mexico, Australia, Thailand, Taiwan, China, The Pilippines, Japan, Iran, Bangladesh, French Polynesia, Cook Isplands	70-100% 경제적 손실 발생. Jamaica에서는 40% 생산량 감소 (1994-1998) 연간 \$11million 손실. Venezuela(1993) 거의 모든 파파야 과수원 폐원. Hawaii(1950s)에서는 PRSV 때문에 파파야 생산이 중단됨. 주 생산지인 Oahuisland에서 Puna District로 생산지 이동했으나 그곳에서도 PRSV퍼짐. Taiwan(1988) PRSV퍼져서 일본과 홍콩으로 수출 못 함.	Tennant et al. 2007
		Jamaica(1999), Venezuela(1993)	-	Chin et al. 2007
2	Papaya mosaic virus (PapMV)	Mexico(1997-2000), Sri Lanka(1952)	-	Noa-Carrazana et al. 2006
		Florida(1960s), Venezuela, SriLank, India, Peru, Bolivia, Mexico	-	Tennant et al. 2007
3	Papaya apical necrosis virus (PANV)	Venezuela(1981)	-	Noa-Carrazana et al. 2006
		Venezuela(1981), Cuba, Mexico, Brazil, some parts of Africa	PANV 발생률은 낮지만 1970년 말 PANV 발생으로 Venezuela의 Zulia 지역의 파파야 생산이 제한됨.	Tennant et al. 2007
4	Tobacco ringspot virus (TRSV)	Australia, The United States, Nigeria	-	Tennant et al. 2007
5	Papaya leaf distortion mosaic virus (PLDMV)	Japan(1954)	-	Tennant et al. 2007
6	Papaya droopy necrosis virus (PDNV)	Florida(1981)	-	Tennant et al. 2007
7	Papaya leaf curl China virus (PaLCuCNV)	China	기형 과일 생산, 과수원 폐원 시킴	Tennant et al. 2007
8	Papaya leaf curl Guangdong virus (PaLCuGDV)	China	기형 과일 생산, 과수원 폐원 시킴	Tennant et al. 2007
9	Papaya leaf curl virus (PaLCuV)*	India, Taiwan, Korea(2014)	-	Tennant et al. 2007 Byun et al 2016
10	Papaya golden mosaic virus	Mexico	-	Tennant et al. 2007
11	Lindernia anagallis yellow vein virus	China	-	Tennant et al. 2007
12	Melon chlorotic leaf curl virus	Costa Rica	-	Tennant et al. 2007
13	Tomato spotted wilt virus (TSWV)	Hawaii(1980s), Brazil, Australia	-	Tennant et al. 2007
14	Tobacco streak virus (TSV)*	Australia	-	Tennant, PF et al. 2007
15	Papaya meleira virus (PMeV)	Brazil(1980s), Mexico(2009)	-	Tapia-Tussell et al. 2015
16	Lettuce chlorosis virus+Papaya ringspot virus+Tomato yellow leaf curl virus-IL	Texas(2014-2015)	-	Alabi et al. 2017

* : 검역대상 바이러스

[표] 바나나(아열대 과수)에 대한 바이러스병을 일으키는 국내외 주요 바이러스 리스트

기주	Virus	발생지	피해규모	Ref.
1	Cucumber mosaic virus (CMV)	Ethiopia(2019)	-	Kebede et al. 2020
		Iran(2004-2005)	-	Ghotbi and Banaej. 2007
		Argentina(2017)	-	Mederos et al. 2018
2	Banana streak virus (BSV)	Dominican Republic(2020)	-	Martinez et al. 2020
		43개가 넘는 국가에서 발생 (Africa, Asia, Australia, Europe, Oceania, and tropical America)	가장 많이 퍼져있음. 100% 수확량 손실 발생	Tripathi et al. 2016
3	Banana bunchy top virus (BBTV)*	Java(2017-2018)	100% 수확량 감소 시킬 수 있음	Lestaryi et al. 2020
		-	1920년대 Australian 바나나 산업 붕괴시킴 - 90-95%감소 India(1980)-Kerala에서만 연간 Rs.4million 손실, TamilNadu에서는 생산 면적이 18,000에서 2000ha로 줄어듦. (2007-2010)US\$50million의 손실 발생. Pakistan(1990s)-생산지역이 60,000ha에서 26,000ha로 감소	Tripathi et al. 2016
		South Africa(2015)		Jooste et al. 2016
4	Banana bract mosaic virus (BBrMV)*	Philippine(1979), India, Samoa, SriLanka, Thailand, Vietnam(1990s)	Philippine(1997)의 Mindanao 섬의 수확량 40% 감소 India와 Philippines에서 수확량이 각각 30%와 70%감소.	Tripathi et al. 2016
		Ecuador	-	Quito-Avila et al. 2013
5	Abaca mosaic virus (AbaMV)	Philippines(1925)	25-50% 손실 발생. 필리핀에서만 발생	Tripathi et al. 2016
6	Banana mild mosaic virus (BanMMV)	Australia, Africa, Asia, Central and south America, Caribbean	CMV와 복합감염 되었을 경우 잎 괴사 병징이 나타남	Tripathi et al. 2016

* : 검역대상 바이러스

[표] 백향과(아열대 과수)에 대한 바이러스병을 일으키는 국내외 주요 바이러스 리스트

No.	Virus	발생지	피해규모	Ref.
1	Cucumber mosaic virus (CMV)	Korea Taiwan(1980) Ecuador(2015)	-	Chang 1992 Yeturu et al. 2017 Joa et al. 2018
2	East Asian Passiflora virus (EAPV)	Korea Japan China	-	Iwai et al. 2006 LiXue et al. 2018 Kim et al. 2018
3	Euphorbia leaf curl virus (EuLCV)	Korea Taiwan(2011)	-	Cheng et al. 2014 Kil et al. 2016
4	Papaya leaf curl Guangdong virus (PaLCuGDV)	Korea Taiwan(2011)	-	Cheng et al. 2014 Joa et al. 2018
5	Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)	Korea	-	Joa et al. 2018
6	Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV)	Brazil Kenya(2014)	gioria et al. (2020)의 보고에 따르면 CABMV로 인해 80%의 수확량 감소 (12kg/plant→2.4kg/plant)	검역대상 Nascimento et al. 2006 Mungut et al. 2019 Ngeranwa. 2012

7	Cucurbit aphid-borne yellow virus (CABYV)	China(2019)	19' novel potyvirus	Zhang et al 2019
8	East Asian Passiflora distortion virus (EAPDV)	Japan	-	Riska et al. 2020
9	Melochia yellow mosaic virus (MelYMV)	Brazil(2016)	-	Spadotti et al. 2019
10	Passiflora ringspot virus (PRV)	the Ivory Coast	-	De Wijs. 1974
11	Passion fruit chlorotic mottle virus (PCMoV)	Brazil(2013-2015)	-	Fontenele et al. 2018
12	Passion fruit yellow mosaic virus (PYMV)	Brazil(1980s)	-	Crestani et al. 1986
13	Passionfruit mottle virus (PaMV)	Taiwan(1980) Sri-Lanka	-	Chang. 1992
14	passionfruit woodiness virus (PWW)	Taiwan(1980)	심각한 모자이크(mosaic), 축엽(rugosity), 잎의 형태 변형(distortion)을 일으켜 열매를 목질화 하거나 기형열매가 발생하여 생산량 감소 Uganda 백향과 생산지 32%에서 병징 나타남.	검역대상 Chang. 1992
15	Ramie mosaic virus (RamMV)	China(2019)	-	chen et al. 2020
16	Sida mottle alagoas virus (SIMAV)	Brazil(2017)	-	Mituti et al. 2018
17	Soybean mosaic virus (SMV)	Colombia	-	Mesa et al. 2018
18	Telosma mosaic virus (TeMV)	China	-	LiXue et al. 2017
19	Watermelon mosaic virus (WMV)	Hawaii	-	Watanabe et al. 2016

[표] 망고(아열대 과수)에 대한 바이러스병을 일으키는 국내외 주요 바이러스 리스트

No.	Virus	발생지	피해규모	Ref.
1	Mangifera indica latent virus (MILV)	Israel	-	Sela et al. 2016

[표] 구아바(아열대 과수)에 대한 바이러스병을 일으키는 국내외 주요 바이러스 리스트

No.	Virus	발생지	피해규모	Ref.
1	Guava mosaic virus	Malaysia	-	Sidek et al. 1990

[표] 여주(아열대 채소)에 대한 바이러스병을 일으키는 국내외 주요 바이러스 리스트

No.	Virus	발생지	피해규모	Ref.
1	Bitter gourd yellow mosaic virus (BGYMV)	India	-	Rajinimala et al. 2009
2	Chayote yellow mosaic virus (ChaYMV)	Togo(2014) Nigeria(2014)	-	Leke et al. 2016
3	Cucumber mosaic virus (CMV)	Japan	-	Takami et al. 2006
4	Cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV)	India(2016) Sri Lanka(2016-17)	-	Suveditha et al. 2017 Abeykoon et al. 2018
5	Indian cassava mosaic virus (ICMV)	India	-	Rajinimala et al. 2007
6	Melon yellow spot virus (MYSV)	Japan	-	Takeuchi et al. 2009

7	Papaya ringspot virus (PRSV)	China(2014) Cuba(2010)	-	Zhu et al. 2016 Mederos et al. 2015
8	Peanut bud necrosis virus (PBNV)	India(2016)	-	Nagendran et al. 2018
9	Pepper leaf curl Bangladesh virus (PepLCBV)	India(2008)	-	Raj et al. 2010
10	Squash vein yellowing virus (SqVYV)	Puerto Rico(2011) U.S.A(2005,2007)	-	Acevedo et al. 2013 Adkins et al. 2008
11	Tomato leaf curl New Delhi virus (ToLCNDV)	Pakistan(2007)	인도 토마토 농장에서 발생하여 큰 피해를 줌.	검역대상 Ali et al. 2010
12	Tomato leaf curl Palampur virus (ToLCPaV)	India(2007) Pakistan	Pakistan에서 60-70% virus 감염	Tiwari et al. 2010 Tahir et al. 2005

[표] 오크라(아열대 채소)에 대한 바이러스병을 일으키는 국내외 주요 바이러스 리스트

No.	Virus	발생지	피해규모	Ref.
1	Bhendi yellow vein mosaic virus (BYVMV)	Thailand(2009-10)	태국의 Kanchanaburi와 Nakhon Pathom 지역의 50-100% 오크라 식물에서 바이러스 병 발생	Tsai et al. 2013
2	Chickpea chlorotic dwarf virus (CpCDV)	Pakistan(2012)	파키스탄의 2개 도시의 오크라 농장의 15%에서 바이러스 병징 관찰됨	Zia-Ur-Rehman et al. 2017
3	Cotton leaf curl Gezira virus (CLCuGV)	United State(2018) Niger(2007) Egypt Mali Sudan	Texas 4.9ha 오크라 농장에서 발생 100% 수확량 손실	Villegas et al. 2019 Shih et al. 2009
4	Groundnut bud necrosis virus (GBNV)	India(2011)	-	Suresh et al. 2012
5	Mesta yellow mosaic virus (MeYVMD)	India	-	Das et al. 2020
6	Okra enation leaf curl virus (OELCuV)	India	-	Kumar et al. 2019
7	Okra leaf curl virus (OLCV)	Saudi Arabia Nigeria(2010)	80% 수확량 손실	Ghanem. 2003 Askira. 2012
8	Okra mosaic virus (OkMV)	Nigeria	20-50% 수확량 손실, 90%까지 손실 가능.	Fajinmi et al. 2010 Lana et al. 1976
9	Okra yellow mosaic Mexico virus (OYMMV)	United State(2009)	미국의 0.2km ² 규모 오크라 농장의 75%에서 바이러스 병징 관찰됨	Hernandez-Zepeda et al. 2010
10	Okra yellow vein mosaic virus (OYVMV)	Sri Lanka(2015) India(2011)	스리랑카 3개 도시에서 55-70% 오크라 바이러스 병 발생	Tharmila et al. 2017
11	Radish leaf curl virus (RaLCV)	India	인도 Bihar에서 2009년 30%, 2010-11년 35%의 수확량 손실	Jumar et al. 2011

[표] 양빈(아열대 채소)에 대한 바이러스병을 일으키는 국내외 주요 바이러스 리스트

No.	Virus	발생지	피해규모	Ref.
1	Bean common mosaic virus (BCMV)	Indonesia	-	Damayanti et al. 2008
2	Yam bean mosaic virus (YBMV)	Peru Indonesia	-	Fuentes et al. 2012

* 삼채 대해 바이러스병을 일으키는 국내외 바이러스는 보고된 바 없음.

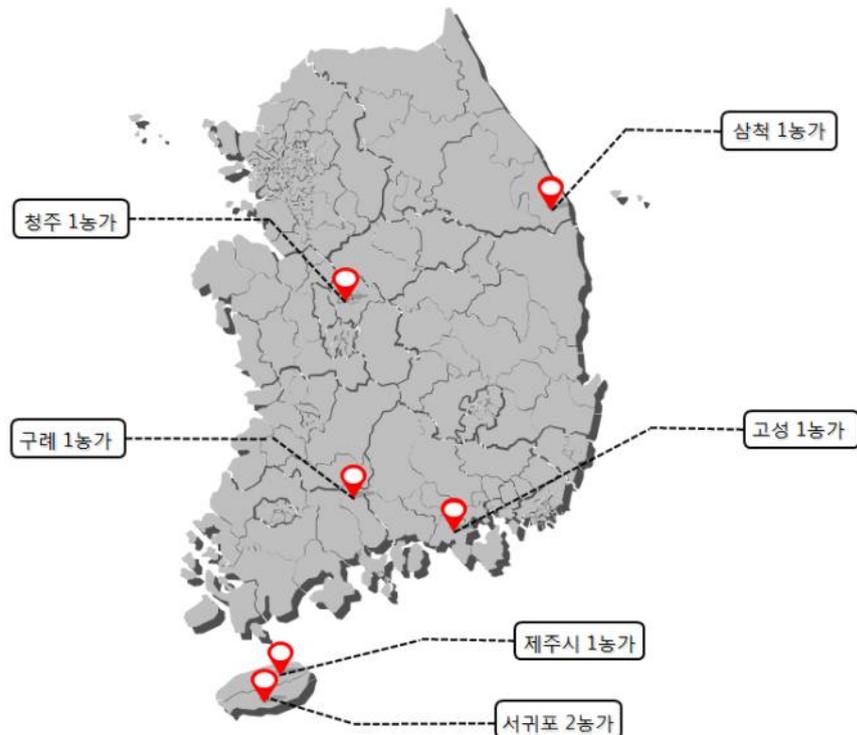
2. 국내 재배 아열대 작물 품목의 유입우려 해외 주요 바이러스 선정 및 작물 채집

1) 발생조사를 위한 샘플 채집 (작물: 10품목)

- 채집 대상 아열대 작물은 용과, 파파야, 바나나, 백향과, 구아바, 망고로 6종 아열대 과수와 여주, 오크라, 삼채, 암빈으로 4종 아열대 채소를 선정하였음.
- 10종의 아열대작물에 대한 채집 지역, 채집 농가 및 채집 샘플수는 다음과 같음.

[표] 10종 아열대 작물의 채집 현황

작물	채집 지역 수	채집 농가 수	채집 샘플 수
용과	6	7	36
파파야	12	14	170
바나나	8	11	113
구아바	9	9	110
망고	10	11	116
백향과	15	18	230
여주	10	12	156
오크라	4	4	56
삼채	5	5	62
암빈	6	6	90
총합	85	97	1,139



<그림> 용과 채집 지역 (6지역, 7농가, 36샘플)



<그림> 강원도 삼척시 채집샘플



<그림> 충청북도 청주시 채집 샘플



<그림> 전라남도 구례군 채집 샘플



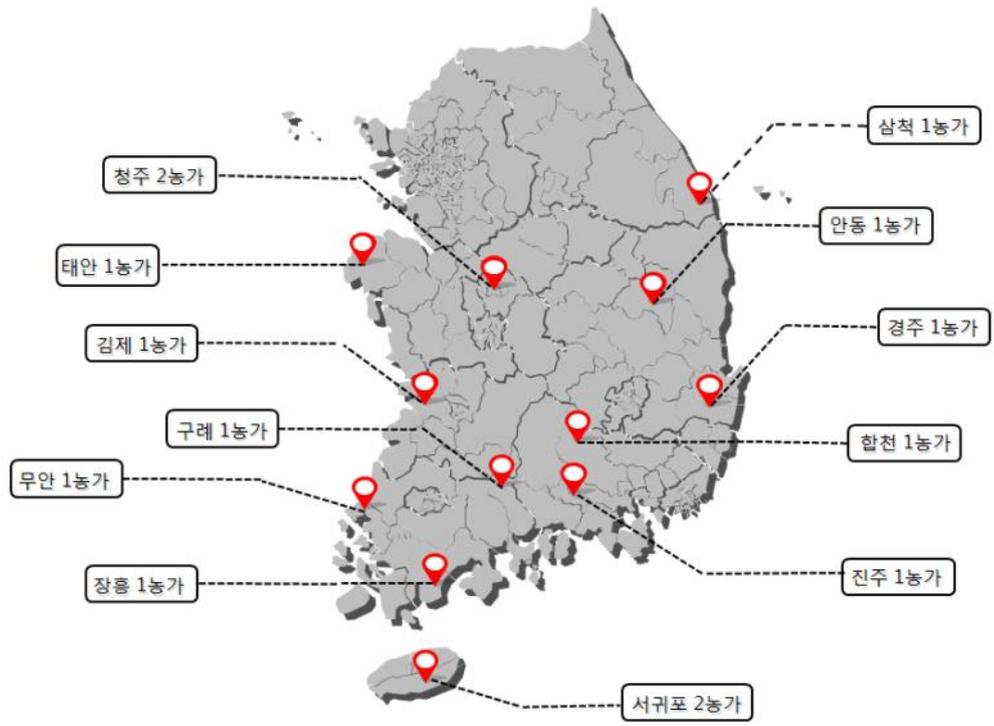
<그림> 경상남도 고성군 채집 샘플



<그림> 제주특별자치도 제주시 채집 샘플



<그림> 제주특별자치도 서귀포시 채집 샘플



<그림> 파파야 (12지역, 14농가, 170샘플)



<그림> 강원도 삼척시 채집 샘플



<그림> 충청북도 청주시 채집 샘플(농가1)



<그림> 충청북도 청주시 채집 샘플(농가2)



<그림> 충청남도 태안군 채집 샘플



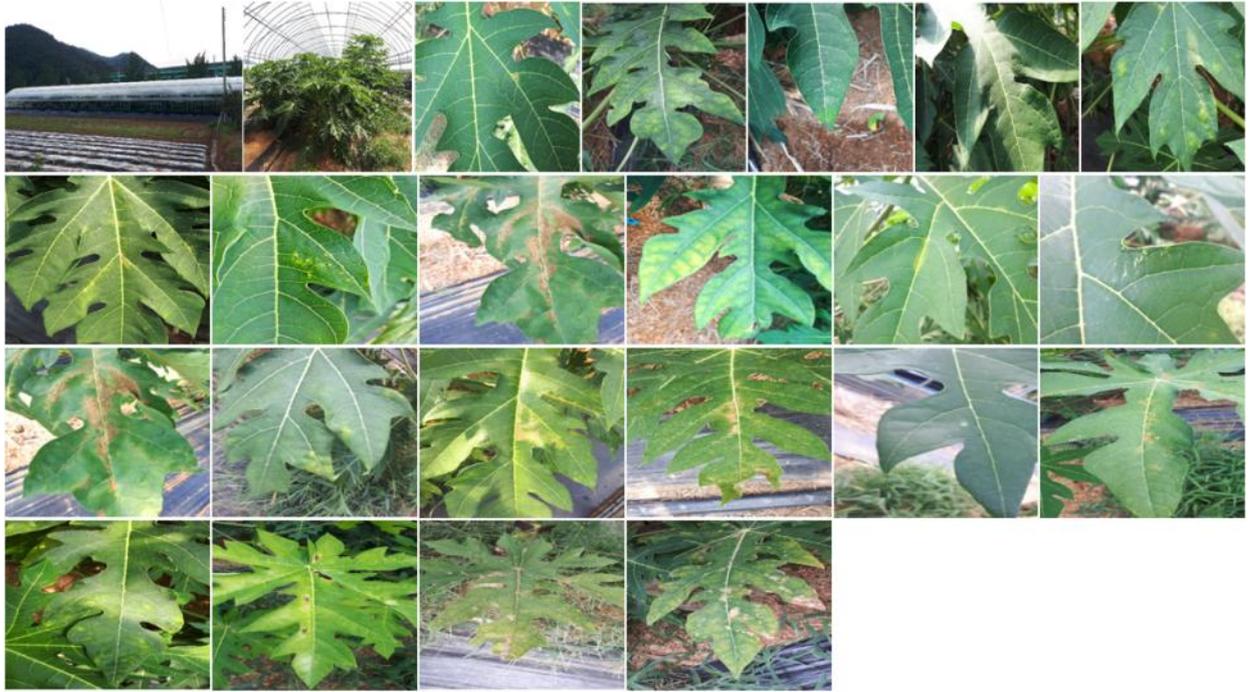
<그림> 전라북도 김제시 채집 샘플



<그림> 전라남도 구례군 채집 샘플



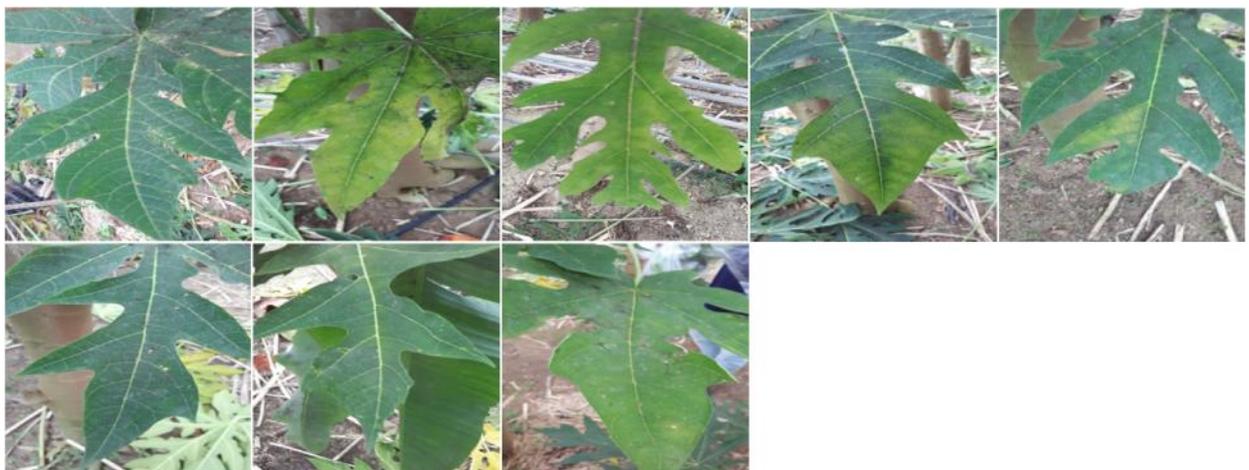
<그림> 전라남도 장흥군 채집 샘플



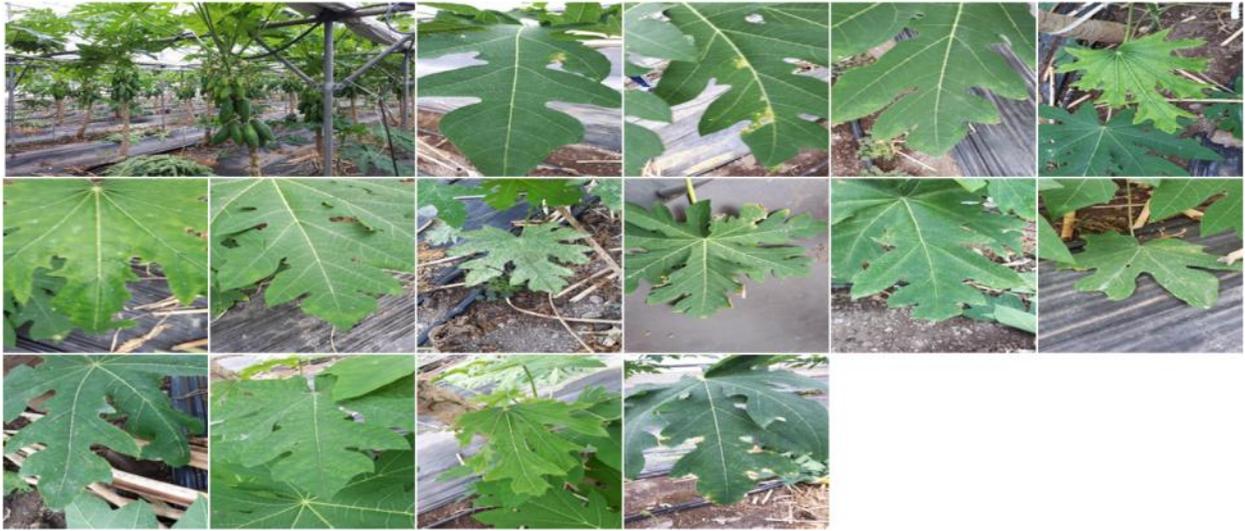
<그림> 전라남도 무안군 채집 샘플



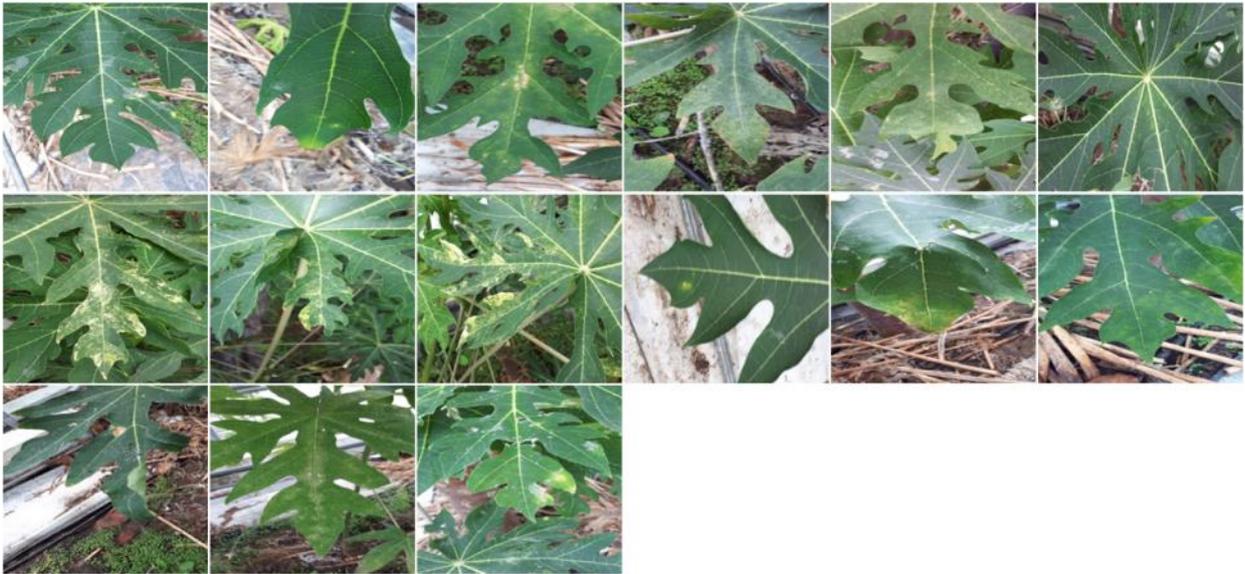
<그림> 경상북도 경주시 채집 샘플



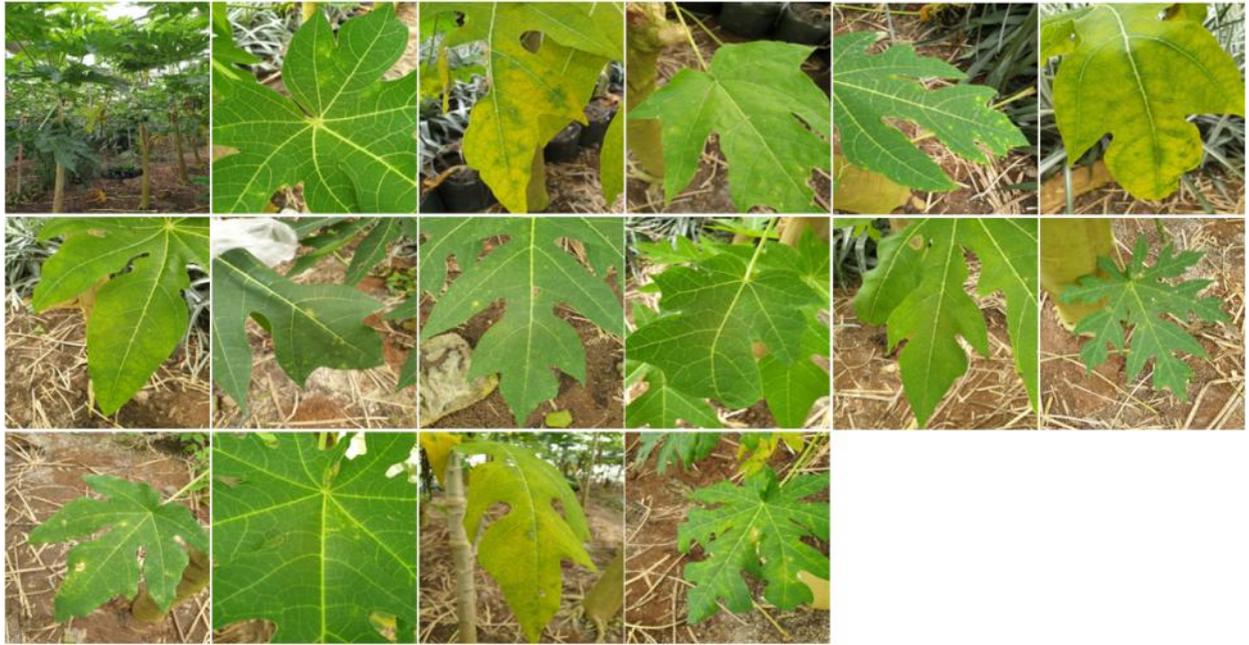
<그림> 경상북도 안동시 채집 샘플



<그림> 경상남도 진주시 채집 샘플



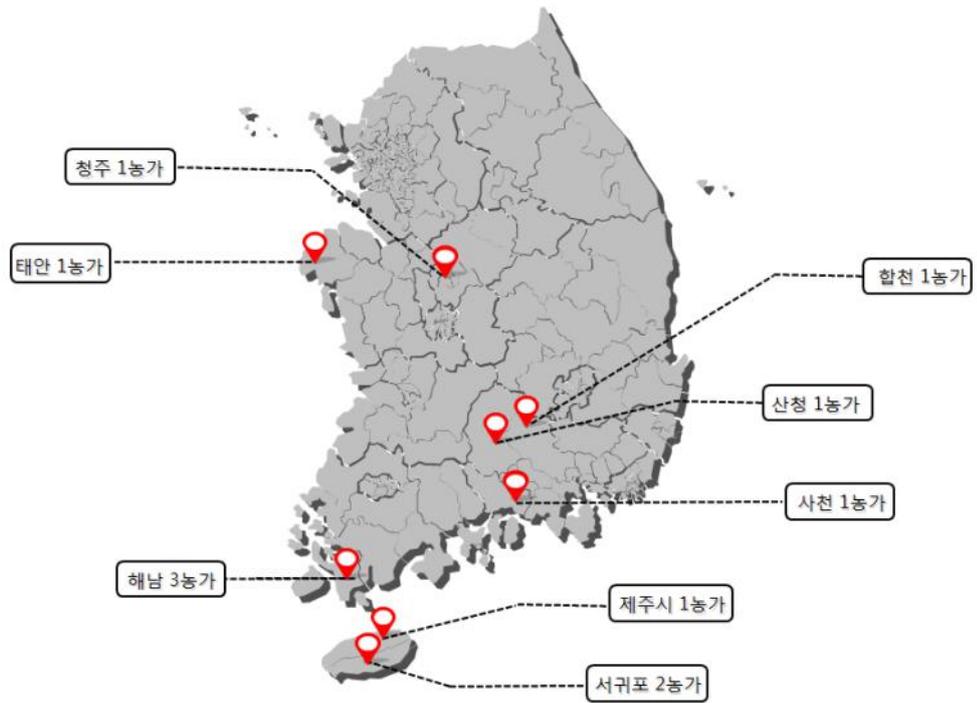
<그림> 경상남도 합천군 채집 샘플



<그림> 제주특별자치도 서귀포시 채집 샘플(농가1)



<그림> 제주특별자치도 서귀포시 채집 샘플(농가2)



<그림> 바나나 채집 지역 (8지역, 11농가, 113샘플)



<그림> 충청북도 청주시 채집 샘플



<그림> 충청남도 태안군 채집 샘플



<그림> 전라남도 해남군 채집 샘플(농가1)



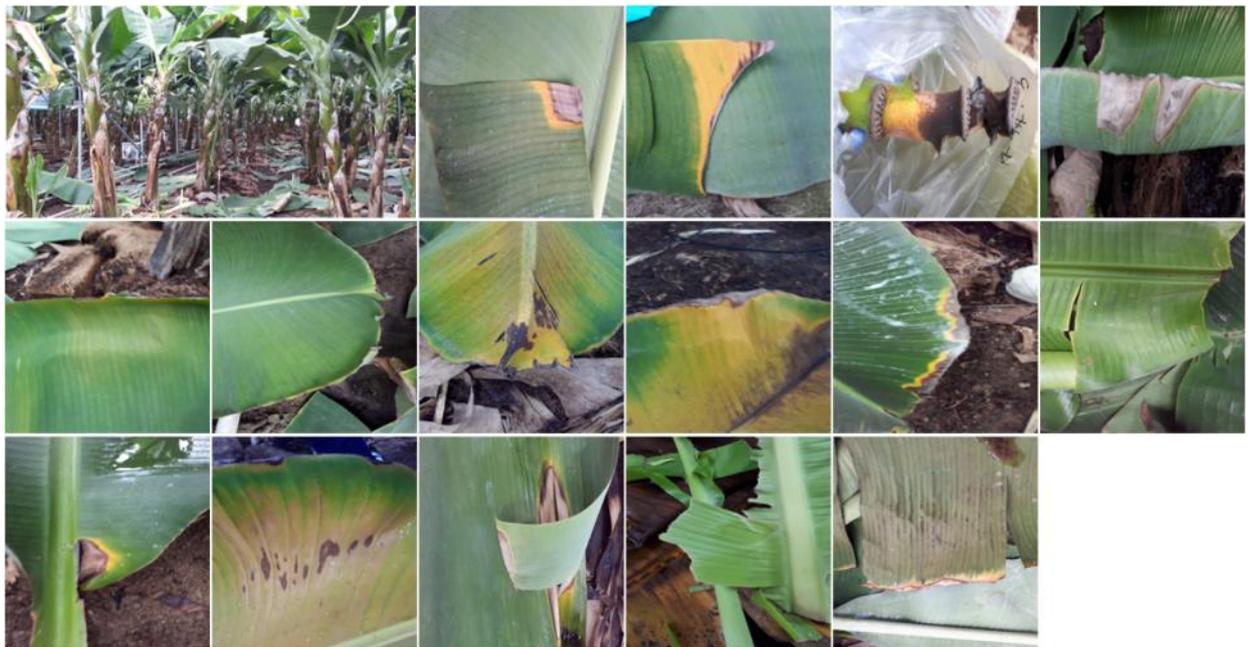
<그림> 전라남도 해남군 채집 샘플(농가2)



<그림> 전라남도 해남군 채집 샘플(농가3)



<그림> 경상남도 사천시 채집 샘플



<그림> 경상남도 산청군 채집 샘플



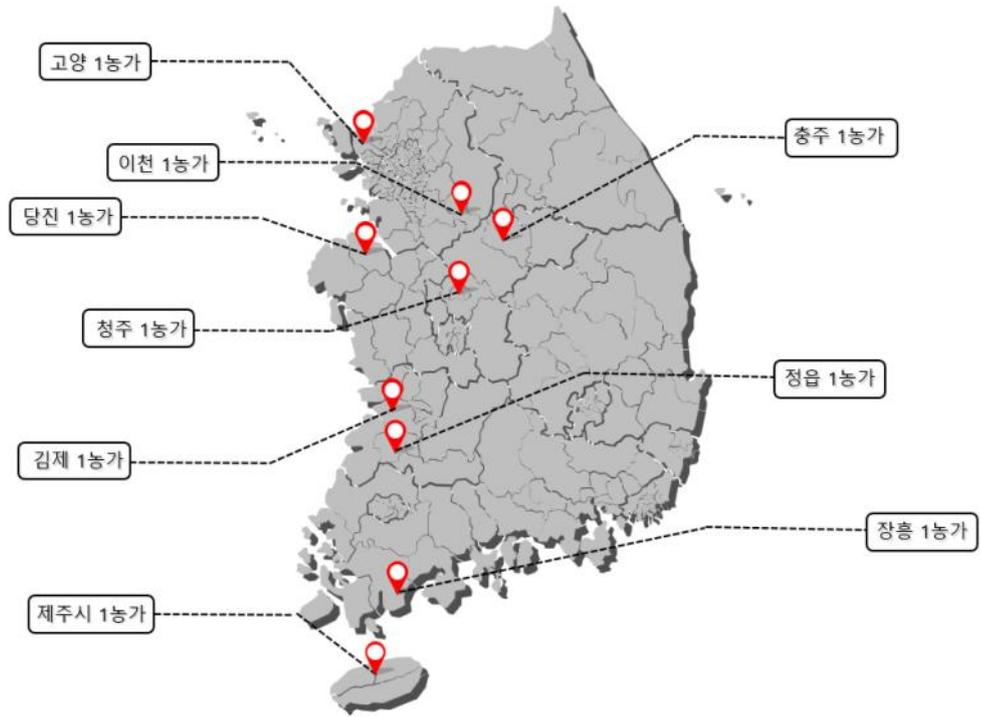
<그림> 경상남도 합천군 채집 샘플



<그림> 제주특별자치도 제주시 채집 샘플



<그림> 제주특별자치도 서귀포시 채집 샘플



<그림> 구아바 채집 지역 (9지역, 9농가, 110샘플)



<그림> 경기도 고양시 채집샘플



<그림> 경기도 이천시 채집샘플



<그림> 충북 청주시 채집샘플



<그림> 충북 충주시 채집샘플



<그림> 충북 당진시 채집샘플



<그림> 전북 정읍시 채집샘플



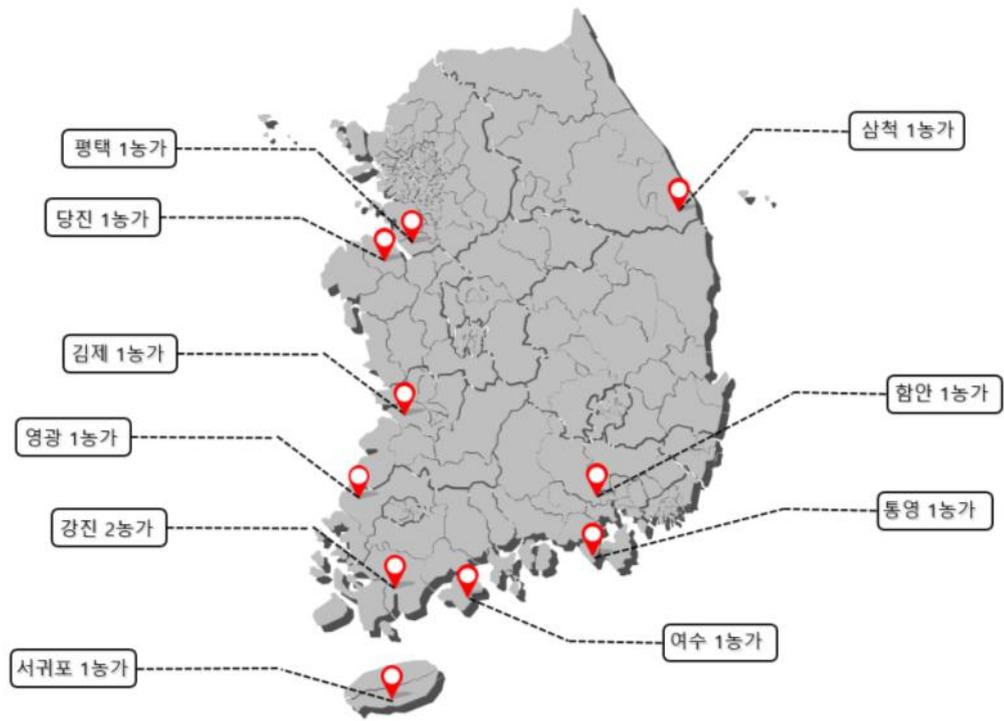
<그림> 전북 김제시 채집샘플



<그림> 전남 장흥군 채집샘플



<그림> 제주도 제주시 채집샘플



<그림> 망고 채집 지역 (10지역, 11농가, 116샘플)



<그림> 경기도 평택시 채집샘플



<그림> 강원도 삼척시 채집샘플



<그림> 충북 당진군 채집샘플



<그림> 전북 김제시 채집샘플



<그림> 전남 여수시 채집샘플



<그림> 전남 강진군 채집샘플(농가1)



<그림> 전남 강진군 채집샘플(농가2)



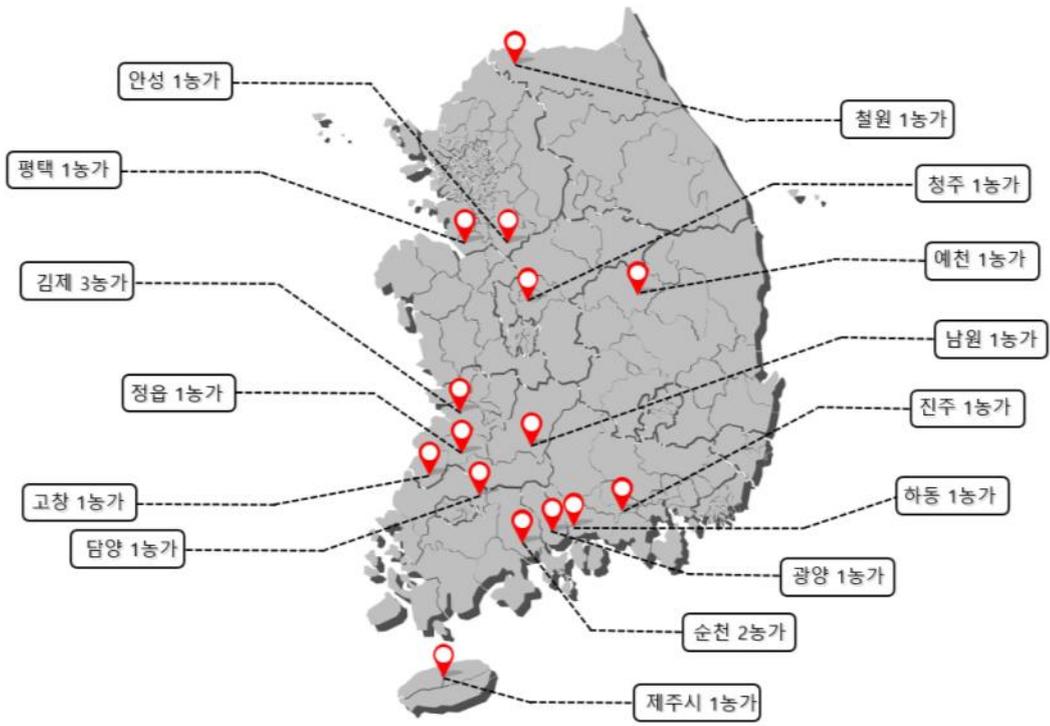
<그림> 전남 영광군 채집샘플



<그림> 경남 함안군 채집샘플



<그림> 제주도 서귀포시 채집샘플



<그림> 백향과 채집 지역 (15지역, 18농가, 230샘플)



<그림> 경기도 평택시 채집샘플



<그림> 경기도 안성시 채집샘플



<그림> 강원도 철원군 채집샘플



<그림> 충북 청주시 채집샘플



<그림> 전북 정읍시 채집샘플



<그림> 전북 남원시 채집샘플



<그림> 전북 김제시 채집샘플(농가1)



<그림> 전북 김제시 채집샘플(농가2)



<그림> 전북 김제시 채집샘플(농가3)



<그림> 전남 고창군 채집샘플



<그림> 전남 순천시 채집샘플(농가1)



<그림> 전남 순천시 채집샘플(농가2)



<그림> 전남 광양시 채집샘플



<그림> 전남 담양군 채집샘플



<그림> 경북 예천군 채집샘플



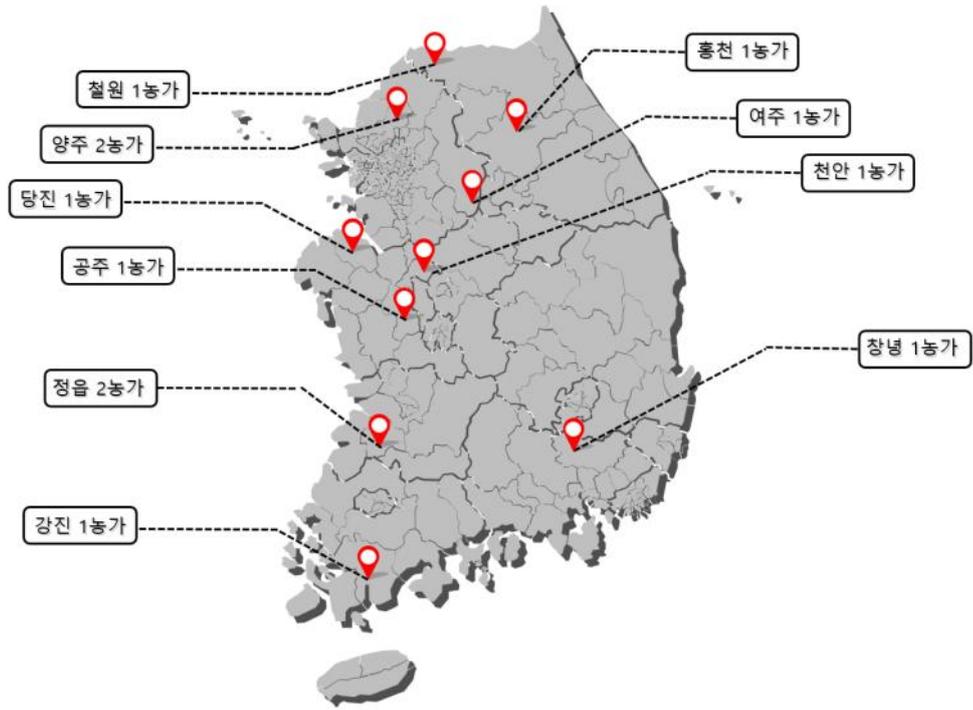
<그림> 경남 진주시 채집샘플



<그림> 경남 하동군 채집샘플



<그림> 제주도 제주시 채집샘플



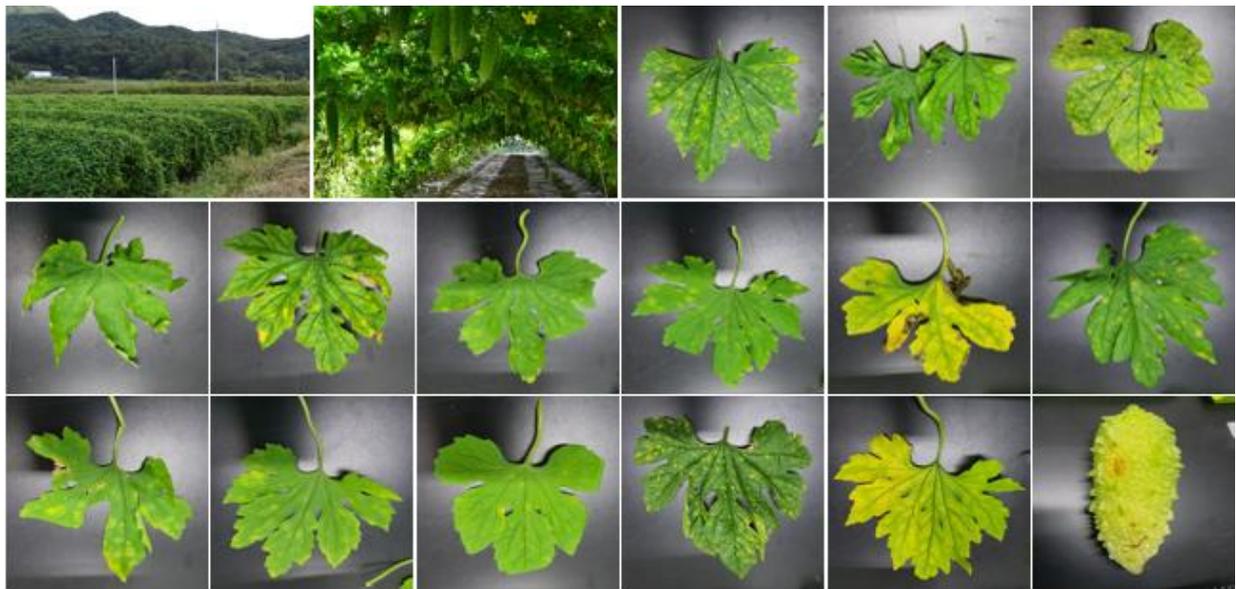
<그림> 여주 채집 지역 (10지역, 12농가, 156샘플)



<그림> 경기도 양주시 채집샘플



<그림> 경기도 여주시 채집샘플



<그림> 강원도 홍천군 채집샘플



<그림> 강원도 철원군 채집샘플



<그림> 충북 천안시 채집샘플



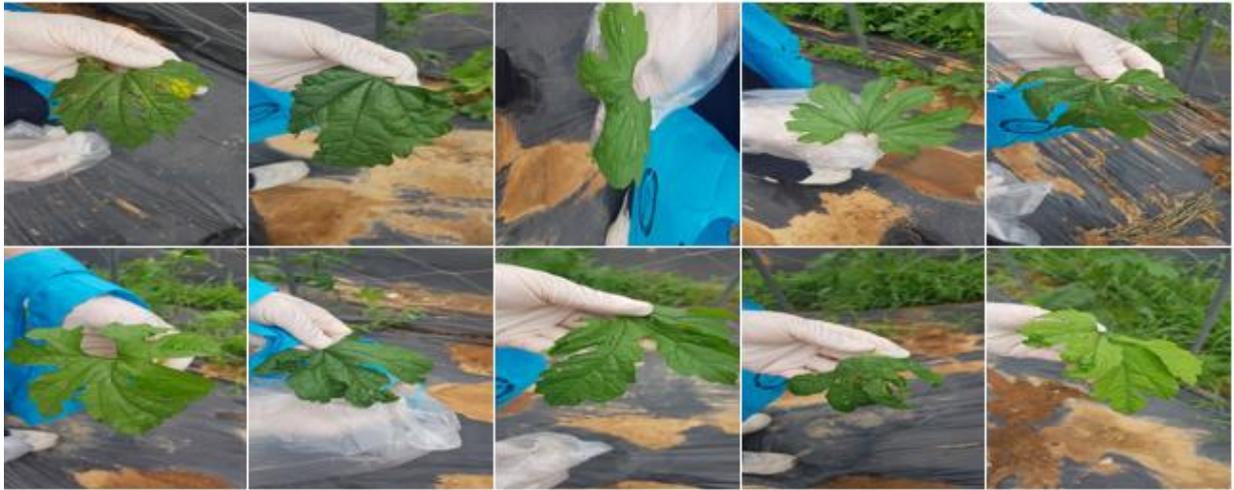
<그림> 충북 공주시 채집샘플



<그림> 충북 당진군 채집샘플



<그림> 전북 정읍시 채집샘플(농가1)



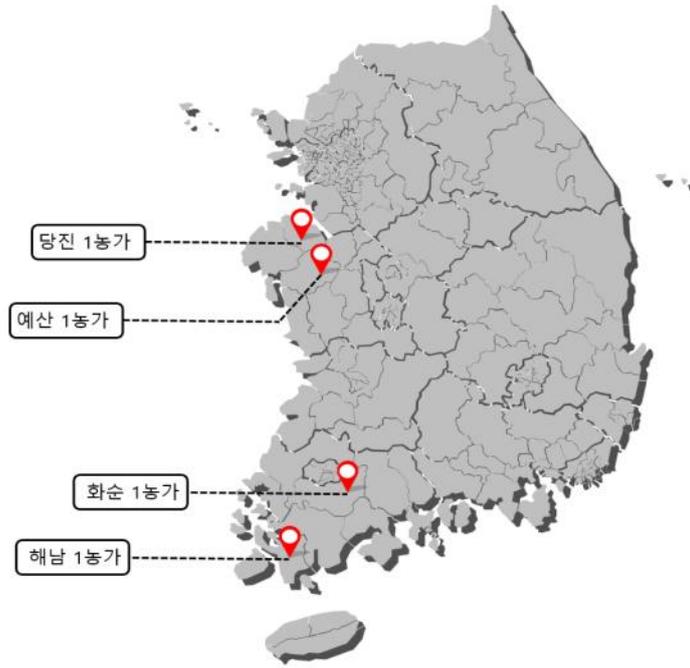
<그림> 전북 정읍시 채집샘플(농가2)



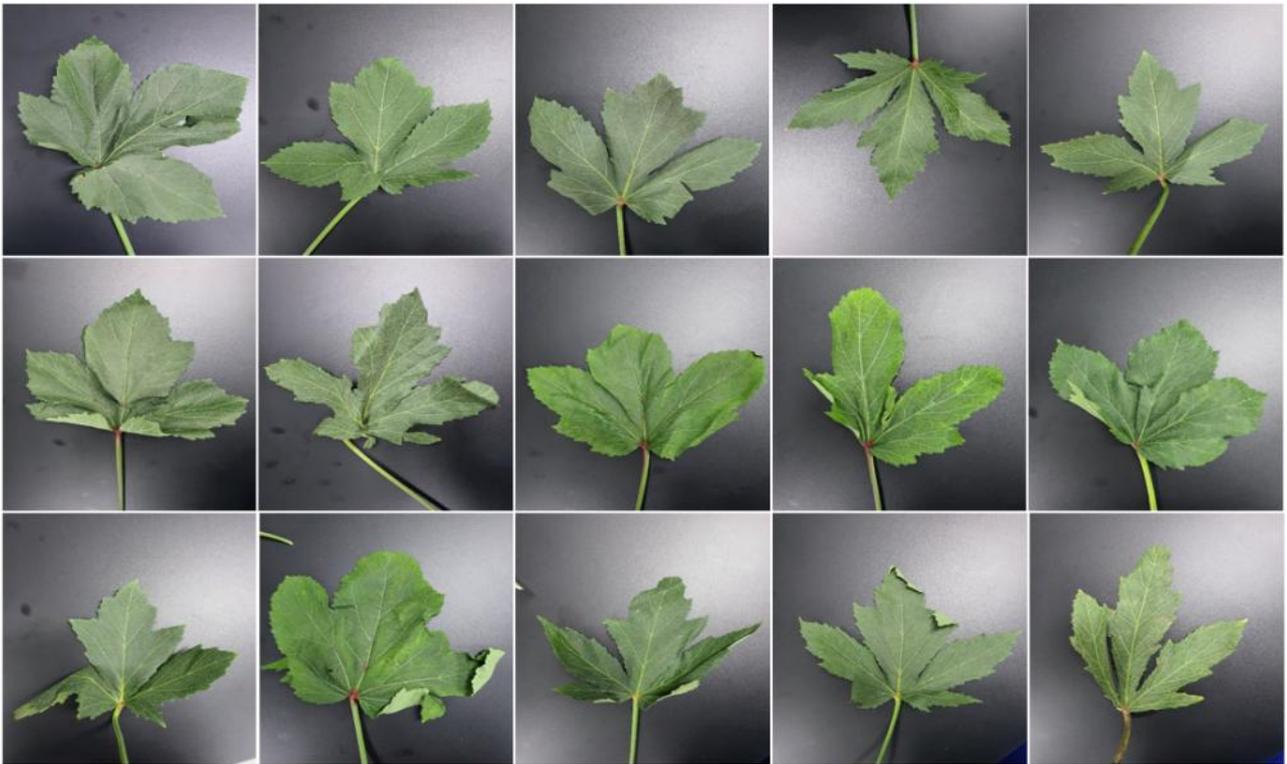
<그림> 전남 강진군 채집샘플



<그림> 경남 창원군 채집샘플



<그림> 오크라 채집 지역 (4지역, 4농가, 56샘플)



<그림> 충청남도 당진시 채집샘플



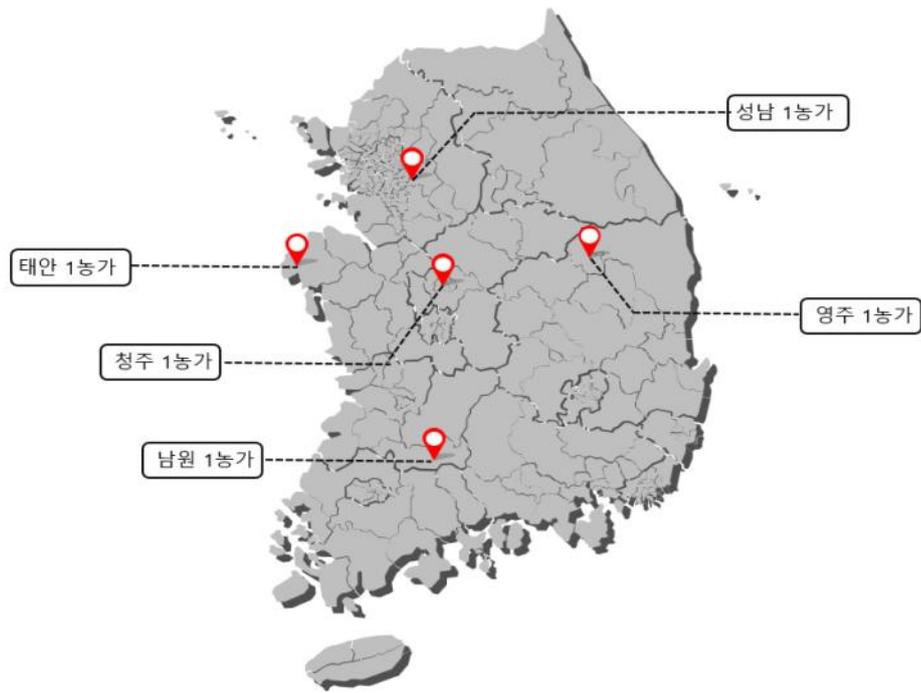
<그림> 충청남도 예산군 채집샘플



<그림> 전라남도 화순군 채집샘플



<그림> 전라남도 해남군 채집샘플



<그림> 삼채 채집 지역 (5지역, 5농가, 62샘플)



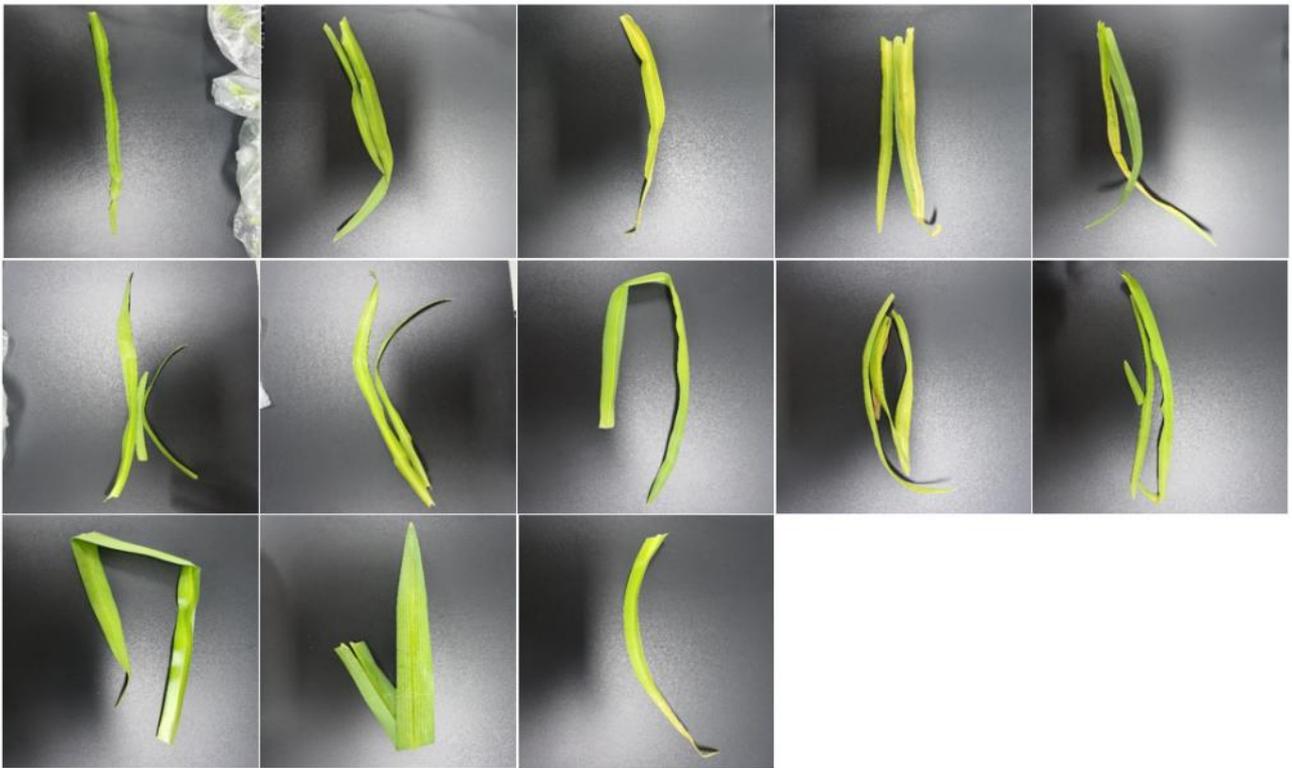
<그림> 경기도 성남시 채집샘플



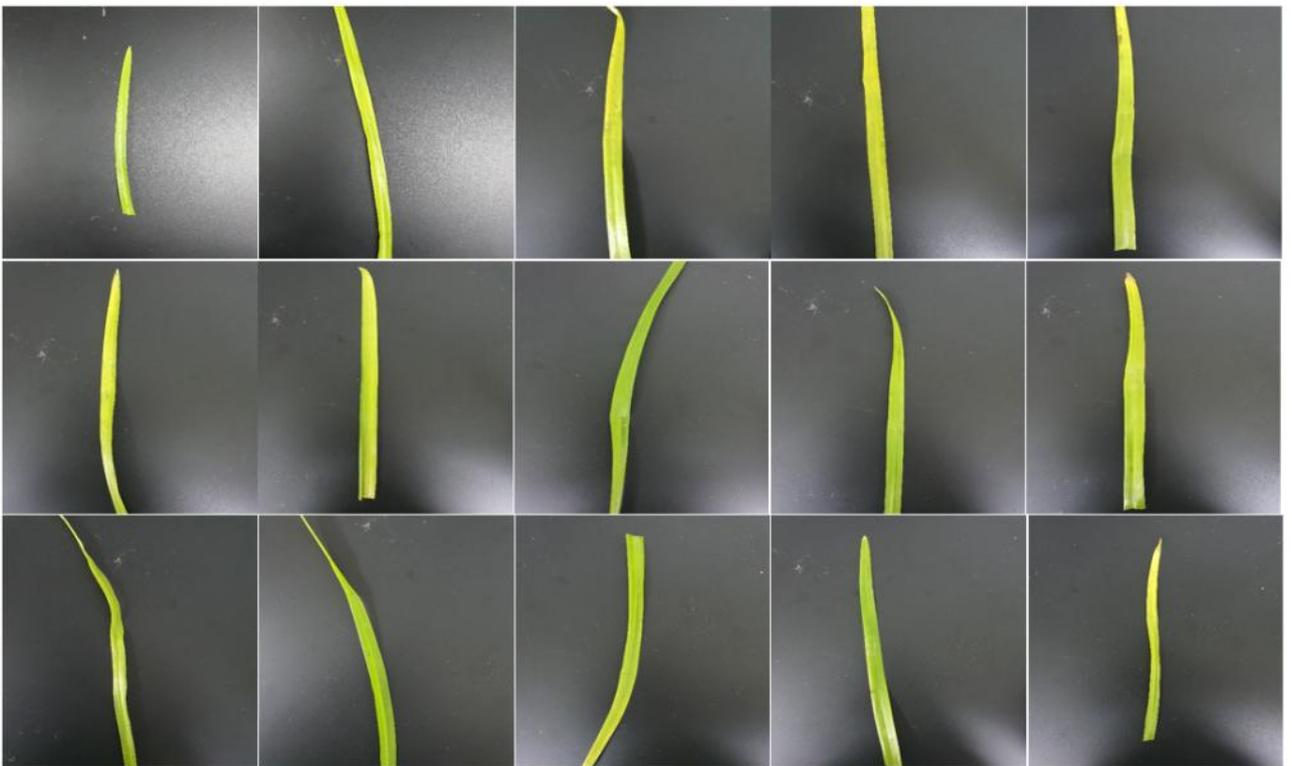
<그림> 충청북도 청주시 채집샘플



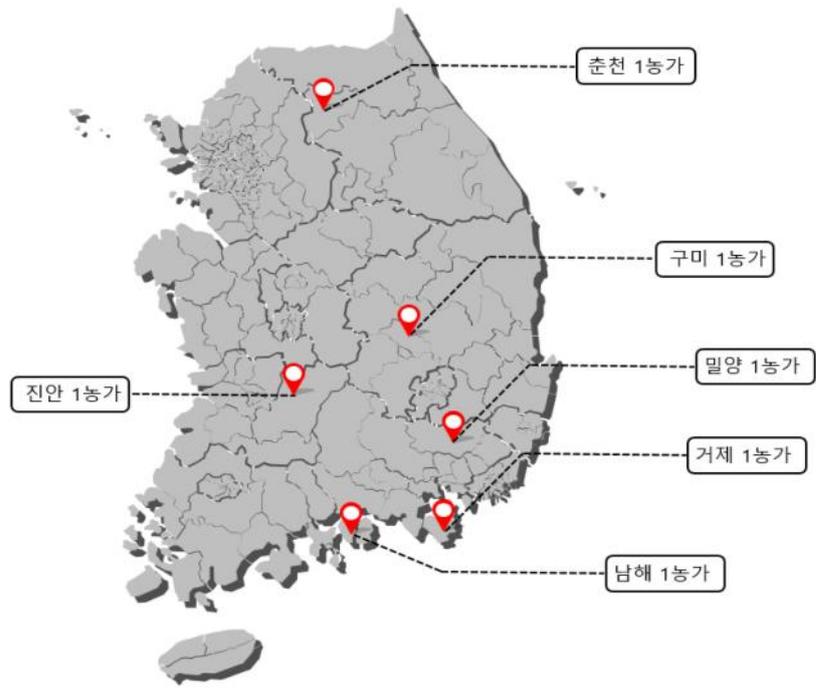
<그림> 충청남도 태안군 채집샘플



<그림> 전라북도 남원시 채집샘플



<그림> 경상북도 영주시 채집샘플



<그림> 암빈 채집 지역 (6지역, 6농가, 90샘플)



<그림> 강원도 춘천시 채집샘플



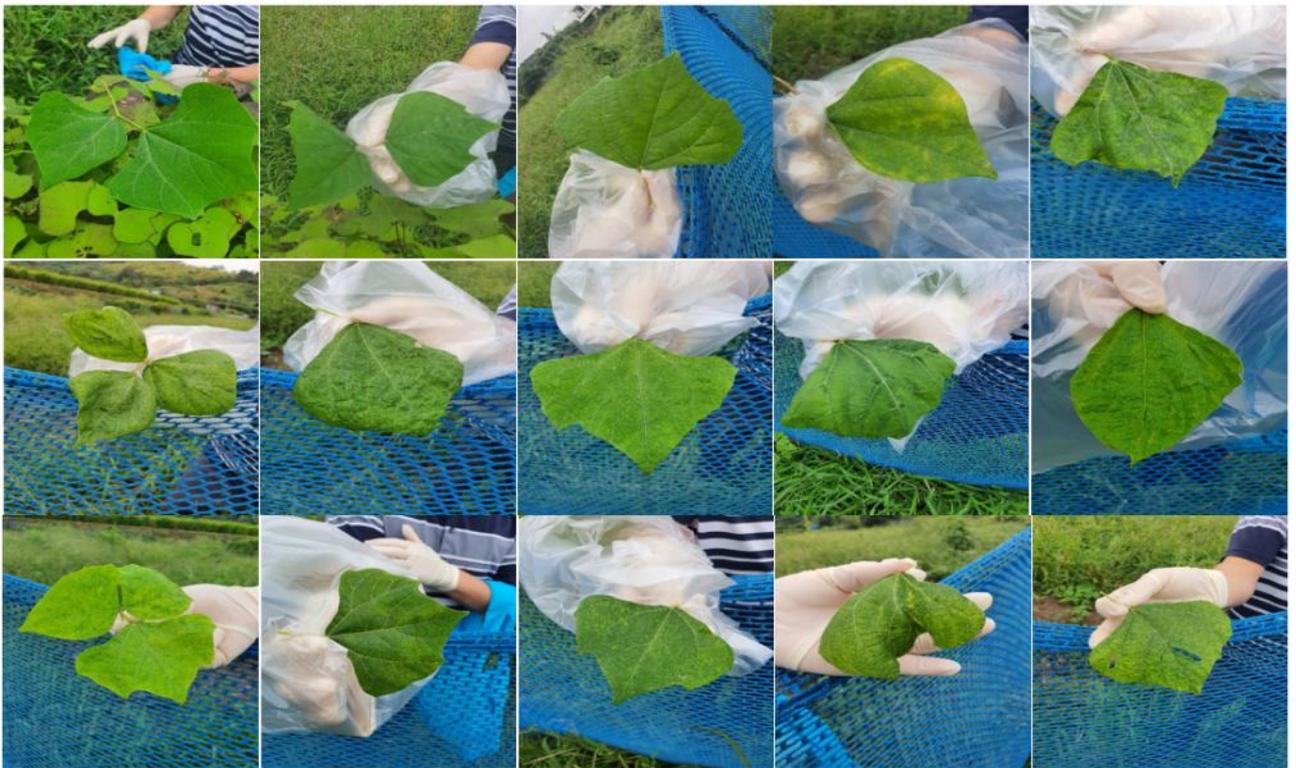
<그림> 전라북도 진안군 채집샘플



<그림> 경상북도 구미시 채집샘플



<그림> 경상남도 밀양시 채집샘플



<그림> 경상남도 거제시 채집샘플



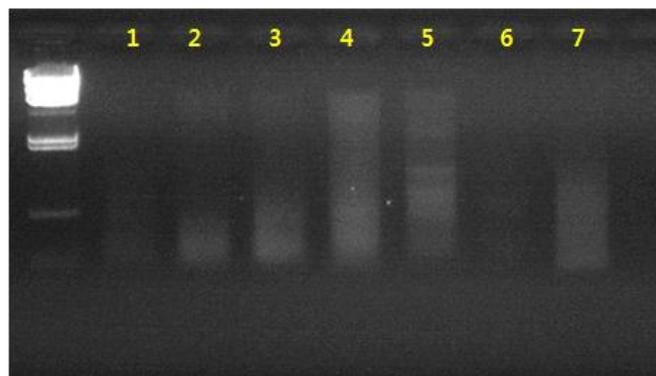
<그림> 경상남도 남해군 채집샘플

3. 채집 샘플의 감염 바이러스 분석 및 국내 해외유입 바이러스 검출용 프라이머 제작

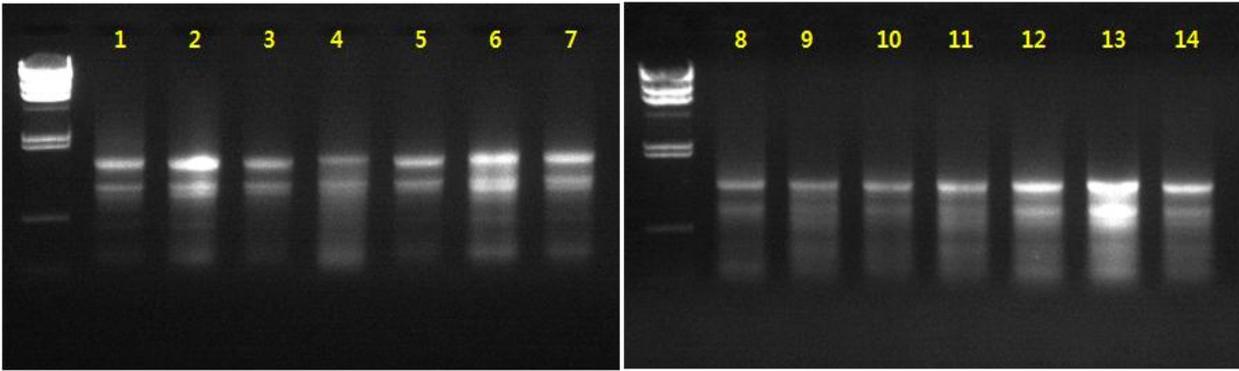
1) 작물별 New Generation Sequencing (NGS) 분석을 통한 감염 바이러스 분석

(1) NGS 분석을 위한 total RNA 추출 및 QC 분석

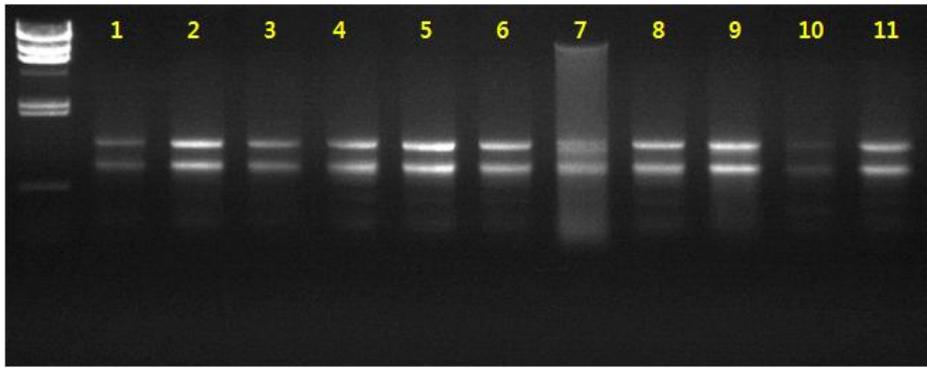
- 국내 아열대 작물에서 감염되어 있는 바이러스를 조사하기 위해서 1차년도에 채집한 아열대작물 10 품종(용과, 파파야, 바나나, 구아바, 망고, 백향과, 여주, 오크라, 삼채, 암빈)에 대한 New Generation Sequencing (NGS) 분석을 하기 위해 total RNA를 다음과 같이 추출하였음.



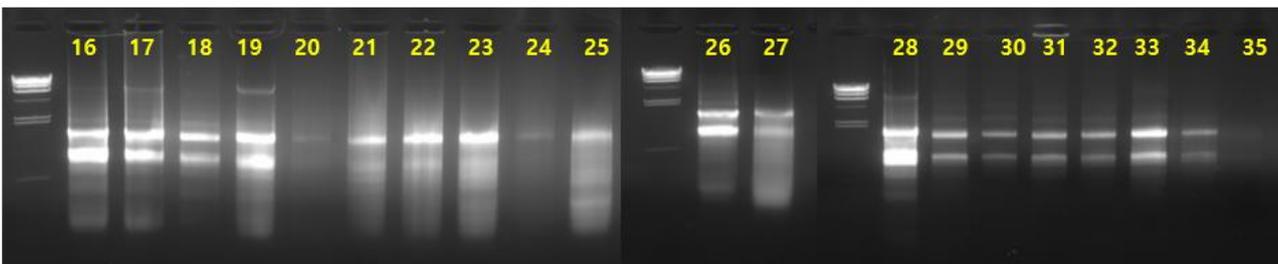
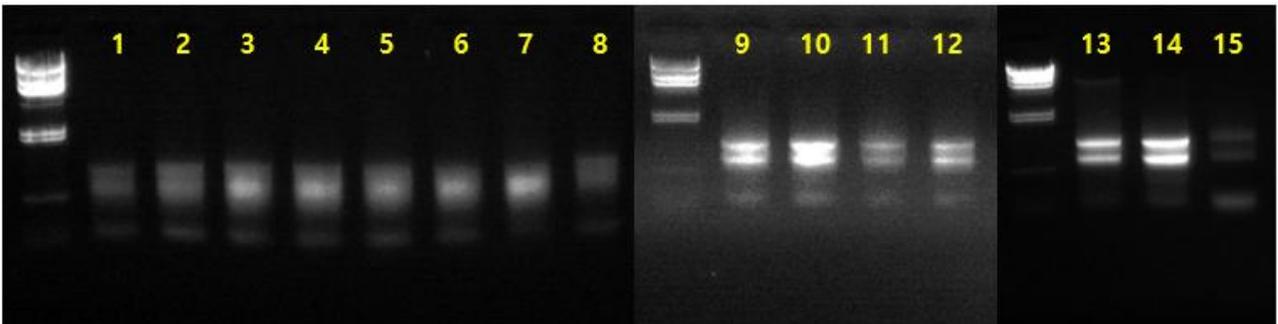
<그림> NGS분석을 위한 용과 샘플에서 추출한 total RNA (#1 강원도 삼척, #2 충청북도 청주, #3 전라남도 구례, #4 경상남도 고성, #5 제주도 제주시, #6 제주도 서귀포, #7 제주도 서귀포)

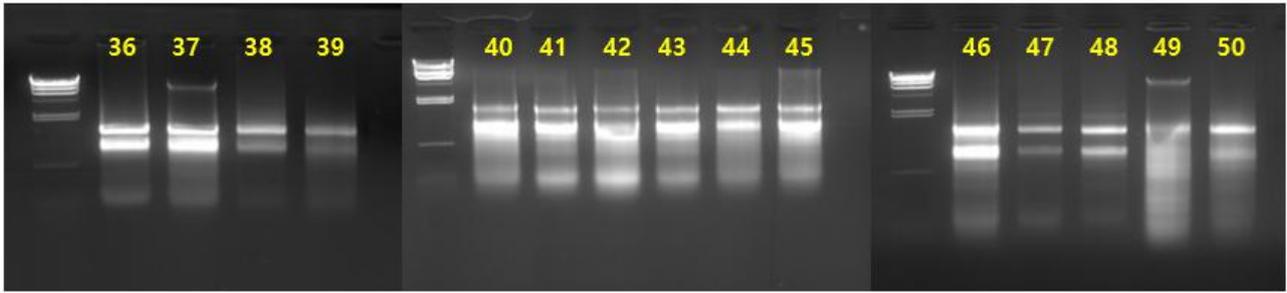


<그림> NGS분석을 위한 파파야 샘플에서 추출한 total RNA (#1 강원도 삼척, #2 충청북도 청주, #3 충청북도 청주, #4 충청남도 태안, #5 전라북도 김제, #6 전라남도 구례, #7 전라남도 장흥, #8 전라남도 무안, #9 경상북도 경주, #10 경상남도 진주, #11 경상남도 합천, #12 제주도 서귀포, #13 제주도 서귀포)

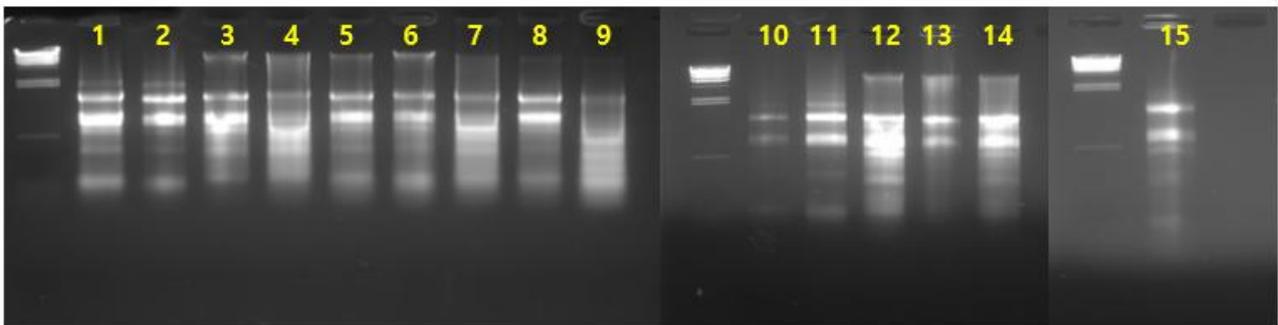


<그림> NGS분석을 위한 바나나 샘플에서 추출한 total RNA (#1 충북 청주, #2 충청남도 태안, #3 전라남도 해남, #4 전라남도 해남, #5 전라남도 해남, #6 경상남도 사천, #7 경상남도 산청, #8 경상남도 합천, #9 제주도 제주시, #10 제주도 서귀포, #11 제주도 서귀포)





<그림> NGS분석을 위한 구아바, 망고, 백향과, 여주 샘플에서 추출한 total RNA (#1 구아바 경기 고양, #2 구아바 경기 이천, #3 구아바 충북 청주, #4 구아바 충북 충주, #5 구아바 충남 당진, #6 구아바 전북 정읍, #7 구아바 전북 김제, #8 구아바 제주 제주, #9 망고 강원 삼척, #10 망고 충남 당진, #11 망고 전북 김제, #12 망고 제주 서귀포, #13 백향과 강원 철원, #14 백향과 충북 청주, # 15 백향과 제주 제주, #16 여주 전북 정읍1, #17 여주 전북 정읍2, #18 망고 전남 영광, #19 백향과 전북 정읍, #20 백향과 전북 남원, #21 백향과 전북 김제1, #22 백향과 전북 김제2, #23 백향과 전북 김제3, #24 백향과 전북 고창, #25 백향과 전북 담양, #26 여주 강원 홍천, #27 여주 강원 철원, #28 여주 전남 강진, #29 망고 전남 여수, #30 망고 전남 강진1, #31 망고 전남 강진2, #32 백향과 전남 순천1, #33 백향과 전남 순천2, #34 백향과 전남 광양, #35 구아바 전남 장흥, #36 망고 경기 평택, #37 백향과 경기 평택, #38 백향과 경기 안성, #39 백향과 경북 예천, #40 여주 경기 양주1, #41 여주 경기 양주2, #42 여주 경기 여주, #43 여주 충남 천안, #44 여주 충남 공주, #45 여주 충남 당진, #46 여주 경남 창원, #47 망고 경남 통영, #48 망고 경남 함안, #49 백향과 경남 진주, #50 백향과 경남 하동



<그림> NGS분석을 위한 오크라, 삼채, 양빈 샘플에서 추출한 total RNA (#1 오크라 전남 화순, #2 오크라 전남 해남, #3 삼채 전북 남원, #4 삼채 경북 영주, #5 양빈 전북 진안, #6 양빈 경북 구미, #7 양빈 경남 밀양, #8 양빈 경남 거제, #9 양빈 경남 남해, #10 오크라 충남 당진, #11 오크라 충남 예산, #12 삼채 경기 성남, #13 삼채 충북 청주, #14 삼채 충남 태안, #15 양빈 강원 춘천

- 각 작물로부터 total RNA의 추출 방법은 다음과 같음.

[용과] - TRIzol (Invitrogen Corp.)

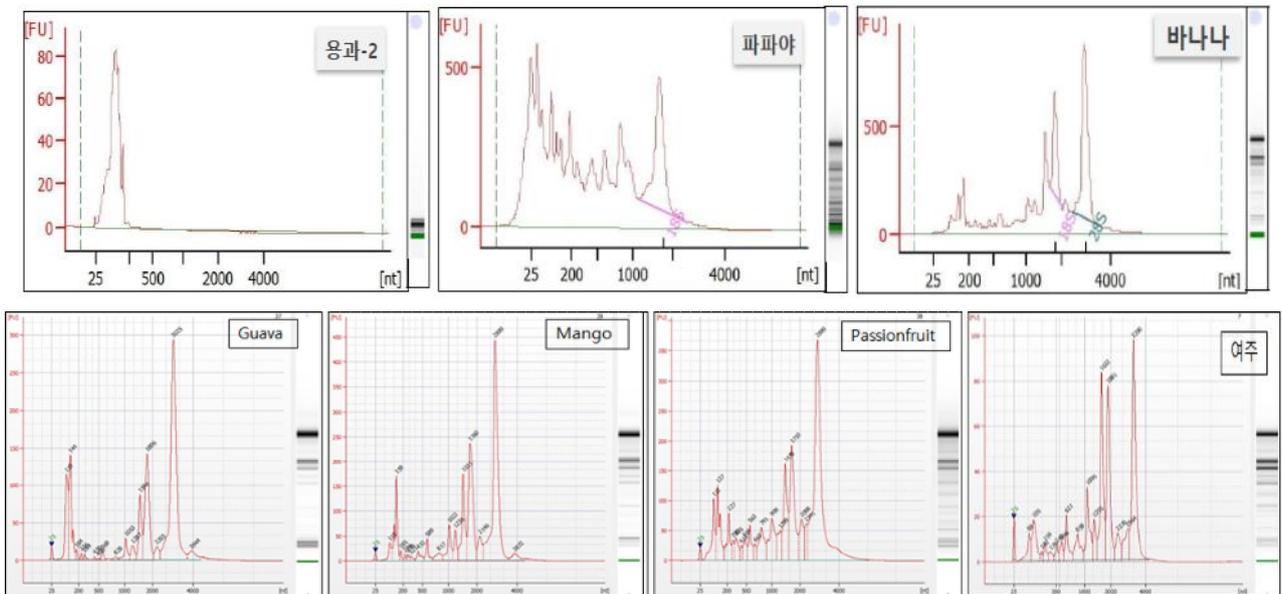
- ① 시료를 믹서기에 넣고 갈아준다.
- ② 2ml tube에 옮겨 담고, TRIzol 1ml을 넣는다. (in Fume Hood)
- ③ Vortexing해준뒤 상온에서 5min간 incubation
- ④ Centrifuge 13,000g/5min 4℃
- ⑤ 새로운 1.5ml tube에 상층액과 Chloroform 200ul를 넣은 후 vortexing 해준다.
- ⑥ 5분간 상온에서 incubation 해준 뒤, Centrifuge 12,000g/15min 4℃
- ⑦ 새로운 1,5ml tube에 상층액과 isopropanol 500ul를 넣고 vortexing 해준다.

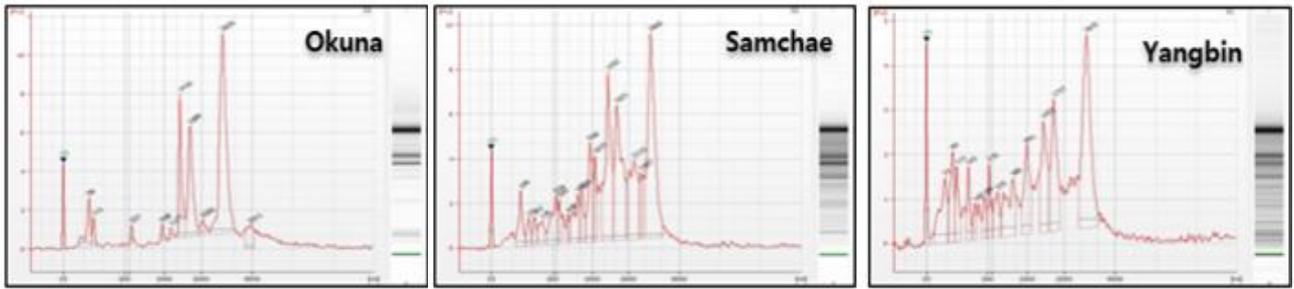
- ⑧ -20℃에서 2시간동안 incubation 해준다
- ⑨ Centrifuge 12,000g/10min 4℃
- ⑩ 75% ethanol 1ml로 wash 해준다. Centrifuge 7,500g/5min 4℃
- ⑫ 용액은 버리고(pellet이 안떨어지게 조심해서) 상온에서 tube를 말려준다
- ⑬ DEPC-DW 30ul에 pellet을 녹여준다.
- ⑭ 전기영동을 통해 RNA를 확인한다.

[파파야, 바나나, 구아바, 망고, 백향과, 여주, 오크라, 삼채, 암빈] – Plant RNA Extraction Kit (iNtRONbio or QIAGEN)

- ① 막자사발에 시료를 넣고 액체질소를 부어주며 곱게 갈아준다.
- ② 시료를 1.5ml tube에 옮겨 담고, Buffer RLE 450ul와 β-mercaptoethanol 4.5ul를 넣은 후 vortexing 해준다. (in Fume Hood)
- ③ Sieve Spin Column에 옮겨 담고, Centrifuge 13,000rpm/2min
- ④ 걸러져 나온 용액을 gDNA Remover Spin Column에 넣고, Centrifuge 13,000/2min 4℃
- ⑤ 걸러져 나온 용액에 Buffer RB를 300ul 넣고, pipetting 해준다
- ⑥ binding Column에 옮겨 담고, Centrifuge 13,000/2min 4℃
- ⑦ 걸러져 나온 용액을 버리고 Column에 Buffer RW1을 600ul 넣은 후, Centrifuge 13,000rpm/1min 4℃
- ⑧ 걸러져 나온 용액을 버리고 Column에 Buffer RW2를 800ul 넣은 후, Centrifuge 13,000rpm/1min 4℃
- ⑨ 걸러져 나온 용액을 버리고, Centrifuge 13,000rpm/2min 4℃
- ⑩ 새로운 1.5ml tube에 Column을 넣고, 30ul Buffer RE를 membrane에 직접 넣어준다
- ⑪ 실온에서 2min간 incubation시켜준다
- ⑫ Centrifuge 13,000rpm/2min 4℃ 하여 RNA를 추출한다.
- ⑬ 전기영동을 통해 RNA를 확인한다.

- NGS library 제작을 위해 샘플에서 추출한 total RNA의 QC 결과는 다음과 같음.





<그림> Total RNA QC 분석 결과

[표] Total RNA QC 분석 결과 (분석장비: BioAnalyzer 2100 및 6000 pico chip, Agilent 社)

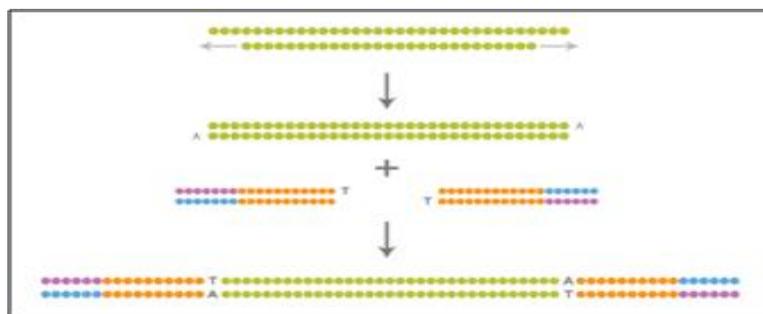
No.	Sample	Conc. (ng/ul)	Total Amount (ug)	RIN
1	용과	186	8820	2.6
2	파파야	313	21910	6
3	바나나	149	16390	7.6
4	구아바	104	2823	8.7
5	망고	124	4478	8.2
6	백향과	420	19779	7.3
7	여주	818	35214	7.2
8	오크라	393	28331	8.2
9	삼채	646	498	5.6
10	얌빈	462	37433	5.9

(2) 10종 아열대 작물 식물 바이러스 통계분석

[RNA library 제작]

- Illumina사의 Ribo-zero rRNA (plant용) remove kit을 사용하여 rRNA를 제거한 후 다음과 같은 과정으로 cDNA library를 제작.

- ① 분리한 total RNA로부터 ribo zero removal solution을 이용하여 rRNA를 제거한 후 RNA Clean XP 를 사용하여 RNA를 정제 및 회수.
- ② RNA를 fragmentation 한 후 random primer를 사용하여 cDNA를 합성 한 후 A-tailing mix 를 사용하여 3' 말단에 adeny기를 붙여 준 후, RNA adapter를 ligation하고 AMPure XP beads를 사용하여 washing 함.

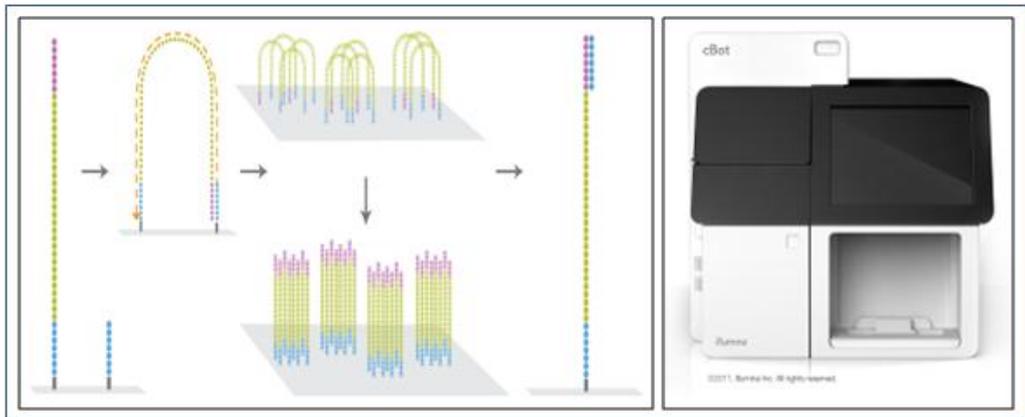


<그림> RNA로부터 library 제작 원리

- ③ RNA adapter를 ligation 한 후 PCR primer cocktail과 PCR master mix를 넣고 라이브러리를 enrich 시킴.
- ④ PCR이 끝나면 AMPure XP bead로 washing 하고, Agilent D5000 ScreenTape system과 LightCycle qPCR을 사용하여 library의 size와 농도 확인

[Library clustering]

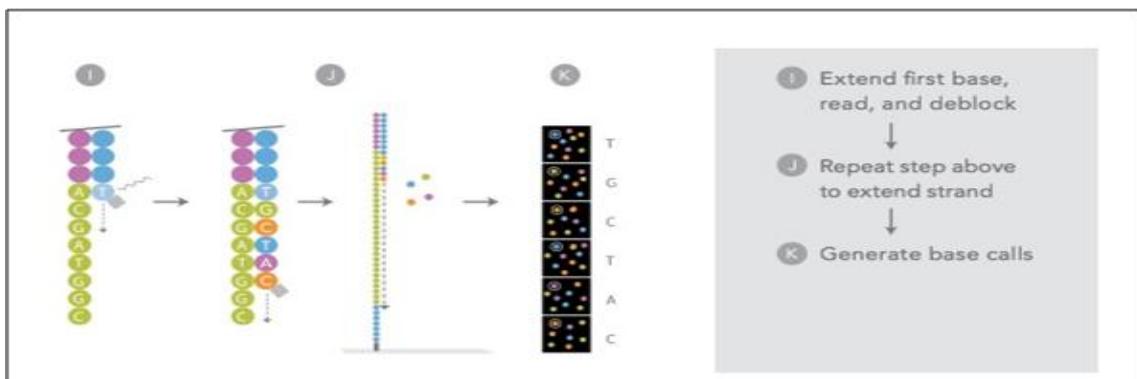
- ① qPCR 과정을 통해 적당한 농도로 희석한 library를 denaturation 과정을 거쳐 oligonucleotides가 깔려 있는 flow cell로 옮김.
- ② Denaturation된 DNA fragments는 oligonucleotides 와 결합하여 3' 으로 extension 되어 double strand를 형성하게 되고, 끝 말단은 다시 primer와 hybridize 되어 U-shaped bridge template를 형성함.
- ③ DNA bridge는 primer로부터 copy 되어 double strand DNA bridge를 형성하고 다시 denaturation 과정을 반복하면서 새로운 bridge template를 형성하는데 이 과정을 35회 반복하여 2,000 molecules 이상의 cluster를 만듦.
- ④ Reverse strand specific primer를 cleavage시켜 forward strand만 남게 한 후 sequencing primer를 hybridization함.
- ⑤ Clonal cluster가 형성된 flow cell은 illumina sequencing 장비로 옮겨져 sequencing을 진행



<그림> Clustering 과정

[NGS data 생산]

- ① Cluster가 형성된 flow cell은 Illumina Hiseq 4000에 장착되어 sequencing 이 이루어지고 automated analysis pipeline을 통해 image analysis to locate clusters, base calling, demultiplexing of lanes, alignment of sequences to a reference genome, Quality control, delivery of the data to a user accessible folder 과정을 거침으로써 염기서열을 확보



<그림> Sequencing using Hiseq 4000 system

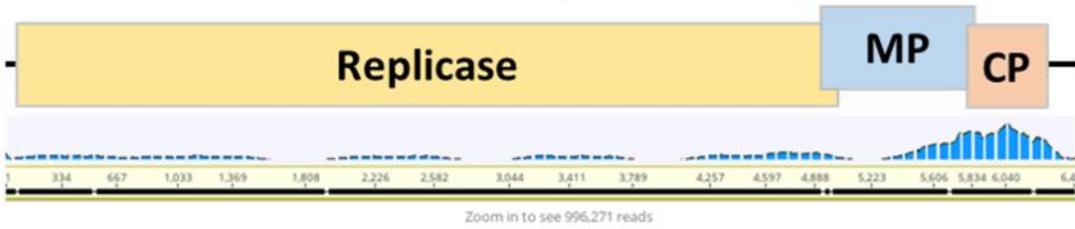
- 10종 아열대 작물에서 확인된 식물바이러스 목록은 아래와 같음.

[표] 10종 아열대 작물 NGS 분석을 통한 식물 바이러스 목록

작물	Virus name	# contigs	# reads	Accession	Identity
용과	Cactus mild mottle virus (CMMoV)	45	856397	NC011803	84.8
	Cactus virus X (CVX)	1434	12691686	NC002815	100
	Pitaya virus X (PIVX)	497	4059155	NC024458	100
	Watermelon mosaic virus (WMV)	13	330	NC006262	85.6
	Zygocactus virus X (ZyVX)	416	4506156	NC006059	94.6
파파야	Cactus virus X (CVX)	17	570	NC002815	96.64
	Zygocactus virus X (ZyVX)	5	60	NC006059	97.14
	Pitaya virus X (PIVX)	7	54	NC024458	98.83
	Milk vetch dwarf virus (R) (MVDV)	2	468	NC003648	90.32
	Faba bean yellow leaf virus (S) (FBYLV)	2	493	NC038910	83.76
바나나	Cactus virus X (CVX)	10	2,162	NC002815	97
	Cucumber mosaic virus (RNA1) (CMV)	9	33,104	NC002034	91
	Schlumbergera virus X (SchVX)	1	1,942	NC011659	91
	Zygocactus virus X (ZyVX)	2	87	NC006059	79
구아바	Citrus tristeza virus (CTV)	31	2,023	NC001661	94.2
	Cactus virus X (CVX)	2	9	NC002815	97.7
	Citrus leaf blotch virus (CLV)	6	514	NC003877	98.3
	Humulus japonicus latent virus (HJLV)	2	18	NC006066	97
	Citrus dwarfing viroid (CDVd)	1	26	NC003264	97.2
망고	Passiflora latent virus (PLV)	1	6	NC008292	93.2
				NC002034	97.9
	Cucumber mosaic virus (CMV)	11	203	NC002035	95.9
			NC001440	95.4	
			NC002034	98.7	
백향과	Cucumber mosaic virus (CMV)	19	2,244,289	NC002035	98.6
				NC001440	98.1
	Cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV)	4	49	NC003688	95.8
	Euphorbia leaf curl virus (EuLCV)	3	550	NC005319	95.6
	Papaya leaf curl Guandong virus (PaLCuGdV)	4	464	NC005844	96.2
	East Asian Passiflora virus (EAPV)	4	147,954	NC007728	98.7
	Passiflora latent virus (PLV)	6	4,644,351	NC008292	98.5
여주	Beet western yellows virus (BWYV)	8	457	NC004756	96.9
				NC002034	95.9
	Cucumber mosaic virus (CMV)	18	463,946	NC002035	98.1
			NC001440	95.4	
	Cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV)	5	54,732	NC003688	96.1
	Melon aphid-borne yellows virus (MABYV)	1	12	NC010809	97.2
	Turnip yellows virus (TuYV)	1	247	NC003743	97.4
	Watermelon mosaic virus (WMV)	20	1,830	NC006262	92.2
	Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV)	15	75,455	NC003224	94.4
오크라	Watermelon mosaic virus (WMV)	9	48,070	NC006262	99.1
삼채	Watermelon mosaic virus (WMV)	13	7,584	NC006262	96.7
얌빈	Watermelon mosaic virus (WMV)	8	5,294	NC006262	99.3
	Bean common mosaic virus (BCMV)	13	2,232,716	NC003397	98

- 10종 아열대 작물의 식물 바이러스의 contig mapping 결과

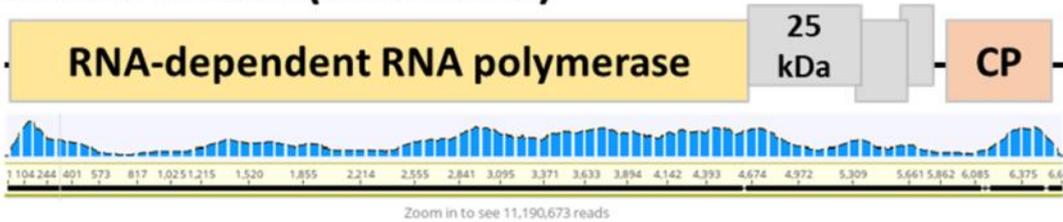
Cactus mild mottle virus (NC011803)



<그림> 용과 Cactus mild mottle virus의 맵핑 결과

- 용과에서 확인된 5종의 식물 바이러스의 reference 유전체에 read를 맵핑함.
- 용과에서 검출된 Cactus mild mottle virus (CMMoV)는 genome mapping을 통해 그림과 같은 결과를 얻었고, 996,271개의 read가 82.7%로 맵핑되었고 98.7%의 pair-wise Identity를 보임.

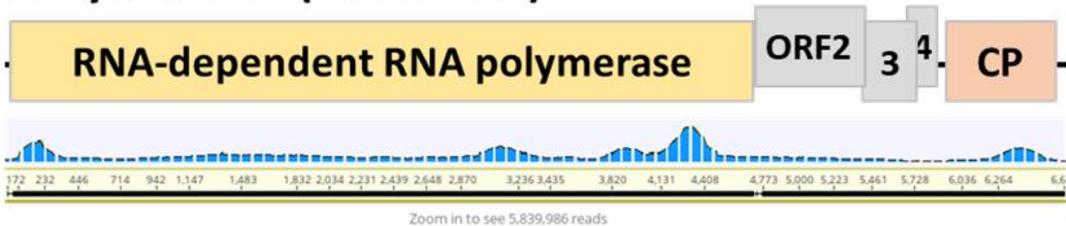
Cactus virus X (NC002815)



<그림> 용과 Cactus virus X의 맵핑 결과

- 용과에서 검출된 Cactus virus X (CVX)는 genome mapping을 통해 그림과 같은 결과를 얻었고, 11,190,673개의 read가 100%로 맵핑되었고 91.6%의 pair-wise Identity를 보임.

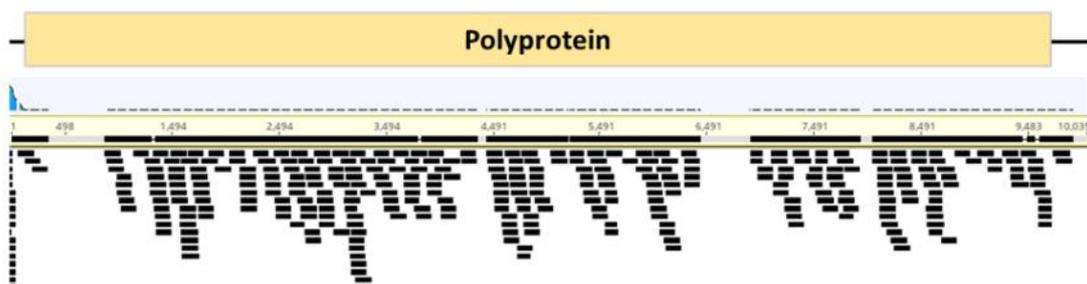
Pitaya virus X (NC024458)



<그림> 용과 Pitaya virus X의 맵핑 결과

- 용과에서 검출된 Pitaya virus X (PiVX)는 genome mapping을 통해 그림과 같은 결과를 얻었고, 5,839,986개의 read가 100%로 맵핑되었고 89.8%의 pair-wise Identity를 보임.

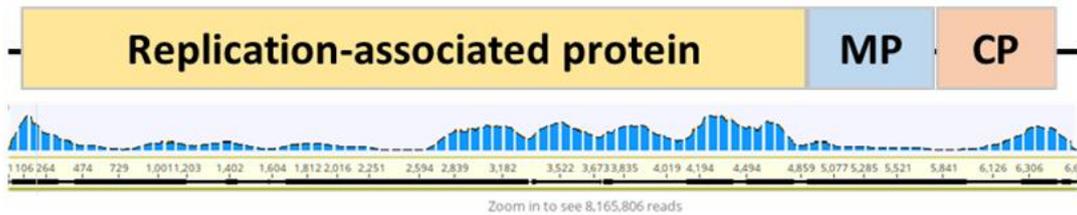
Watermelon mosaic virus (NC006262)



<그림> 용과 Watermelon mosaic virus의 맵핑 결과

- 용과에서 검출된 Watermelon mosaic virus (WMV)는 genome mapping을 통해 그림과 같은 결과를 얻었고, 3,974개의 read가 86.2%로 맵핑되었고 83.8%의 pair-wise Identity를 보임.

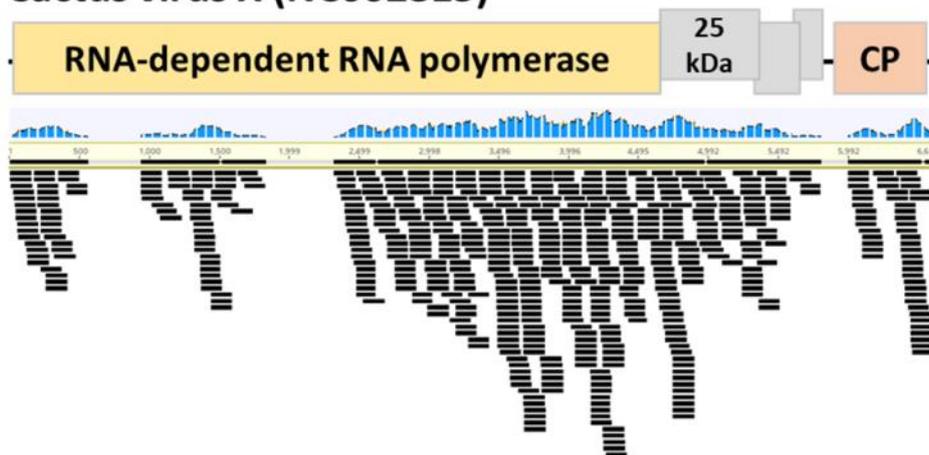
Zygotocactus virus X (NC006059)



<그림> 용과 Zygotocactus virus X의 맵핑 결과

- 용과에서 검출된 Zygotocactus virus X (ZyVX)는 genome mapping을 통해 그림과 같은 결과를 얻었고, 8,165,806개의 read가 100%로 맵핑되었고 72.5%의 pair-wise Identity를 보임.
- 최종적으로 용과 시료에서 NGS 분석을 수행한 결과, 5종(Cactus mild mottle virus, Cactus virus X, Pitaya virus X, Watermelon mosaic virus, Zygotocactus virus X)의 식물 바이러스가 확인됨.

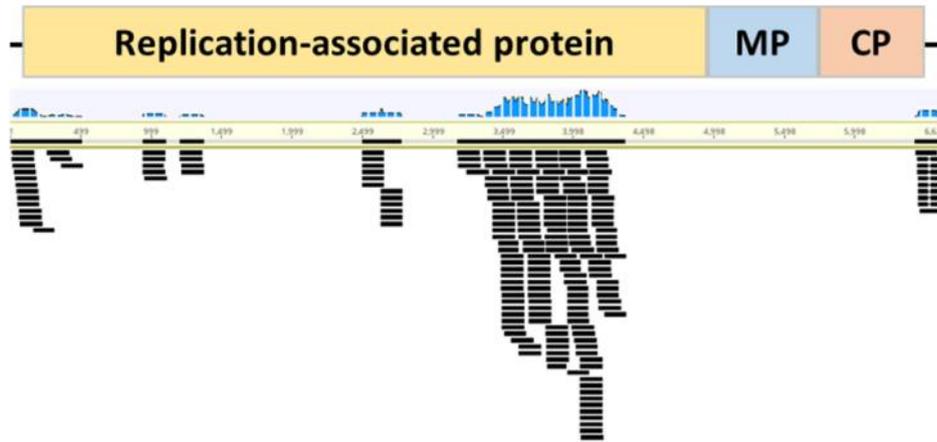
Cactus virus X (NC002815)



<그림> 파파야 Cactus virus X의 맵핑 결과

- 파파야에서 확인된 5종의 식물 바이러스의 reference 유전체에 read를 맵핑함.
- 파파야에서 검출된 Cactus virus X (CVX)는 genome mapping을 통해 그림과 같은 결과를 얻었고, 552개의 read가 83.8%로 맵핑되었고 96.3%의 pair-wise Identity를 보임.

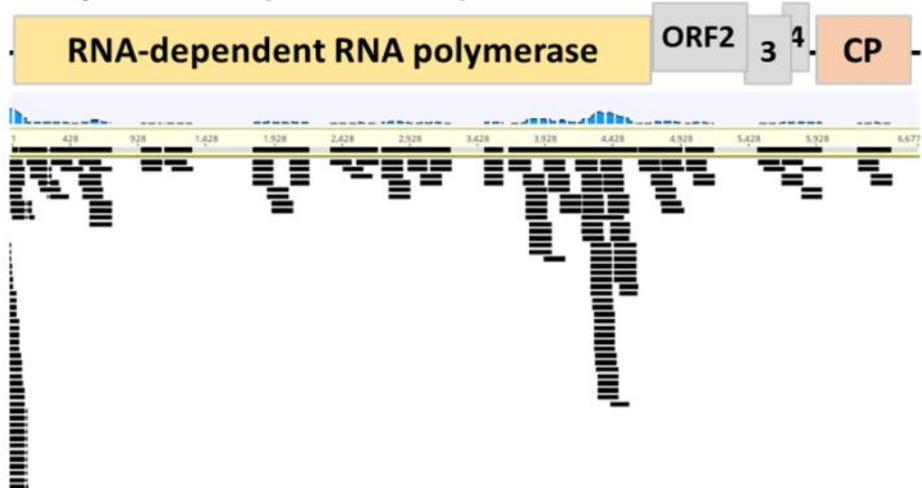
Zygocactus virus X (NC006059)



<그림> 파파야 Zygocactus virus X의 맵핑 결과

- 파파야에서 검출된 Zygocactus virus X (ZyVX)는 genome mapping을 통해 그림과 같은 결과를 얻었고, 250개의 read가 37.6%로 맵핑되었고 90.3%의 pair-wise Identity를 보임.

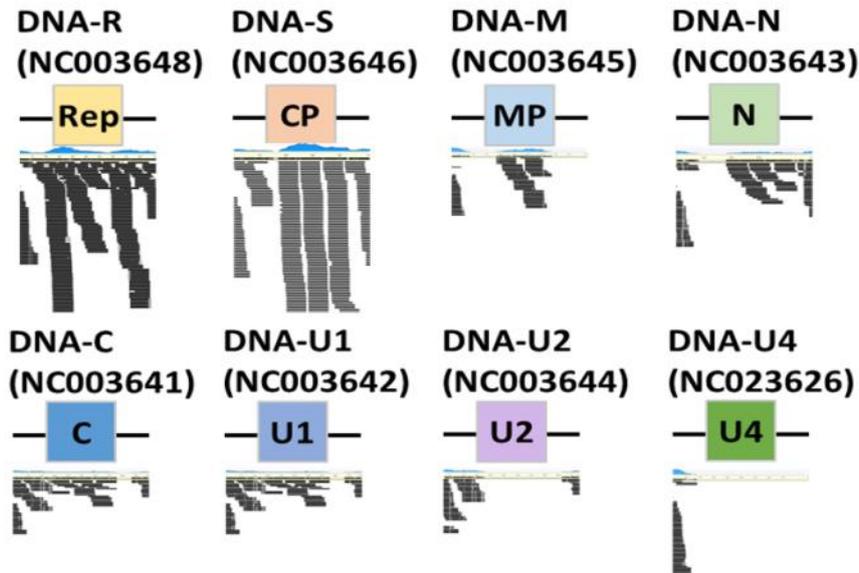
Pitaya virus X (NC024458)



<그림> 파파야 Pitaya virus X의 맵핑 결과

- 파파야에서 검출된 Pitaya virus X (PiVX)는 genome mapping을 통해 그림과 같은 결과를 얻었고, 163개의 read가 69.9%로 맵핑되었고 97.9%의 pair-wise Identity를 보임.

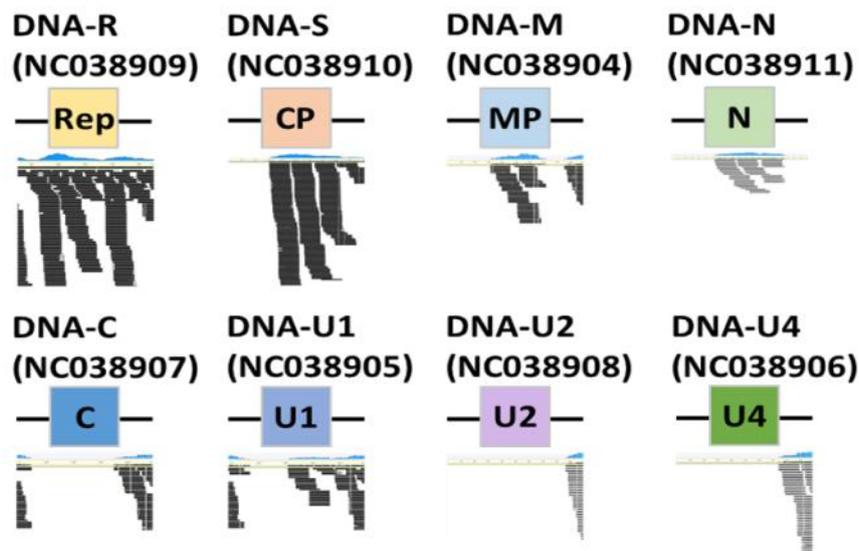
Milk vetch dwarf virus



<그림> 파파야 Milk vetch dwarf virus의 맵핑 결과

- 파파야에서 검출된 Milk vetch dwarf virus (MVDV)는 genome mapping을 통해 그림과 같은 결과를 얻었고, 8개의 genome에 DNA-R은 271개의 read가 97.4%의 pair-wise Identity로 100% 맵핑되었고, DNA-S는 370개의 read가 97%의 pair-wise Identity로 96.1% 맵핑되었고, DNA-M은 63개의 read가 86.4%의 pair-wise Identity로 54.5% 맵핑되었고, DNA-N은 46개의 read가 97%의 pair-wise Identity로 79.7% 맵핑되었고, DNA-C는 46개의 read가 98.8%의 pair-wise Identity로 88.8% 맵핑되었고, DNA-U1은 15개의 read가 99%의 pair-wise Identity로 50.3% 맵핑되었고, DNA-U2는 19개의 read가 97.1%의 pair-wise Identity로 42% 맵핑되었고, DNA-U4는 2개의 read가 86.3%의 pair-wise Identity로 17.6% 맵핑됨.

Faba bean yellow leaf virus

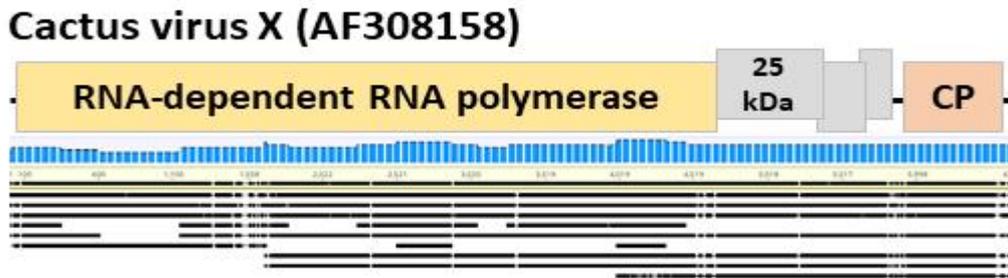


<그림> Faba bean yellow leaf virus의 맵핑 결과

- 파파야에서 검출된 Faba bean yellow leaf virus (FBYLV)는 genome mapping을 통해 그림과 같은 결과를 얻었고, 8개의 genome에 DNA-R은 271개의 read가 97.2%의 pair-wise Identity로 100% 맵핑되었고, DNA-S는 362개의 read가 99.2%의 pair-wise Identity로 69.5% 맵핑되었고, DNA-M은 63개의 read가 93.8%의 pair-wise Identity로 54.3% 맵핑되었고, DNA-N은 42개의 read가 97%의 pair-wise

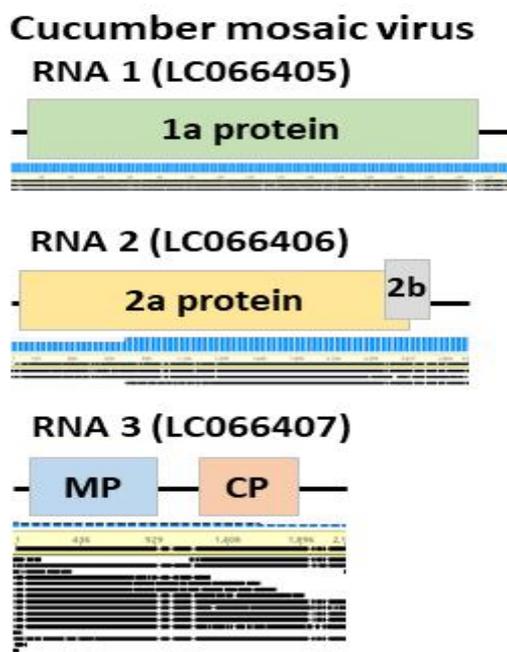
Identity로 51.4% 맵핑되었고, DNA-C는 15개의 read가 96.6% pair-wise Identity로 38.9% 맵핑되었고, DNA-U1은 38개의 read가 96.4%의 pair-wise Identity로 71.5% 맵핑되었고, DNA-U2는 3개의 read가 89.1%의 pair-wise Identity로 13.2% 맵핑되었고, DNA-U4는 14개의 read가 87.5%의 pair-wise Identity로 23.7% 맵핑됨.

- 최종적으로 파파야 시료에서 NGS 분석을 수행한 결과, 5종 (Cactus virus X, Zygocactus virus X, Pitaya virus X, Milk vetch dwarf virus, Faba bean yellow leaf virus)의 식물 바이러스가 확인됨.



<그림> 바나나 Cactus virus X의 맵핑 결과

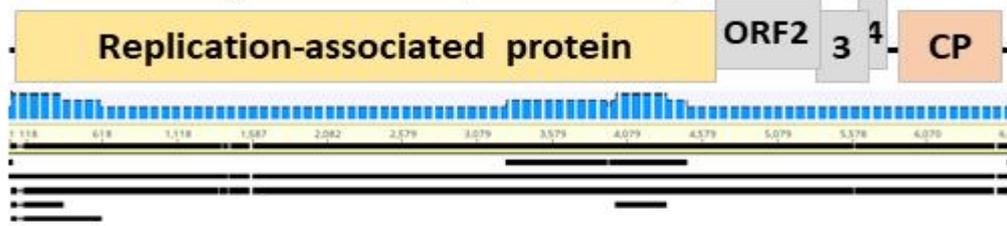
- 바나나에서 확인된 5종의 식물 바이러스 reference 유전체에 contig를 맵핑함.
- 바나나에서 검출된 Cactus virus X는 contig mapping을 통해 그림과 같은 결과를 얻었고, 18개의 contig가 100%로 맵핑됨.



<그림> 바나나 Cucumber mosaic virus의 맵핑 결과

- 바나나에서 검출된 Cucumber mosaic virus (CMV)는 contig mapping을 통해 그림과 같은 결과를 얻었고, RAN1에는 2개, RNA2에는 6개, RNA3에는 19개의 contig가 모두 100%로 맵핑됨.

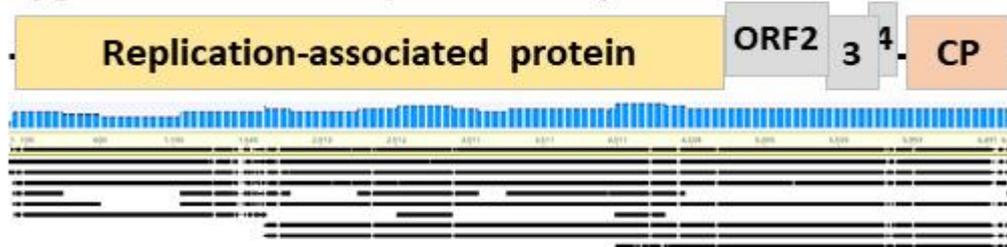
Schlumbergera virus X (KP090203)



<그림> 바나나 Schlumbergera virus X의 맵핑 결과

- 바나나에서 검출된 Schlumbergera virus X (SchVX)는 contig mapping을 통해 그림과 같은 결과를 얻었고, 10개의 contig가 100%로 맵핑됨.

Zygocactus virus X (NC006059)

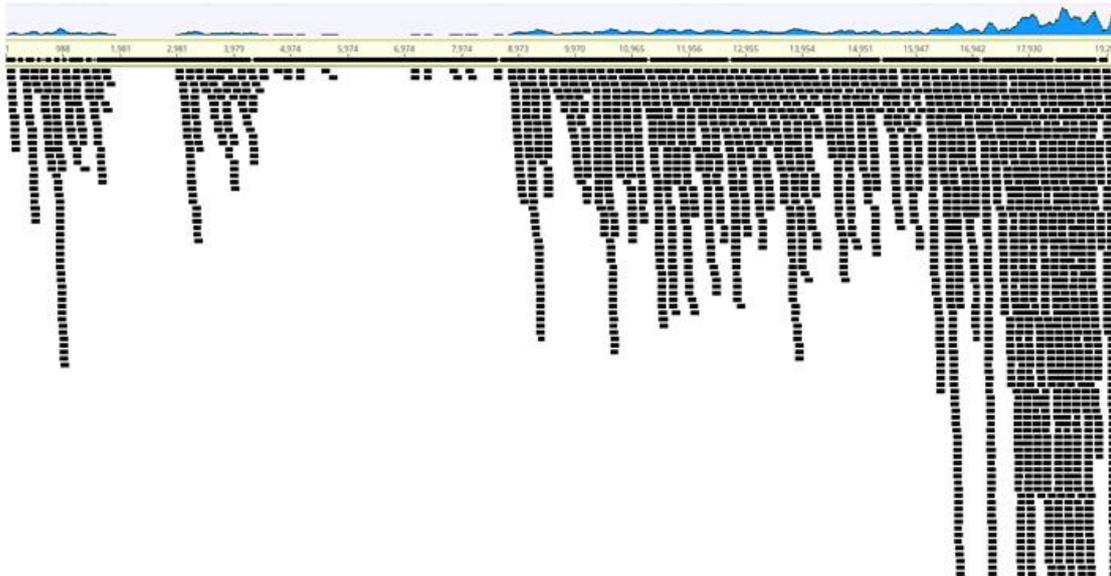


<그림> 바나나 Zygocactus virus X의 맵핑 결과

- 바나나에서 검출된 Zygocactus virus X (ZyVX)는 contig mapping을 통해 그림과 같은 결과를 얻었고, 17개의 contig가 100%로 맵핑됨.
- 바이러스 통계 분석에서 확인된 바이러스 외의 바나나를 감염시키는 3종(Banana bunchy top virus, Banana streak virus, Banana bract mosaic virus)의 식물 바이러스에 맵핑을 한 결과, 모두 맵핑되지 않았음.
- 최종적으로 바나나 시료에서 NGS분석을 수행한 결과, 4종(Cactus virus X, Cucumber mosaic virus, Schlumbergera virus X, Zygocactus virus X)의 식물바이러스가 확인됨.

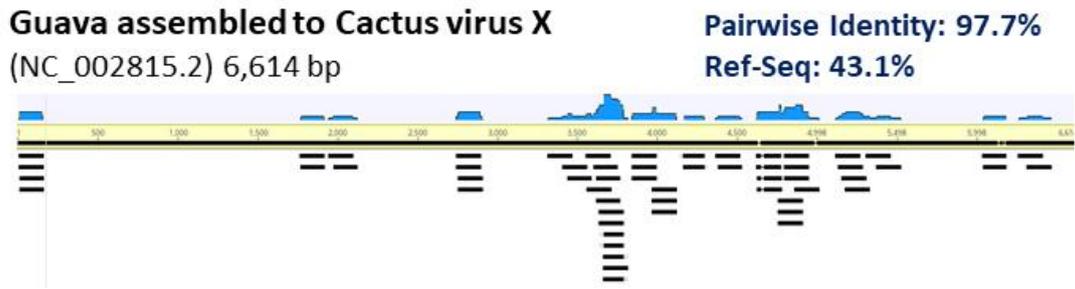
Guava assembled to Citrus tristeza virus
(NC_001661.1) 19,296 bp

Pairwise Identity: 94.2%
Ref-Seq: 80.8%



<그림> 구아바 Citrus tristeza virus의 맵핑 결과

- 구아바에서 확인된 Citrus tristeza virus에 대한 read mapping을 수행한 결과 94.2%의 identity, 80.8%의 coverage가 확인되었다.



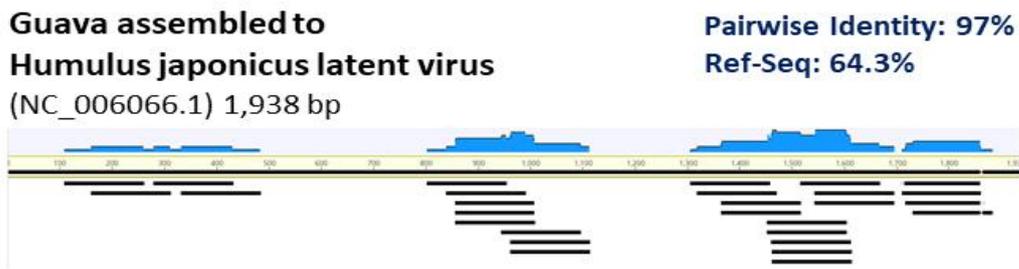
<그림> 구아바 Cactus virus X의 맵핑 결과

- 구아바에서 확인된 Cactus virus X에 대한 read mapping을 수행한 결과 97.7%의 identity, 43.1%의 coverage가 확인되었다. 낮은 coverage로 추후 검증이 필요하다.



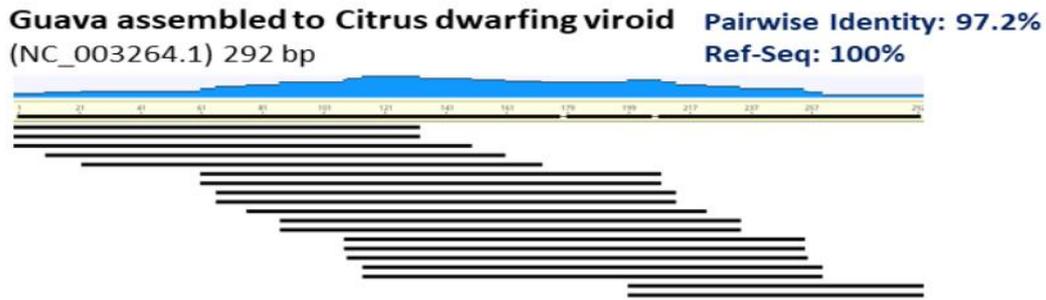
<그림> 구아바 Citrus leaf blotch virus의 맵핑 결과

- 구아바에서 확인된 Citrus leaf blotch virus는 read mapping을 수행한 결과 98.3%의 identity, 98.9%의 coverage가 확인되었다



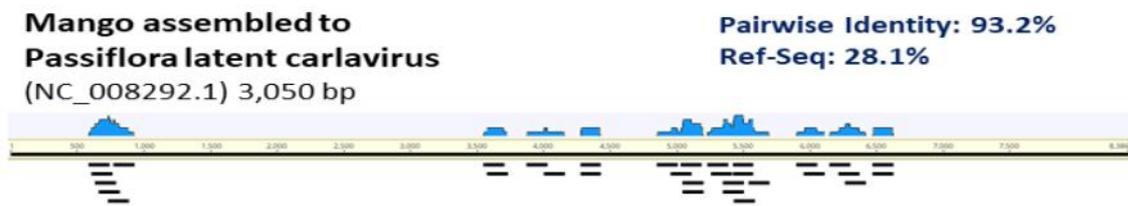
<그림> 구아바 Humulus japonicus latent virus의 맵핑 결과

- 구아바에서 확인된 Humulus japonicus latent virus는 read mapping을 수행한 결과 97%의 identity, 64.3%의 coverage가 확인되었다. 낮은 coverage로 추후 검증이 필요하다.



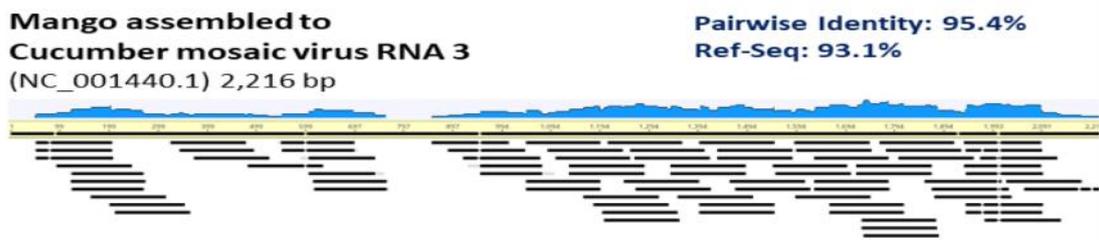
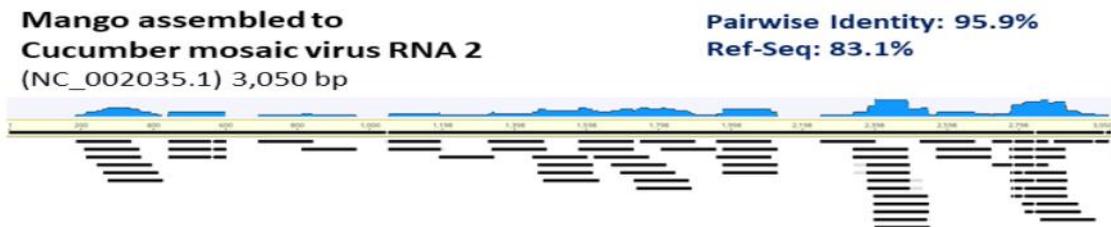
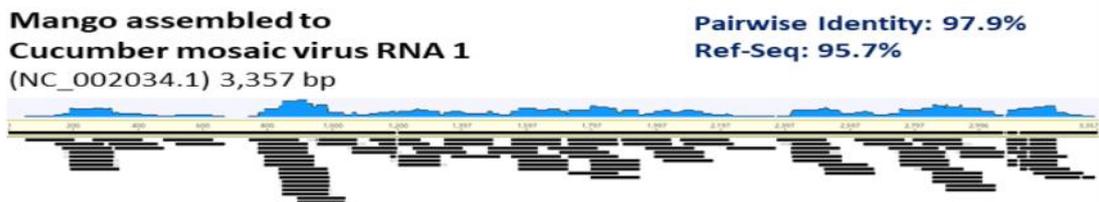
<그림> 구아바 Citrus dwarfing viroid의 맵핑 결과

- 구아바에서 확인된 Citrus dwarfing viroid는 read mapping을 수행한 결과 97.2%의 identity, 100%의 coverage가 확인되었다.



<그림> 망고 Passiflora latent carlavirus의 맵핑 결과

- 망고에서 확인된 Passiflora latent carlavirus는 read mapping을 수행한 결과 93.2%의 identity, 28.1%의 coverage가 확인되었다. 낮은 coverage로 추후 검증이 필요하다.



<그림> 망고 Cucumber mosaic virus의 맵핑 결과

- 망고에서 확인된 Cucumber mosaic virus는 read mapping을 수행한 결과 RNA1의 경우 97.9%의 identity, 95.7%의 coverage를 확인하였고, RNA2의 경우 95.9%의 identity, 83.1%의 coverage를 확인하였고, RNA3의 경우 95.4%의 identity, 93.1%의 coverage를 확인하였다.

**Passionfruit assembled to
Cucumber mosaic virus RNA 1**
(NC_002034.1) 3,357 bp

Pairwise Identity: 98.7%
Ref-Seq: 100%



**Passionfruit assembled to
Cucumber mosaic virus RNA 2**
(NC_002035.1) 3,050 bp

Pairwise Identity: 98.6%
Ref-Seq: 100%



**Passionfruit assembled to
Cucumber mosaic virus RNA 3**
(NC_001440.1) 2,216 bp

Pairwise Identity: 98.1%
Ref-Seq: 100%

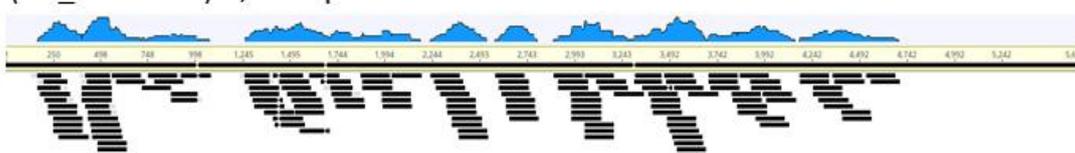


<그림> 백향과 Cucumber mosaic virus의 맵핑 결과

- 백향과에서 확인된 Cucumber mosaic virus는 read mapping을 수행한 결과 RAN1의 경우 98.7%의 identity, 100%의 coverage를 확인했고, RNA2의 경우 98.6%의 identity, 100%의 coverage를 확인했고, RNA3의 경우 98.1%의 identity, 100%의 coverage가 확인되었다.

**Passionfruit assembled to
Cucurbit aphid-borne yellows virus**
(NC_003688.1) 5,669 bp

Pairwise Identity: 95.8%
Ref-Seq: 73.2%

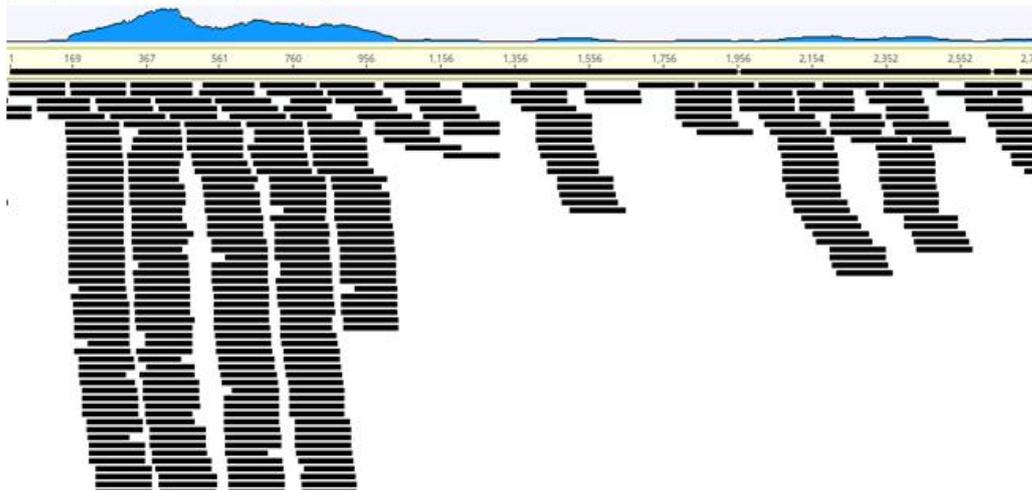


<그림> 백향과 Cucurbit aphid-borne yellow virus의 맵핑 결과

- 백향과에서 확인된 Cucurbit aphid-borne yellow virus는 read mapping을 수행한 결과 95.8%의 identity, 73.2%의 coverage가 확인되었다.

Passionfruit assembled to
Euphorbia leaf curl virus
(NC_005319.1) 2,746 bp

Pairwise Identity: 95.6%
Ref-Seq: 100%

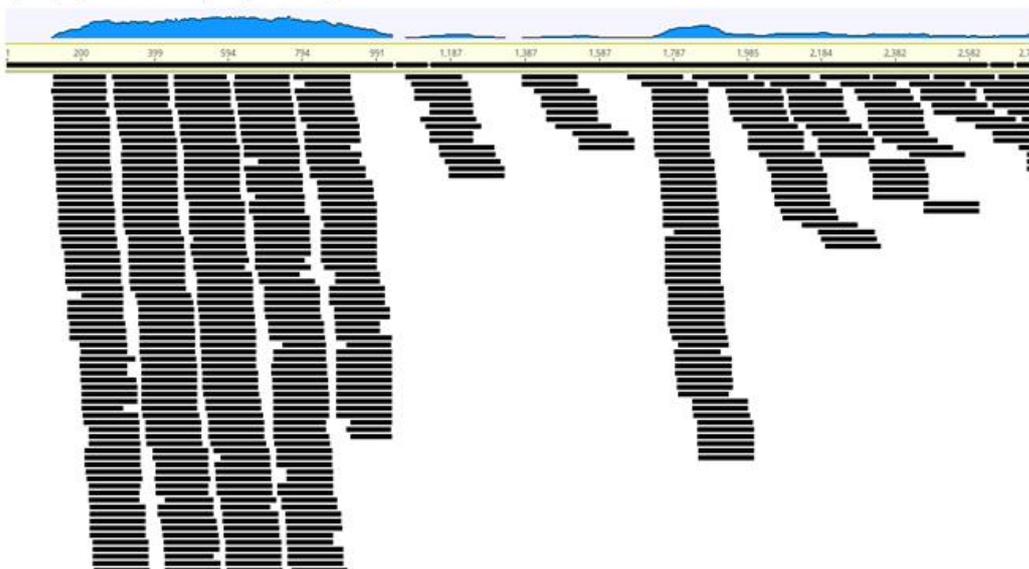


<그림> 백향과 Euphorbia leaf curl virus의 맵핑 결과

- 백향과에서 확인된 Euphorbia leaf curl virus는 read mapping을 수행한 결과 95.6%의 identity, 100%의 coverage가 확인되었다.

Passionfruit assembled to
Papaya leaf curl Guandong virus
(NC_005844.1) 2,742 bp

Pairwise Identity: 96.2%
Ref-Seq: 92.9%



<그림> 백향과 Papaya leaf curl Guandong virus의 맵핑 결과

- 백향과에서 확인된 Papaya leaf curl Guandong virus는 read mapping을 수행한 결과 96.2%의 identity, 92.9%의 coverage가 확인되었다.

Passionfruit assembled to
East Asian Passiflora virus
(NC_007728.1) 10,046 bp

Pairwise Identity: 98.7%
Ref-Seq: 80.6%



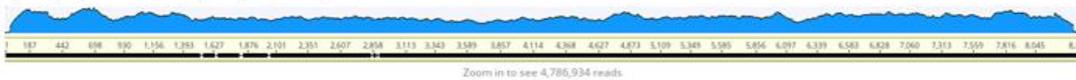
883,998 reads

<그림> 백향과 East Asian Passiflora virus의 맵핑 결과

- 백향과에서 확인된 East Asian Passiflora virus는 read mapping을 수행한 결과 98.7%의 identity, 80.6%의 coverage가 확인되었다.

Passionfruit assembled to
Passiflora latent carlavirus
(NC_008292.1) 8,386 bp

Pairwise Identity: 98.5%
Ref-Seq: 100%



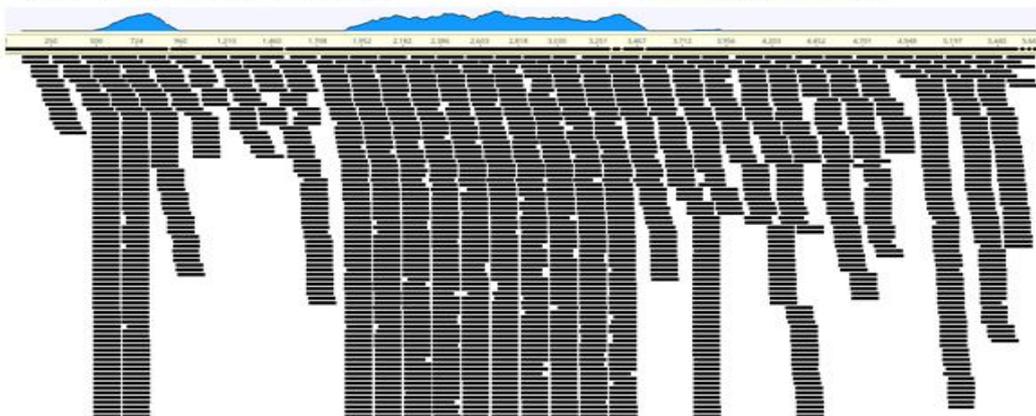
4,786,934 reads

<그림> 백향과 Passiflora latent carlavirus의 맵핑 결과

- 백향과에서 확인된 Passiflora latent carlavirus는 read mapping을 수행한 결과 98.5%의 identity, 100%의 coverage가 확인되었다.

Beet western yellows virus
(NC_004756.1) 5,666 bp

Pairwise Identity: 96.9%
Ref-Seq: 98.2%



<그림> 여주 Beet western yellows virus의 맵핑 결과

- 여주에서 확인된 Beet western yellows virus는 read mapping을 수행한 결과 96.9%의 identity, 98.2%의 coverage가 확인되었다.

Cucumber mosaic virus RNA 1 Pairwise Identity: 95.9%
 (NC_002034.1) 3,357 bp Ref-Seq: 100%



558,697 reads

Cucumber mosaic virus RNA 2 Pairwise Identity: 98.1%
 (NC_002035.1) 3,050 bp Ref-Seq: 100%



256,695 reads

Cucumber mosaic virus RNA 3 Pairwise Identity: 95.4%
 (NC_001440.1) 2,216 bp Ref-Seq: 100%

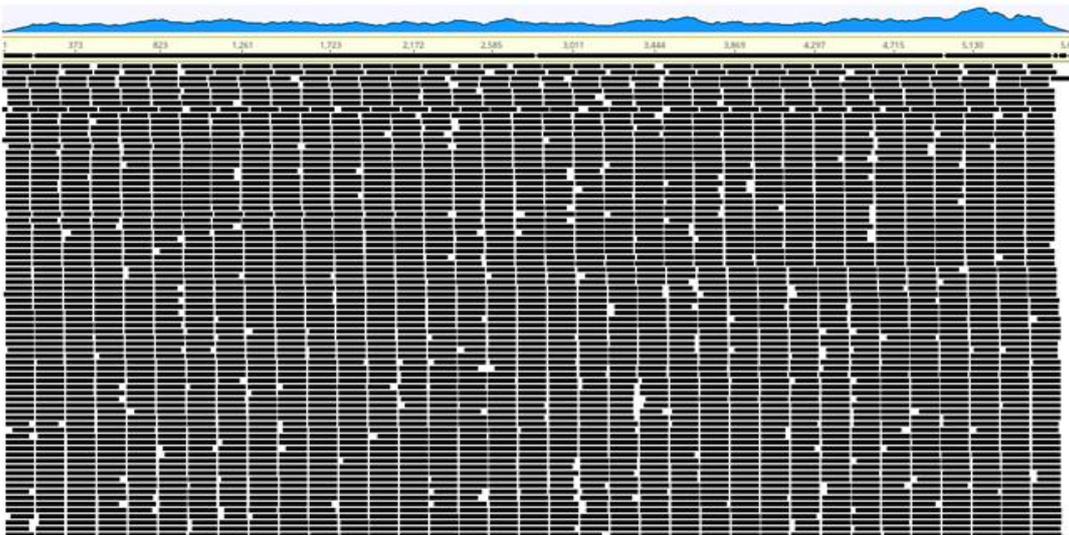


474,001 reads

<그림> 여주 Cucumber mosaic virus의 맵핑 결과

- 여주에서 확인된 Cucumber mosaic virus는 read mapping을 수행한 결과 RNA1의 경우 95.9%의 identity, 100%의 coverage를 확인했고, RNA2의 경우 98.1%의 identity, 100%의 coverage를 확인했고, RNA3의 경우 95.4%의 identity, 100%의 coverage가 확인되었다.

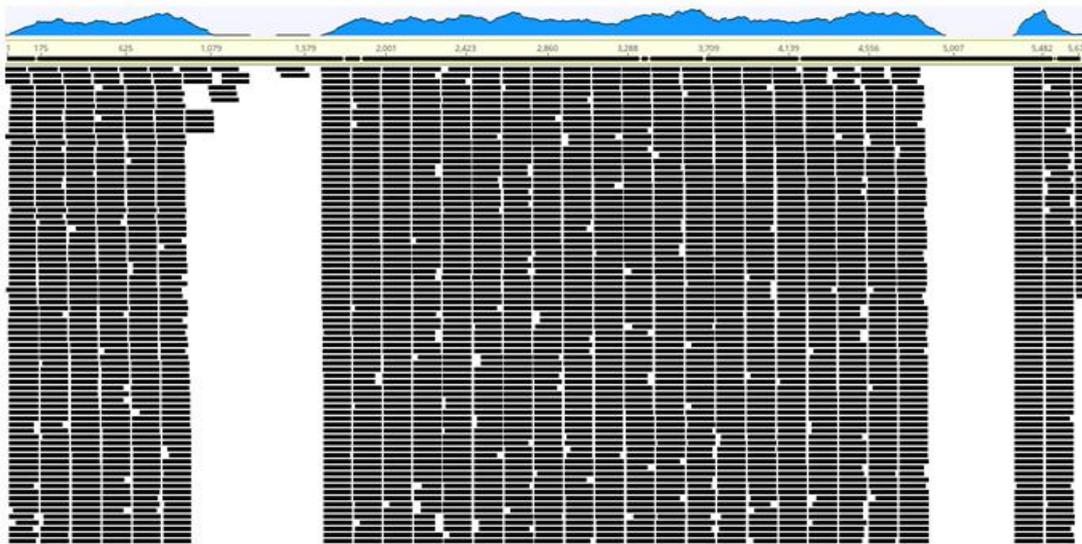
Cucurbit aphid-borne yellows virus Pairwise Identity: 96.1%
 (NC_003688.1) 5,669 bp Ref-Seq: 100%



<그림> 여주 Cucurbit aphid-borne yellows virus의 맵핑 결과

- 여주에서 확인된 Cucurbit aphid-borne yellows virus에 대한 read mapping을 수행한 결과 96.9%의 identity, 98.2%의 coverage가 확인되었다.

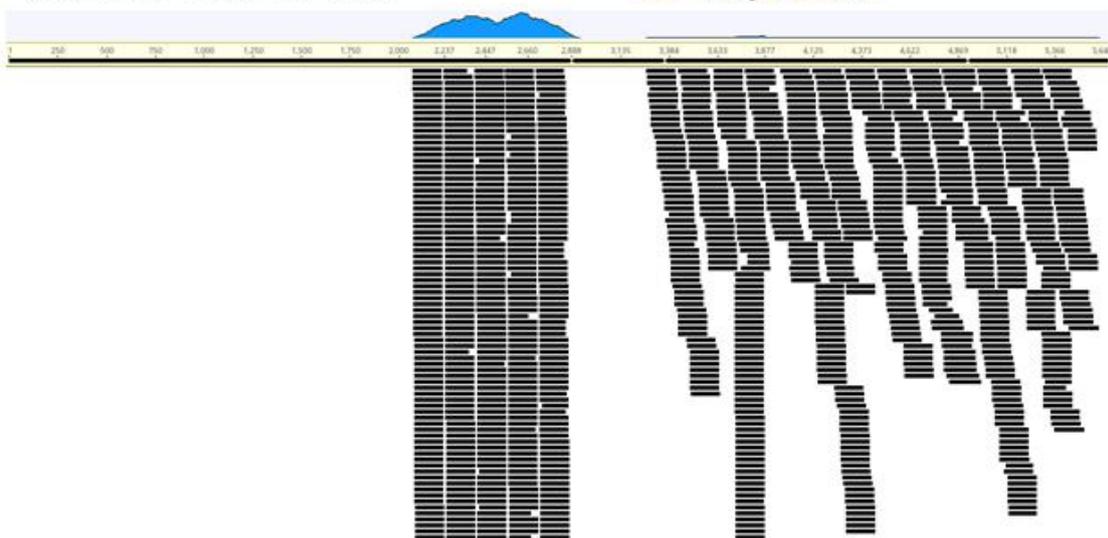
Melon aphid-borne yellows virus Pairwise Identity: 97.2%
 (NC_010809.1) 5,674 bp Ref-Seq: 90%



<그림> 여주 Melon aphid-borne yellows virus의 맵핑 결과

- 여주에서 확인된 Melon aphid-borne yellows virus에 대한 read mapping을 수행한 결과 97.2%의 identity, 90%의 coverage가 확인되었다.

Turnip yellows virus Pairwise Identity: 97.4%
 (NC_003743.1) 5,641 bp Ref-Seq: 56.3%

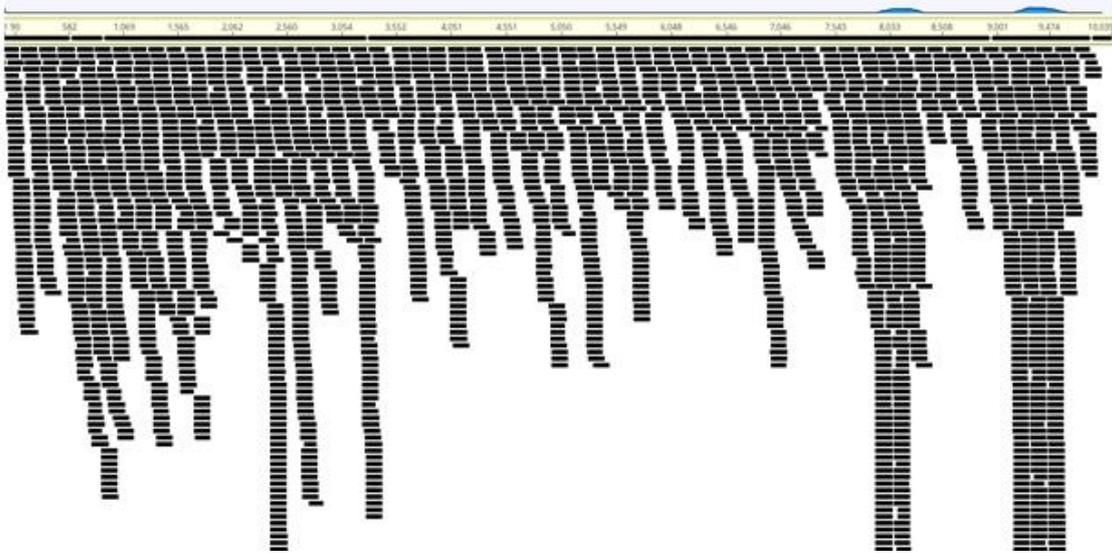


<그림> 여주 Turnip yellows virus의 맵핑 결과

- 여주에서 확인된 Turnip yellows virus에 대한 read mapping을 수행한 결과 97.4%의 identity, 56.3%의 coverage가 확인되었다.

Watermelon mosaic virus
(NC_006262.1) 10,035 bp

Pairwise Identity: 92.2%
Ref-Seq: 99.2%



<그림> 여주 Watermelon mosaic virus의 맵핑 결과

- 여주에서 확인된 Watermelon mosaic virus에 대한 read mapping을 수행한 결과 97.4%의 identity, 56.3%의 coverage가 확인되었다.

Zucchini yellow mosaic virus
(NC_003224.1) 9,591 bp

Pairwise Identity: 94.4%
Ref-Seq: 100%

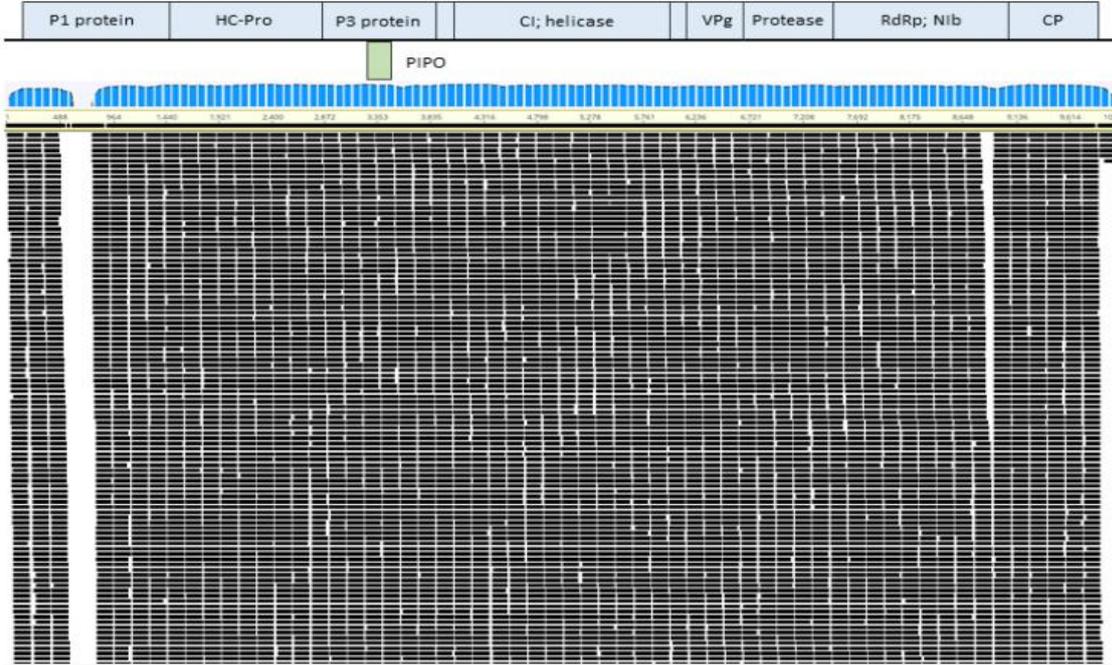


84,284 reads

<그림> 여주 Zucchini yellow mosaic virus의 맵핑 결과

- 여주에서 확인된 Zucchini yellow mosaic virus에 대한 read mapping을 수행한 결과 94.4%의 identity, 100%의 coverage가 확인되었다.

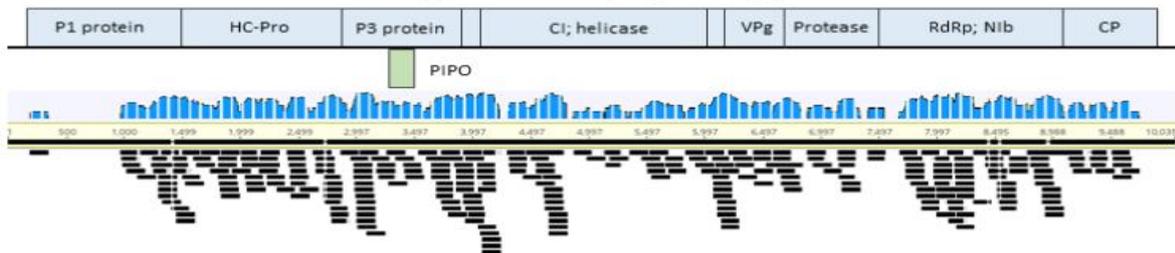
Watermelon mosaic virus_NC006262 (10,035 bp)



<그림> 오크라 Watermelon mosaic virus의 맵핑 결과

- 오크라에서 확인된 Watermelon mosaic virus에 대한 read mapping을 수행한 결과 99.1%의 identity, 98.1%의 coverage가 확인되었다.

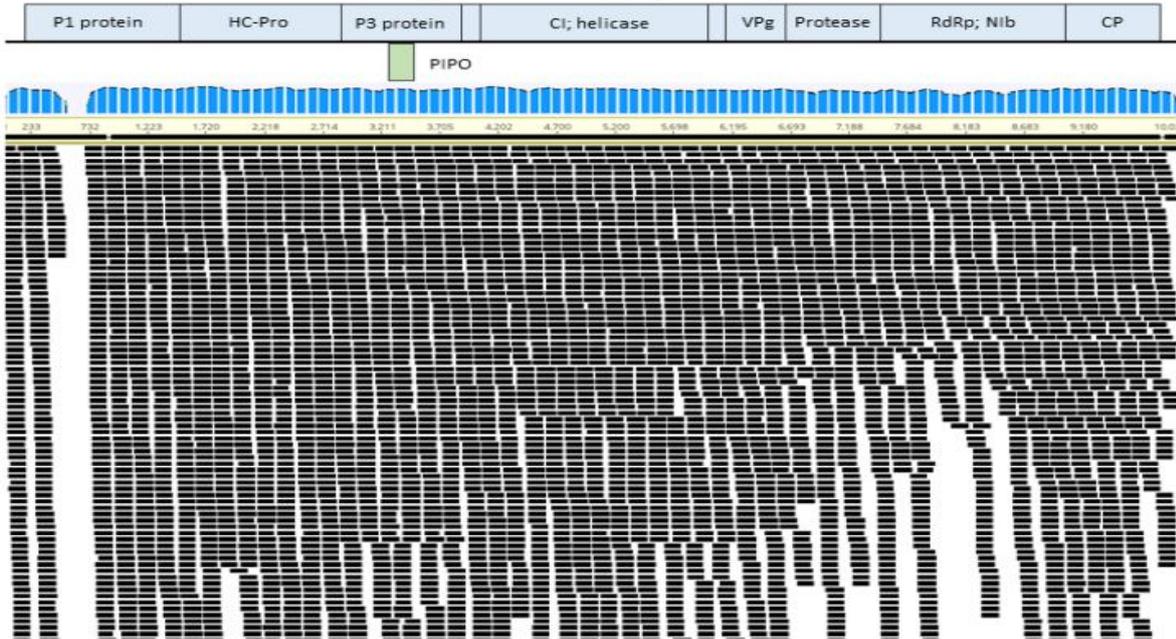
Watermelon mosaic virus_NC006262 (10,035 bp)



<그림> 삼채 Watermelon mosaic virus의 맵핑 결과

- 삼채에서 확인된 Watermelon mosaic virus에 대한 read mapping을 수행한 결과 96.7%의 identity, 84.9%의 coverage가 확인되었다.

Watermelon mosaic virus_NC006262 (10,035 bp)



<그림> 양빈 Watermelon mosaic virus의 맵핑 결과

- 양빈에서 확인된 Watermelon mosaic virus에 대한 read mapping을 수행한 결과 99.3%의 identity, 98.4%의 coverage가 확인되었다.

Bean common mosaic virus_NC003397 (9,992 bp)



<그림> 양빈 Bean common mosaic virus의 맵핑 결과

- 양빈에서 확인된 Bean common mosaic virus에 대한 read mapping을 수행한 결과 98.0%의 identity, 93.0%의 coverage가 확인되었다.

(3) 채집 샘플의 감염 바이러스 PCR 검정용 프라이머 제작 및 검출법 구축

[표] NGS 분석결과 10종 아열대 작물 채집 샘플에서 확인된 바이러스 리스트

Genus	Genome	Virus	Host	Accession No.
Apscaviroid	(-)ssRNA	Citrus dwarfing viroid	구아바	NC003264
Carlavirus	(+)ssRNA	Passiflora latent virus	망고 백향과	NC008292
Citriovirus	(+)ssRNA	Citrus leaf blotch virus	구아바	NC003877
Closterovirus	(+)ssRNA	Citrus tristeza virus	구아바	NC001661
Cucumovirus	(+)ssRNA	Cucumber mosaic virus	바나나	NC_002034
			망고	NC_002035
			백향과	NC_001440
Iarvirus	(+)ssRNA	Humulus japonicus latent virus	구아바	NC006066
	(+)ssRNA	Beet western yellows virus	여주	NC004756
Polerovirus	(+)ssRNA	Cucurbit aphid-borne yellows virus	백향과 여주	NC003688

	(+)ssRNA	Melon aphid-borne yellows virus	여주	NC010809
	(+)ssRNA	Turnip yellows virus	여주	NC003743
Potexvirus	(+)ssRNA	Cactus virus X	용과 파파야 바나나 구아바	NC002815
	(+)ssRNA	Pitaya virus X	용과 파파야	NC024458
	(+)ssRNA	Schlumbergera virus X	바나나	NC011659
	(+)ssRNA	Zygocactus virus X	용과 파파야 바나나	NC006059
Potyvirus	(+)ssRNA	Bean common mosaic virus	얌빈	NC003397
	(+)ssRNA	East Asian Passiflora virus	백향과	NC007728
	(+)ssRNA	Watermelon mosaic virus	용과 여주 오크라 삼채 얌빈	NC006262
	(+)ssRNA	Zucchini yellow mosaic virus	여주	NC003224
Tobamovirus	(+)ssRNA	Cactus mild mottle virus	용과	NC006059
Begomovirus	(+)ssDNA	Euphorbia leaf curl virus	백향과	NC005319
	(+)ssDNA	Papaya leaf curl Guandong virus	백향과	NC005844
Nanovirus	(+)ssDNA	Faba bean yellow leaf virus	파파야	NC038910
	(+)ssDNA	Milk vetch dwarf virus	파파야	NC003648

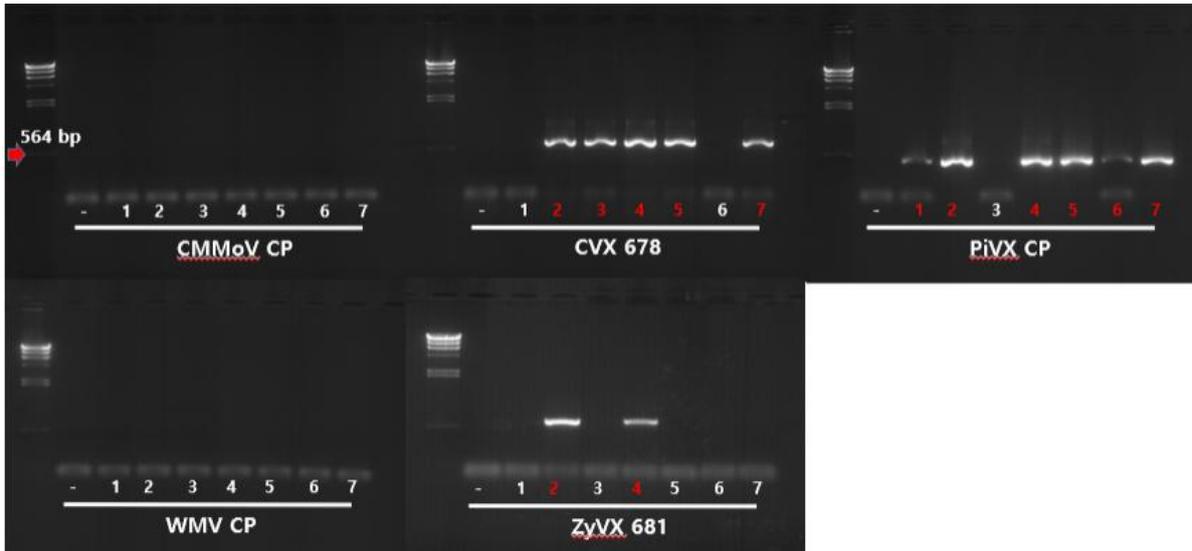
- 10종 아열대 작물 NGS 분석 결과 총 1종의 바이로이드(Citrus dwarfing viroid)와 18종의 RNA 바이러스(Bean common mosaic virus, Beet western yellows virus, Cactus mild mottle virus, Cactus virus X, Citrus leaf blotch virus, Cucumber mosaic virus, Cucurbit aphid-borne yellows virus, East asian passiflora virus, Humulus japonicus latent virus, Melon aphid-borne yellows virus, Passiflora latent virus, Pitaya virus X, Schlumbergera virus X, Turnip yellows virus, Watermelon mosaic virus, Zucchini yellows mosaic virus, Zygocactus virus X) 그리고 4종의 DNA 바이러스(Euphorbia leaf curl virus, Faba bean yellow leaf virus, Milk vetch dwarf virus, Papaya leaf curl Guandong virus)가 확인됨.
- 11개의 genus(Begomovirus, Carlavirus, Citrivirus, Closterovirus, Cucumovirus, Ilarvirus, Nanovirus, Polerovirus, Potexvirus, Potyvirus, Tobamovirus)에 속하는 22종의 바이러스 중 Polerovirus, Potexvirus, Potyvirus genus에 속하는 바이러스가 각각 4종으로 가장 많음.
- Watermelon mosaic virus의 경우 5종 작물(용과, 여주, 오크라, 삼채, 얌빈)에서 확인되었고, Cucumber mosaic virus의 경우 4종 작물 (바나나, 망고, 백향과, 여주)와 Cuctus virus X의 경우 4종 작물(용과, 파파야, 바나나, 구아바) 순으로 가장 많이 감염됨.
- NGS 분석 결과 확인된 1종의 바이로이드와 22종의 바이러스를 대상으로 채집 작물 감염 바이러스 PCR 검정용 프라이머를 제작함.

[표] 10종 아열대 대상 작물 감염 바이러스 프라이머 정보

Primer name	Sequence (5'→3')	Size (bp)	Annealing Temp. (°C)	비고
BWYV CP full F	ATGAATACGGTCGTGGGTAG	609	58	

BWVYV CP full R	CTATTTCCGGGTTGTGGAAGTGG			
CABYV F2	ACACGAGTTGCAAGCATTGGAAGT	466	62	Kwak et al. 2018
CABYV R2	AGTATTCCAGAGCTGAATGCTGGG			
c-CDVd	GTCGACGACGACAGGTAAGTTCCC	294	64	Tangkanchanapa s et al. 2018
h-CDVd	GAAGGCAGCTAAGTTGGTGACGCC			
CLBV CP 7024F	ACTGCCAGTGACACTGGGA	1228	58	Park et al. 2019
CLBV CP 8251R	GTGTAAAGTCCTGGCCAC			
CMMoV-CP19F	AACGTGAAGCCGAACACATT	434	58	
CMMoV-CP452R	GTCGCGTCCTCGAAAGTAGT			
CMV Fny-F	ATGGACAAATCTGAATCAAC	655	54	
CMV Fny-R	AGACTGGGAGCACTCCAG			
CTV CP 16155F	ATGGACGACGAAACAAGAA	672	54	Huang et al. 2004
CTV CP 16826R	TCAACGTGTGTTGAATTTCC			
CVX 678 UP	ATGTCTACTACTGGAGTCCA	678	58	Park et al. 2018
CVX 678 DN	CTACTCAGGGCCTGGGAGAA			
EAPV CP 1F	GGGCAACCAAGTCACAATTT	484	56	
EAPV CP 1R	TCTCGCTGTTTGTGAAACG			
EuLCV 381F	CAGGATCGAGCCGTGCTTAT	225	59	Kil et al. 2016
EuLCV 605R	GCCCAATACCACGGGTAACA			
FBYLV-CP7F	AGCAATTGGAATTGGTCTGG	298	57	
FBYLV-CP304R	ACGCAGGAGAGGTAAAAGCA			
HJLV CP 19F	GCTTCTGTGGTCTCAGGTC	544	58	
HJLV CP 562R	AAAAAGGGCTCTCCTTCTCG			
MABYV CP 120F	AAGACGACGACGACGAAATC	229	58	
MABYV CP 348R	AGAGGCCTCGGAGATGAACT			
MVDV R-245F	ACGCAGGAGAGGTAAAAGCA	436	58	
MVDV R-680R	CGAGGAAAGTCGAAAAGCAC			
OSY WMV CP 605 F	GTCCCACGACTrCAAAGAT	605	54	오크라, 삼채, 얌빈
OSY WMV CP 605 R	TTTTCCGGAATTGGTCGAGAT			
PaLCuGdV-F	CGTTTGGTACTCCCCAAGA	254	56	Kim et al. 2018
PaLCuGdV-R	CAACAGCAAAGCATTCTCAGT			
PiVX CP 110-F	CCGTTACCAGCTCTCTCCTG	495	58	
PiVX CP 604-R	TGGTTAATGCCCGACTCTTC			
PLV-F	ACACAAAAGTGC GTGTTGGA	571	59	Cho et al. 2020
PLV-R	CAAGACCCACCTACCTCAGTGTG			
SchVX 678 UP	ATGTCGACCACTCCATCTTC	678	54	Park et al. 2018
SchVX 678 DN	TTATTCAGGGGATGGTAGTA			
TuYV CP 111F	AACACAACGCCGACCTAGAC	200	58	
TuYV CP 310R	CATGGTAGGCCTTGAGCATT			
WMV-CP-F	GTGGATCGTTTAAAACAGGAATG	178	58	
WMV-CP-R	GTGACTGAGCATTCTATAAGCAC			
WMV CP full F	TCAGGAAAAGAAAAAGAACAGTG	849	59	여주
WMV CP full R	CTGCGGTGGACCCATACCCAA			
Yam BCMV CP 687 F	TGGTTCCAAAGGAAAGGTTG	687	57	
Yam BCMV CP 687 R	GAACCCATGCCAAGAAGTGT			
ZYMV CP F	CTTTGAACAAGGAGACTG	931	44	
ZYMV CP R	GCGGTAAATATTAGAATTAC			
ZyVX 681 UP	ATGTCTAACACTGCAGGAGT	681	58	Park et al. 2018
ZyVX 681 DN	TCATTCGGGACCCGGTAGGA			

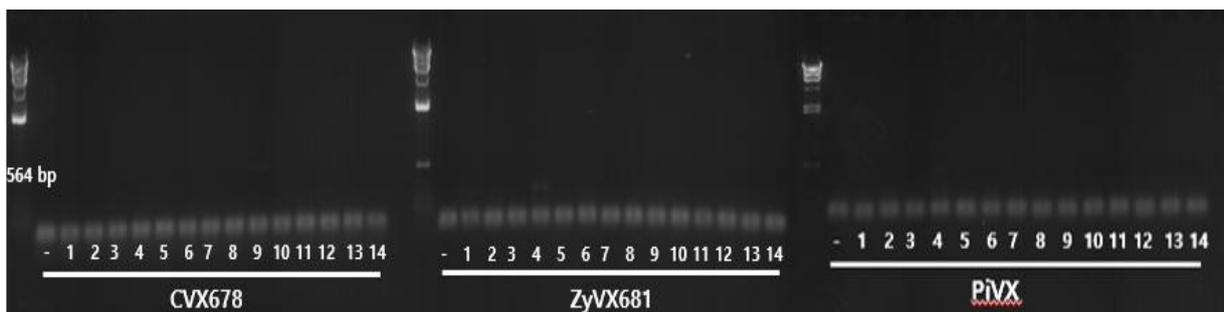
- 1종 바이로이드와 22종의 바이러스의 프라이머는 NGS 분석 결과 확인된 바이러스 Genbank 정보와 NGS 분석결과로 얻은 바이러스 시퀀스를 활용하여 프라이머를 제작하였고, 일부 바이러스(CABYV, CDVd, CLBV, CVX, EuLCV, PaLCuGdV, PLV, SchVX, ZyVX)의 경우 기존에 보고된 프라이머를 정보를 이용하여 coat protein(CP) 영역을 증폭하여 검정함.



<그림> 용과 지역별 채집 샘플 NGS 분석결과 확인된 바이러스 PCR 검정 결과

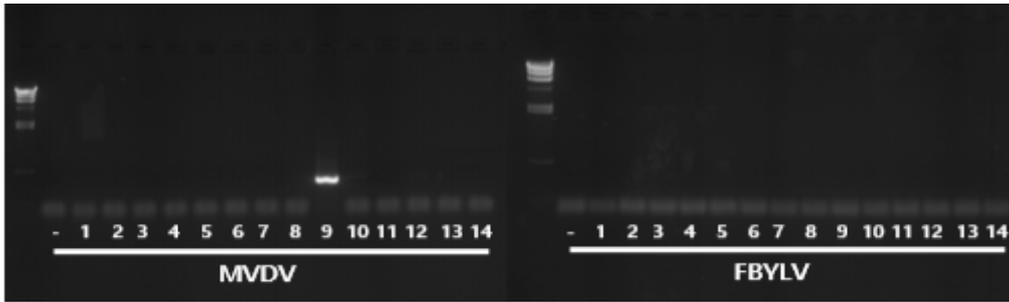
[(-): DW, (1): 강원도 삼척시, (2): 충청북도 청주시, (3): 전라남도 구례군, (4): 경상남도 고성군, (5): 제주도 제주시, (6): 제주도 서귀포시, (7): 제주도 서귀포시]

- 용과 지역별 재배 농가에서 채집한 샘플의 NGS 분석결과 확인된 5종 바이러스 (CMMoV, CVX, PiVX, WMV, ZyVX)를 대상으로 PCR 검정을 수행하였고, 그 결과 CVX, PiVX, ZyVX primer를 이용한 PCR 결과에서는 바이러스가 확인되었으나 CMMoV와 WMV의 PCR 결과에서는 바이러스가 확인되지 않음.
- CVX의 경우 충청북도 청주시, 전라남도 구례군, 경상남도 고성군, 제주도 제주시, 제주도 서귀포시 농가의 채집 샘플에서 바이러스가 검출됨.
- PiVX의 경우 전라남도 구례군 농가의 채집샘플을 제외한 모든 농가의 채집 샘플에서 바이러스가 검출됨.
- ZyVX의 경우 충청북도 청주시와 경상남도 고성군의 채집샘플에서 바이러스가 검출되었음.



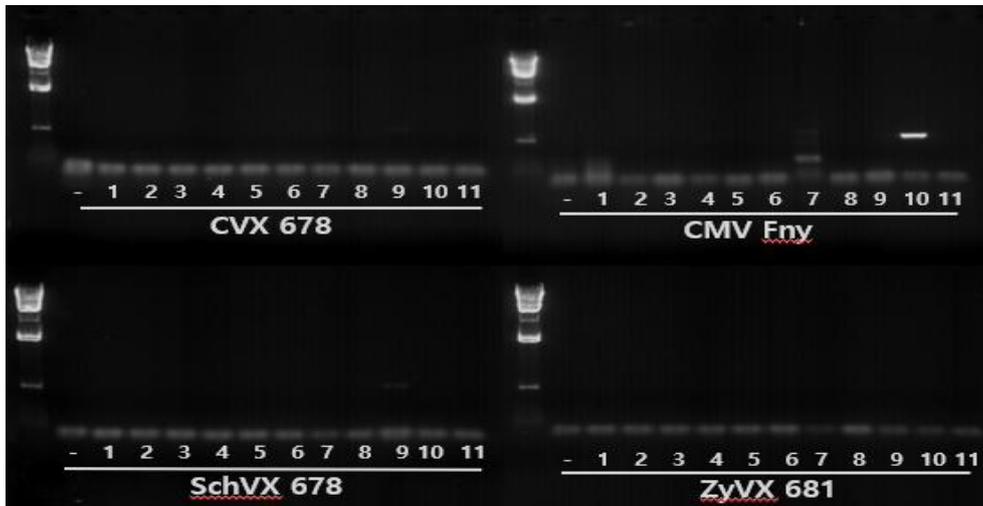
<그림> 파파야 지역별 채집 샘플 NGS 분석결과 확인된 RNA 바이러스 PCR 검정 결과

[(-): DW, (1): 강원도 삼척시, (2): 충청북도 청주시, (3): 충청북도 청주시, (4): 충청남도 태안군, (5): 전라북도 김제시, (6): 전라남도 구례군, (7): 전라남도 장흥군, (8): 전라남도 무안군, (9): 경상북도 경주시, (10): 경상북도 안동시, (11): 경상남도 진주시, (12): 경상남도 합천군, (13): 제주도 서귀포시, (14): 제주도 서귀포시]



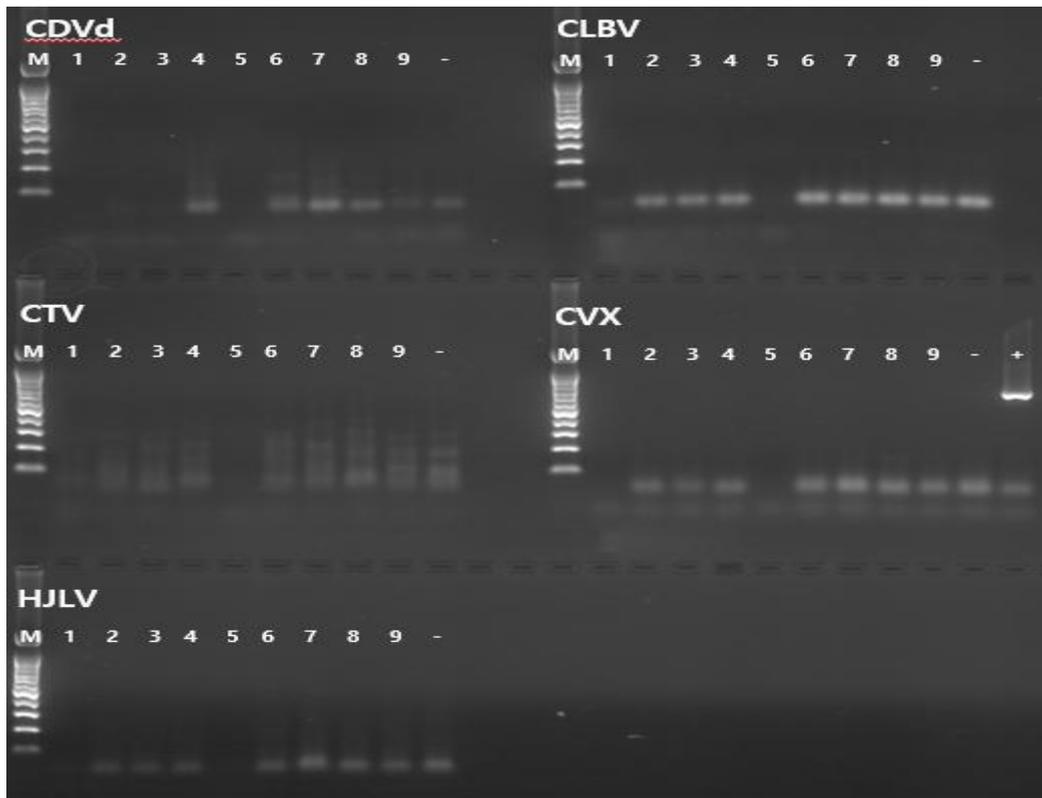
<그림> 파파야 지역별 채집 샘플 NGS 분석결과 확인된 DNA 바이러스 PCR 검정 결과
 [(-): DW, (1): 강원도 삼척시, (2): 충청북도 청주시, (3): 충청북도 청주시, (4): 충청남도 태안군, (5): 전라북도 김제시, (6): 전라남도 구례군, (7): 전라남도 장흥군, (8): 전라남도 무안군, (9): 경상북도 경주시, (10): 경상북도 안동시, (11): 경상남도 진주시, (12): 경상남도 합천군, (13): 제주도 서귀포시, (14): 제주도 서귀포시]

- 파파야 지역별 재배 농가에서 채집한 샘플의 NGS 분석결과 확인된 5종 바이러스 (CVX, PiVX, ZyVX, MVDV, FBYLV)를 대상으로 PCR 검정을 수행하였고, 그 결과 MVDV primer를 이용한 PCR 결과에서는 바이러스가 확인되었으나 CVX, PiVX, ZyVX, FBYLV의 PCR 결과에서는 바이러스가 확인되지 않음.
- MVDV의 경우 경상북도 경주시와 경상북도 안동시 농가의 채집 샘플에서 바이러스가 검출되었고, 밴드가 희미하게 보이는 경상북도 합천군의 채집 샘플에서는 바이러스가 검출되지 않음.
- CVX의 경우 경상북도 경주시의 채집 샘플에서 밴드가 확인되었지만 sequencing 분석 결과 Carica papaya mitochondrion genome (GenBank Accession No. EU431224)으로 밝혀짐.



<그림> 바나나 지역별 채집 샘플 NGS 분석결과 확인된 바이러스 PCR 검정 결과
 [(-): DW, (1): 충청북도 청주시, (2): 충청남도 태안군, (3): 전라남도 해남군, (4): 전라남도 해남군, (5): 전라남도 해남군, (6): 경상남도 사천시, (7): 경상남도 산청군, (8): 경상남도 합천군, (9): 제주도 제주시, (10): 제주도 서귀포시, (11): 제주도 서귀포시]

- 바나나 지역별 재배 농가에서 채집한 샘플의 NGS 분석결과 확인된 4종 바이러스 (CVX, CMV, SchVX, ZyVX)를 대상으로 PCR 검정을 수행하였고, 그 결과 CVX, CMV, SchVX primer를 이용한 PCR 결과에서는 바이러스가 확인되었으나 ZyVX의 PCR 결과에서는 바이러스가 확인되지 않음.
- CVX와 SchVX의 경우 제주도 제주시 농가의 채집 샘플에서 바이러스가 검출됨.
- CMV의 경우 제주도 서귀포시 농가의 채집 샘플에서 바이러스가 검출됨.



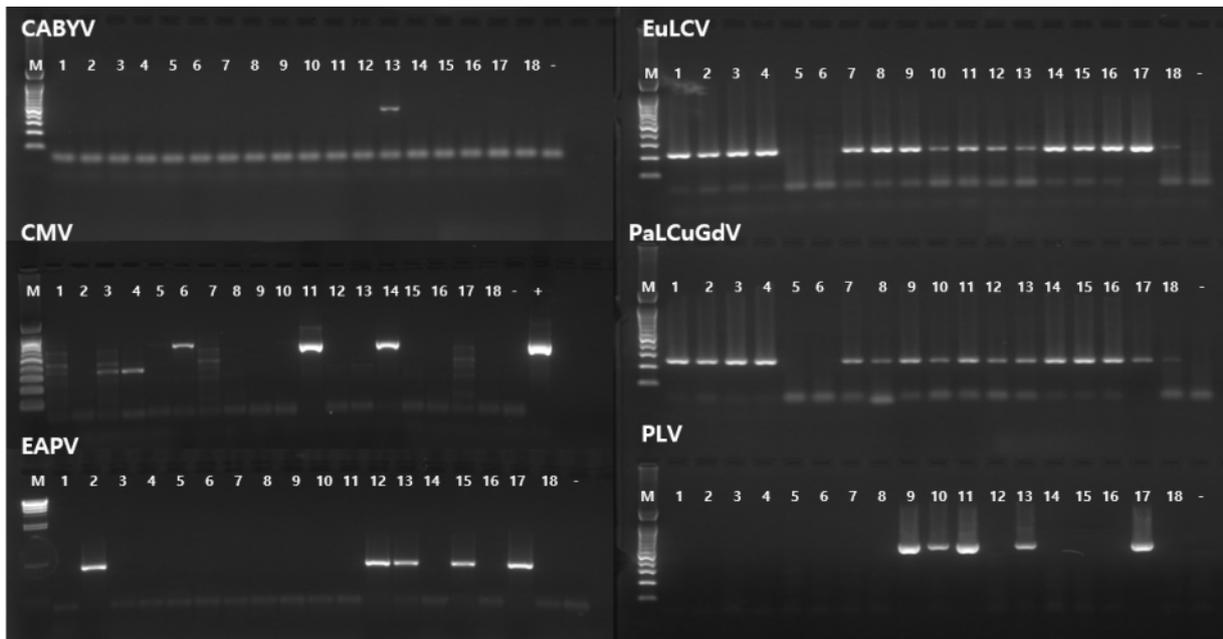
<그림> 구아바 지역별 채집 샘플 NGS 분석결과 확인된 바이러스 PCR 검정 결과
 [(1): 경기도 고양시, (2): 경기도 이천시, (3): 충청북도 청주시, (4): 충청북도 청주시, (5): 충청남도 당진시, (6): 전라북도 정읍시, (7): 전라북도 김제시, (8): 전라남도 장흥군, (9): 제주도 제주시, (-): DW]

- 구아바 지역별 재배 농가에서 채집한 샘플의 NGS 분석결과 확인된 1종 바이로이드(CDVd)와 4종 바이러스 (CLBV, CTV, CVX, HJLV)를 대상으로 PCR 검정을 수행하였고, PCR 결과에서는 바이러스와 바이로이드가 모두 확인되지 않음.



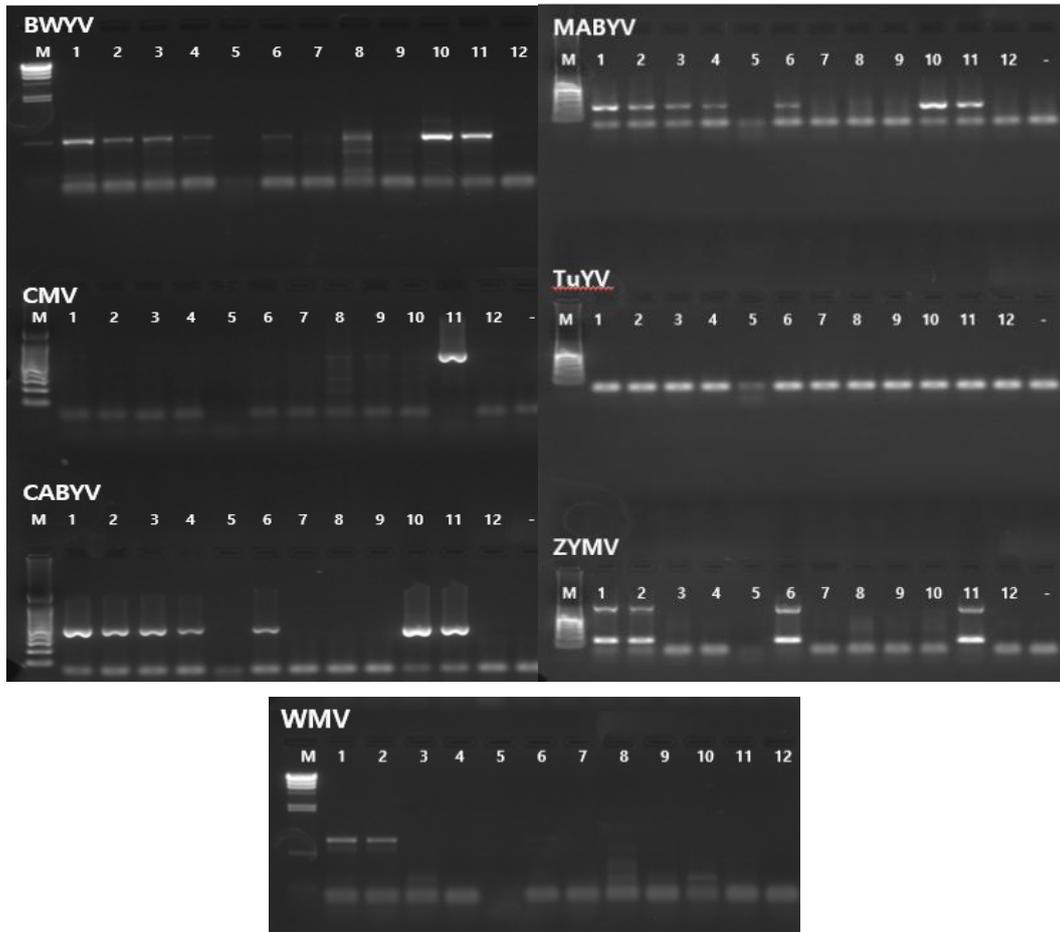
<그림> 망고 지역별 채집 샘플 NGS 분석결과 확인된 바이러스 PCR 검정 결과
 [(1): 경기도 평택시, (2): 강원도 삼척시, (3): 충청남도 당진시, (4): 전라북도 김제시, (5): 전라남도 여수시, (6): 전라남도 강진군1, (7): 전라남도 강진군2, (8): 전라남도 영광군, (9): 경상남도 통영시, (10) 경상남도 함안군, (11) 제주도 서귀포시 (-): DW]

- 망고 지역별 재배 농가에서 채집한 샘플의 NGS 분석결과 확인된 2종 바이러스 (CMV, PLV)를 대상으로 PCR 검정을 수행하였고, PCR 결과에서는 바이러스가 모두 확인되지 않음.



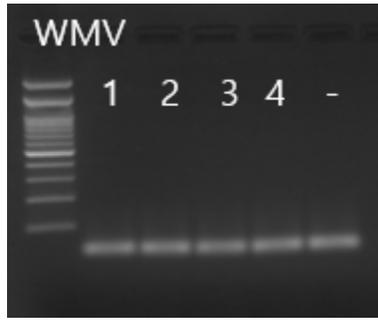
<그림> 백향과 지역별 채집 샘플 NGS 분석결과 확인된 바이러스 PCR 검정 결과
 [(1): 경기도 평택시, (2): 경기도 안성시, (3): 강원도 철원군, (4): 충청북도 청주시, (5): 전라북도 정읍시, (6): 전라북도 남원시, (7): 전라북도 김제시1, (8): 전라북도 김제시2, (9): 전라북도 김제시3, (10) 전라남도 고창군, (11) 전라남도 순천시1, (12) 전라남도 순천시2, (13) 전라남도 광양시, (14) 전라남도 담양군, (15) 경상북도 예천군, (16) 경상남도 진주시, (17) 경상남도 하동군, (18) 제주도 제주시, (-): DW]

- 백향과 지역별 재배 농가에서 채집한 샘플의 NGS 분석결과 확인된 2종 DNA 바이러스(EuLCV, PaLCuGdV)와 4종 RNA바이러스(CABYV, CMV, EAPV, PLV)를 대상으로 PCR 검정을 수행하였고, 6종 바이러스 프라이머로 PCR을 수행한 결과 바이러스가 모두 확인되었음.
- DNA 바이러스인 EuLCV와 PaLCuGdV의 경우 전라북도 정읍과 남원을 제외한 모든 지역의 샘플에서 검출되었음.
- CMV의 경우 전라북도 남원, 전라북도 순천, 전라남도 담양에서 검출되었고, EAPV의 경우 경기도 안성, 전라남도 순천, 전라남도 광양, 경상북도 예천, 경상남도 하동에서 검출되었으며, PLV의 경우 전라북도 김제, 전라남도 고창, 전라남도 순천, 전라남도 광양, 경상남도 하동에서 검출되었음.
- CABYV는 전라남도 광양의 채집 샘플에서만 검출되었음.



<그림> 여주 지역별 채집 샘플 NGS 분석결과 확인된 바이러스 PCR 검정 결과
 [(1): 경기도 양주시1, (2): 경기도 양주시2, (3): 경기도 여주시, (4): 강원도 홍천군, (5): 강원도 철원군, (6): 충청남도 천안시, (7): 충청남도 공주시, (8): 충청남도 당진시, (9): 전라북도 정읍시1, (10) 전라북도 정읍시2, (11) 전라남도 강진군, (12) 경상남도 창원군, (-): DW]

- 여주 지역별 재배 농가에서 채집한 샘플의 NGS 분석결과 확인된 7종 RNA바이러스(BWYV, CABYV, CMV, MABYV, TuYV, WMV, ZYMV)를 대상으로 PCR 검정을 수행하였고, 7종 바이러스 프라이머로 PCR을 수행한 결과 5종 바이러스(BWYV, CABYV, CMV, WMV, ZYMV)가 확인되었음.
- TuMV의 경우 PCR로 검출되지 않았고, MABYV의 경우 PCR product를 sequencing 분석하여 NCBI에서 Blast한 결과 CABYV인 것으로 밝혀짐.
- BWYV의 경우 PCR product를 sequencing 분석하여 NCBI에서 Blast한 결과 정읍2의 샘플만 BWYV인 것으로 밝혀졌으며 나머지 샘플의 경우 CABYV인 것으로 확인됨.
- CABYV의 경우 경기도 양주, 경기도 여주, 강원도 홍천, 충청남도 천안, 전라북도 정읍, 전라남도 강진의 샘플에서 검출되었으며, CMV의 경우 전라남도 강진의 샘플에서만 검출되었음.
- WMV의 경우 경기도 양주의 샘플에서만 검출되었고, ZYMV의 경우 경기도 양주, 충청남도 천안, 전라남도 강진의 샘플에서 검출되었음.



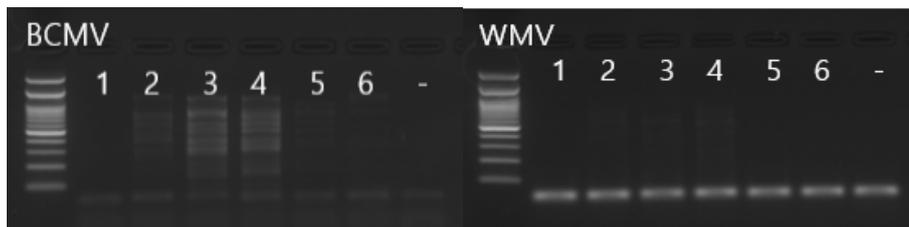
<그림> 오크라 지역별 채집 샘플 NGS 분석결과 확인된 바이러스 PCR 검정 결과
 [(1): 충청남도 당진시, (2): 충청남도 예산군, (3): 전라남도 화순군, (4): 전라남도 해남군, (-): DW]

- 오크라 지역별 재배 농가에서 채집한 샘플의 NGS 분석결과 확인된 1종 RNA바이러스인 WMV를 대상으로 PCR 검정을 수행하였고, WMV 특이 프라이머로 PCR을 수행한 결과에서는 바이러스가 확인되지 않음.



<그림> 삼채 지역별 채집 샘플 NGS 분석결과 확인된 바이러스 PCR 검정 결과
 [(1): 경기도 성남시, (2): 충청북도 청주시, (3): 충청남도 태안군, (4): 전라북도 남원시, (5): 경상북도 영주시, (-): DW]

- 삼채 지역별 재배 농가에서 채집한 샘플의 NGS 분석결과 확인된 1종 RNA바이러스인 WMV를 대상으로 PCR 검정을 수행하였고, WMV 특이 프라이머로 PCR을 수행한 결과에서는 바이러스가 확인되지 않음.



<그림> 암빈 지역별 채집 샘플 NGS 분석결과 확인된 바이러스 PCR 검정 결과
 [(1): 강원도 춘천시, (2): 전라북도 진안군, (3): 경상북도 구미시, (4): 경상남도 밀양시, (5): 경상남도 거제시, (6): 경상남도 남해군, (-): DW]

- 암빈 지역별 재배 농가에서 채집한 샘플의 NGS 분석결과 확인된 2종 RNA바이러스인 BCMV와 WMV를 대상으로 PCR 검정을 수행하였고, 2종 바이러스 특이 프라이머로 PCR을 수행한 결과에서는 바이러스가 확인되지 않음.

2) 10종 아열대 작물에 대한 국내 유입우려 바이러스 검출법 구축

- 10종 아열대 작물의 국내 발생 바이러스와 해외 발생 바이러스 및 검역 바이러스를 조사하고,

비교하여 대상작물의 국내 유입우려 바이러스 리스트를 아래와 같이 선정함.

[표] 파파야(아열대 과수)에 대한 바이러스병을 일으키는 유입우려 바이러스 리스트

No.	Virus	발생지	피해규모	Ref.
1	Papaya mosaic virus (PapMV)	Mexico (1997-2000) Sri Lanka (1952) Florida(1960s) Venezuela SriLank India Peru Bolivia	단독감염시 잎에 모자이크 증상과 왜소현상이 일어나고, Papaya ringspot virus와 복합감염시 괴사, 잎의 기형, 반점 등 심한 병징이 나타남	Noa-Carrazana et al. 2006 Tennant et al. 2007
2	Papaya leaf distortion mosaic virus (PLDMV)	Japan(1954) Saipan Taiwan (1993)	잎에 모자이크 증상을 일으키고 과실에 ringspot 증상이 나타남 2012-2015년 중국의 파파야 농장에 심각한 경제적 손실을 일으킴	Tennant et al. 2007 Bau et al 2008 Mo et al 2020
3	Papaya golden mosaic virus (PaGMV)	Mexico	파파야에 감염하는 begomovirus로	Tennant et al. 2007
4	Lindernia anagallis yellow vein virus (LaYV)	China	MCLCuV의 경우 멜론에도 감염하여 잎의 황화, 잎말림 등의 병징을 일으키며	Tennant et al. 2007
5	Melon chlorotic leaf curl virus (MCLCuV)	Costa Rica	수확량을 감소시킴	Tennant et al. 2007
6	Lettuce chlorosis virus (LCV)	Texas (2014-2015)	미국 남서부지역의 사탕무 농장에서 LCV는 고질적인 문제임	Alabi et al. 2017 Zhang et al. 2017

[표] 바나나(아열대 과수)에 대한 바이러스병을 일으키는 유입우려 바이러스 리스트

No.	Virus	발생지	피해규모	Ref.
1	Banana mild mosaic virus (BanMMV)	Australia Africa Asia Central and south America Caribbean	CMV와 복합감염 되었을 경우 잎 괴사 병징이 나타남	Tripathi et al. 2016

[표] 여주(아열대 채소)에 대한 바이러스병을 일으키는 유입우려 바이러스 리스트

No.	Virus	발생지	피해규모	Ref.
1	Bitter gourd yellow mosaic virus (BGMV)	India	전세계적으로 퍼져있는 가장 심한 바이러스 병	Rajinimala et al. 2009 Mohanan et al. 2020
2	Chayote yellow mosaic virus (ChaYMV)	Togo(2014) Nigeria(2014)	yellow mosaic 증상이 60-80% 서아프리카 3개국 여주 식물에서 관찰됨	Leke et al. 2016
3	Indian cassava mosaic virus (ICMV)	India	Cassava mosaic virus(CMD) 20-95% 수확량 손실 일으킴.	Rajinimala et al. 2007 Adjata et al 2008
4	Melon yellow spot virus (MYSV)	Japan	오이에서 괴저반점(necrotic spot), 황화(yellowing), 모자이크(mosaic) 증상을 일으켜 상품의 질을 떨어트리고 수확량 감소시킴. 박과 작물 뿐만아니라 잡초에도 감염되어 방제가 어려움.	Takeuchi et al. 2009 Adachi-Fukunaga et al. 2020
5	Peanut bud necrosis virus (PBNV)	India(2016)	수확량이 심각하게 감소되거나 아예 못함. 감자, 토마토, 담배, 녹두 등에 감염. International Crops Research Center for Semi-Arid Tropic(ICRISAT)에서 연간 89백만달러 손실 발생하는 것으로 추산함.	Nagendran et al. 2018 Jasani et al. 2015

6	Squash vein yellowing virus (SqVYV)	Puerto Rico(2011) U.S.A(2005,2007)	수박의 입자루와 줄기를 괴사시켜 수박 수확량 감소 Florida에서 2004년 6~7천만 달러 손실 발생.	Acevedo et al. 2013 Adkins et al. 2008 Adkins et al. 2013 Kousik et al. 2009
7	Tomato leaf curl Palampur virus (ToLCPaV)	India(2007) Pakistan	Pakistan에서 60-70% virus 감염	Tiwari et al. 2010 Tahir et al. 2005

[표] 오크라(아열대 채소)에 대한 바이러스병을 일으키는 유입우려 바이러스 리스트

No.	Virus	발생지	피해규모	Ref.
1	Bhendi yellow vein mosaic virus (BYVMV)	Thailand(2009-10)	태국의 Kanchanaburi와 Nakhon Pathom지역의 50-100% 오크라 식물에서 바이러스 병 발생	Tsai et al. 2013
2	Chickpea chlorotic dwarf virus (CpCDV)	Pakistan(2012)	파키스탄의 2개 도시의 오크라 농장의 15%에서 바이러스 병징 관찰됨	Zia-Ur-Rehman et al. 2017
3	Cotton leaf curl Gezira virus (CLCuGV)	United State(2018) Niger(2007) Egypt Mali Sudan	Texas 4.9ha 오크라 농장에서 발생 100% 수확량 손실	Villegas et al. 2019 Shih et al. 2009
4	Okra leaf curl virus (OLCV)	Saudi Arabia Nigeria(2010)	80%수확량 손실	Ghanem. 2003 Askira. 2012
5	Okra mosaic virus (OkMV)	Nigeria	20-50% 수확량 손실, 90%까지 손실 가능.	Fajinmi et al. 2010 Lana et al. 1976
6	Okra yellow mosaic Mexico virus (OYMMV)	United State(2009)	미국의 0.2km ² 규모 오크라 농장의 75%에서 바이러스 병징 관찰됨	Hernandez-Zepeda et al. 2010
7	Okra yellow vein mosaic virus (OYVMV)	Sri Lanka(2015) India(2011)	스리랑카 3개 도시에서 55-70% 오크라 바이러스 병발생	Tharmila et al. 2017
8	Radish leaf curl virus (RaLCV)	India	인도 Bihar에서 2009년 30%, 2010-11년 35%의 수확량 손실	Jumar et al. 2011

- Genbank에 등록되어있는 바이러스 sequence의 Coat protein(CP) 유전자 부분만 합성하여 유입우려 바이러스 클론을 제작하였고, 유입우려 바이러스 프라이머를 제작하고 검출법을 구축하는데 활용함.
- 옹과, 구아바, 망고, 백향과, 양빈, 삼채의 경우 해외 발생바이러스가 이미 국내에도 유입되었거나, 발생 피해가 심각하지 않아 유입우려 바이러스 항목이 없음.

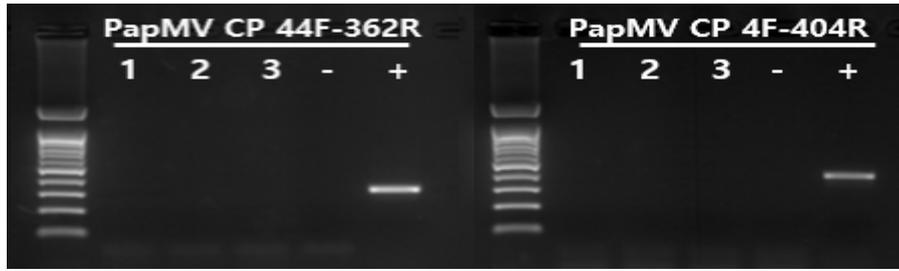
[표] 파파야, 바나나, 여주, 오크라 유입우려 바이러스 클론 정보

Host	Genus	genome	Virus	accession No.	insert site	insert size	Vector
파파야	Begomovirus	DNA	LaYVW	NC_009550	coat protein	774 bp	pUC57
	Begomovirus	DNA	MCLCuV	NC_003865	coat protein	756 bp	pUC57
	Begomovirus	DNA	PaGMV	DQ318928	coat protein	756 bp	pUC57
	Crinivirus	RNA	LCV	NC_012910	coat protein	753 bp	pUC57
	Potexvirus	RNA	PapMV	MN203142	coat protein	648 bp	pUC57
	Potyvirus	RNA	PLDMV	JX974555	coat protein	879 bp	pUC57
바나나	Robigovirus	RNA	BanMMV	EF143976	coat protein	717 bp	pUC57
여주	Begomovirus	DNA	BGYMV	MH481856	coat protein	771 bp	pUC57
	Begomovirus	DNA	ChaYMV	NC004618	coat protein	777 bp	pUC57
	Begomovirus	DNA	ICMV	NC001932	coat protein	771 bp	pUC57
	Begomovirus	DNA	ToLCPaV	NC010840	coat protein	771 bp	pUC57
	Tospovirus	RNA	MYSV	NC008300	coat protein	840 bp	pUC57
	Tospovirus	RNA	PBNV	MG913145	coat protein	831 bp	pUC57
	Ipomovirus	RNA	SqVYV	NC010521	coat protein	1074 bp	pUC57
오크라	Begomovirus	DNA	BYVMV	NC003418	coat protein	771 bp	pUC57
	Begomovirus	DNA	CLCuGV	NC038444	coat protein	777 bp	pUC57
	Begomovirus	DNA	OLCV	NC013017	coat protein	276 bp	pUC57
	Begomovirus	DNA	OkMV	NC009532	coat protein	567 bp	pUC57

	Begomovirus	DNA	OYMMV	NC014066	coat protein	756 bp	pUC57
	Begomovirus	DNA	OYVMV	NC004673	coat protein	771 bp	pUC57
	Begomovirus	DNA	RaLCV	NC010238	coat protein	771 bp	pUC57
	Mastrevirus	DNA	CpCDV	NC011058	coat protein	737 bp	pUC57

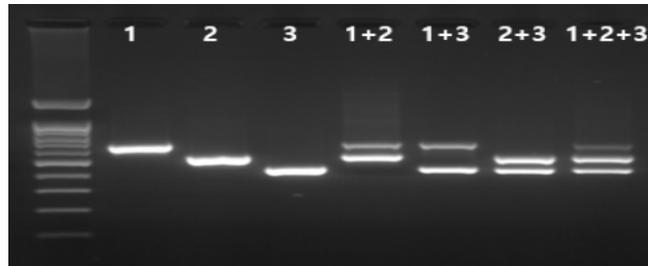
[표] 파파야, 바나나, 여주, 오크라 유입우려 바이러스 프라이머 정보

Host	Virus	Primer name	Sequence (5'→3')	Size (bp)	Annealing Temp. (°C)
파파야	PapMV	PapMV CP 44F	TTGTChGtYcKbAkrTTCCA	319	52
		PapMV CP 362R	CmATCACChmbGAACArATG		
		PapMV CP 4F	TCwAAGTCARgyATGTCbwC	401	
		PapMV CP 404R	ACACTrGCwGCyGGrACyTT		
	PaGMV	PaGMV CP 87F	TGGCCCAAGAGTTAAACAAGG	618	60
		PaGMV CP 704R	ACGGGATTAGAGGCATGTGT		
	MCLCuV	MCLCuV CP 93F	TAAATTCATAAAGGCCGCTGC	496	60
		MCLCuV CP 588R	GCGCCGGACCAGGGCTT		
	LaYVW	LaYVW CP 49F	GTACGCCGTCGTCTGAATTT	401	60
		LaYVW CP 449R	GGAGTAGTGACGGGCCTTCT		
	PLDMV	PLDMV CP 12F	TGCTGGCAAATyyACAGTAG	649	57
		PLDMV CP 660R	ACTCATGTCCGGTGAGGTTCC		
		PLDMV CP 185F	TTGGATCAAGCGGATCwkTC	616	57
		PLDMV CP 800R	TTCCGACTTTTCCATCCAG		
	LCV	LCV CP 269F	TCAAGAAGGTTGAYGGTGAAC	421	57
		LCV CP 689R	CCTTCAAAGCCTGGCACTT		
LCV CP 264F		CGTATTCAAGAAGGTTGACGGT	476	57	
LCV CP 739R		CyCCTGGTGCTAGTTGAGAy			
바나나	BanMMV	BanMMVCP119F	ChACwhTdGARrrATGGC	583	55
		BanMMVCP701R	AGrCTCATrAyyTCyGG		
여주	BGYMV	Begomo CP 104F	TTGTCCAAGGCACAAACAAA	406	57
		Begomo CP 509R	ACCGTTGCAGTACTGGGTTT		
	ChaYMV	Begomo CP 104F2	CTGTCCGCGTCACAAAAGA	419	57
		Begomo CP 521R	TCACGATGCATGTTCTTCCAC		
	MYSV	MYSV CP 51F	AGCTCTCACCCATTCATCA	413	57
		MYSV CP 463R	GCAGCTTCCATTGGTTGCT		
		MYSV CP 227F	CTAGCAGACATAACrCGAGC	566	
		MYSV CP 793R	TAGTGGTGGGAAGTCGGAAG		
		MYSV CP 224F	TTGCTAGCAGACATAACrCG	616	
		MYSV CP 839R	TGTCTACCGTTGCTAAGCTGA		
	SqVYV	SqVYV CP 629F	AGAGAAAGTCCGAGTCCACG	381	57
		SqVYV CP 1009R	TGTTTACGCGTCCTTCTCT		
		SqVYV CP 55F	GATGCCAACAACCGTCTGT	594	
		SqVYV CP 648R	CGTGGACTCGGACTTTCTCT		
SqVYV CP 55F		GATGCCAACAACCGTCTGT	780		
SqVYV CP 834R	CCTTGCTGCCTTGACATTGA	57			
오크라	OMV	OkMV CP 36F	GCTCAACACCAAGTCTCCA	511	56
		OkMV CP 546R	GGGAGAGTGGAGAGTCACGA		
	OLCV	OLCV CP 38F	TGCATGGGTTTCGTTGTATG	227	56
		OLCV CP 264R	CAGTGCTGGGCTCATTATCA		
	OYMMV	OYMMV CP 36F	GGGAACCTCAAAGGTGAGC	691	56
		OYMMV CP 726R	CCGAATCTTAAGCGTTGCAT		
	OYVMV	OYVMV CP 295F	GTCGGTTTGACCCATCGTA	281	56
		OYVMV CP 575R	GCATATTGTCCACCAGTAACG		
	CLCuGV	CLCuGV CP 266F	TKGTYYGHTGTGKTCBGA	273	52
		CLCuGV CP 538R	CTGRWAAYGATCWCGVWRRTCR		
	RaLCV	RaLCV CP 262F	AAAGTYATGTGTRTYAGTGATG	268	52
		RaLCV CP 529R	ATACCTATCACGATGAACA		



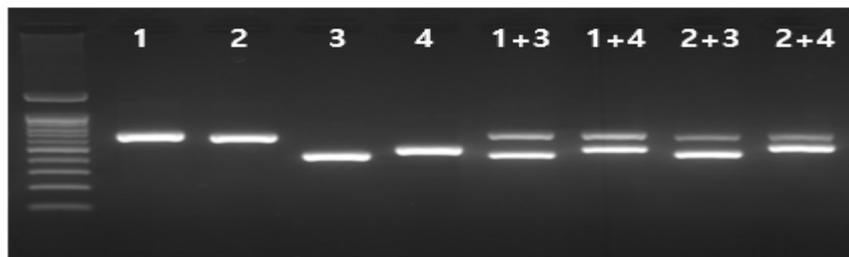
<그림> 파파야 국내 유입우려 바이러스 PapMV PCR 검정 결과
 [(1): CVX, (2): PiVX, (3): ZyVX, (-): DW, (+): PapMV]

- 파파야 국내 유입우려 바이러스인 PapMV 프라이머를 이용하여, PapMV를 포함하여 같은 Potexvirus genus에 속하는 CVX, PiVX, ZyVX를 대상으로 PCR을 수행한 결과 유연관계 바이러스와 비특이적 반응 없이 PapMV가 검출되었음.



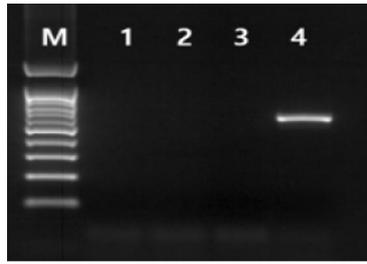
<그림> 파파야 국내 유입우려 바이러스 PaGMV, MCLCuV, LaYW multiplex PCR 검정 결과
 [(1): PaGMV, (2): MCLCuG, (3): LaYW]

- 파파야 국내 유입우려 DNA 바이러스인 PaGMV, MCLCuV, LaYW 프라이머를 이용하여, PCR을 수행한 결과 각 바이러스와 비특이적 반응 없이 3종 바이러스를 동시에 검출하였음.



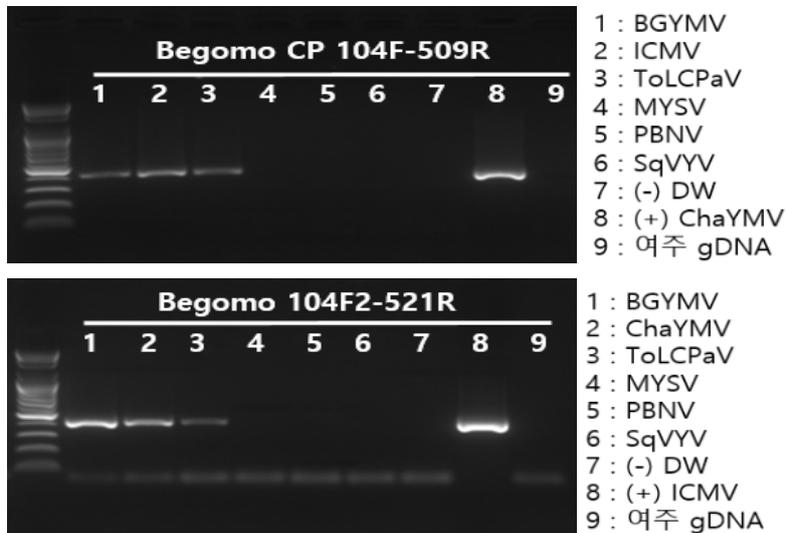
<그림> 파파야 국내 유입우려 바이러스 PLDMV, LCV multiplex PCR 검정 결과
 [(1): PLDMV CP 12F-660R, (2): PLDMV CP 185F-800R, (3): LCV CP 269F-689R, (4): LCV CP 264F-739R]

- 파파야 국내 유입우려 RNA 바이러스인 PLDMV, LCV 프라이머를 이용하여, PCR을 수행한 결과 각 바이러스와 비특이적 반응 없이 2종 바이러스를 동시에 검출하였음.



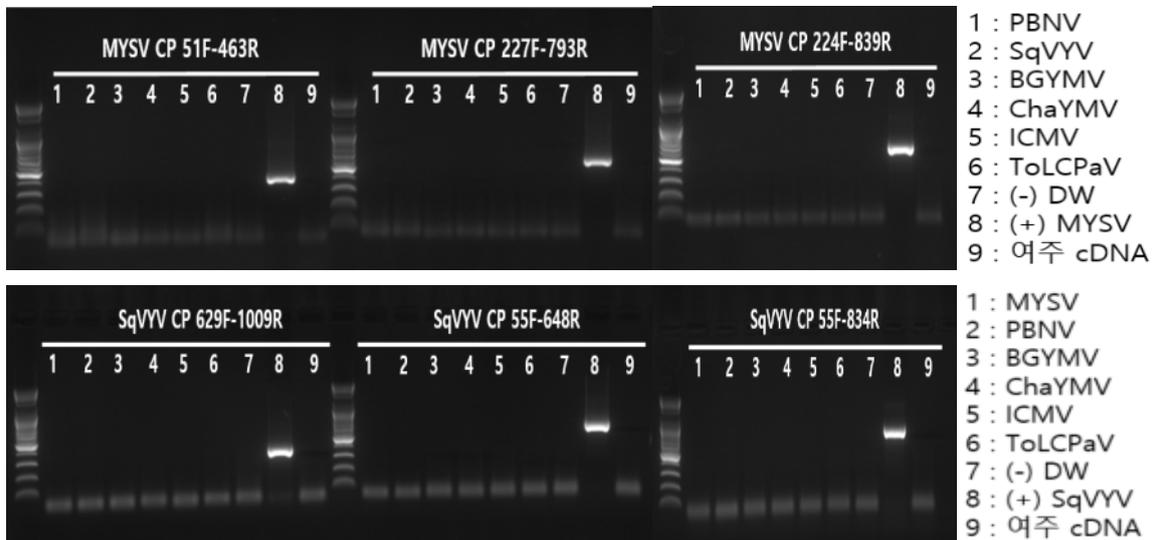
<그림> 바나나 국내 유입우려 바이러스 BanMMV PCR 검정 결과
 [(1): 정상 바나나 cDNA, (2): CMV, (3): DW, (4): BanMMV]

- 바나나 국내 유입우려 바이러스인 BanMMV 프라이머를 이용하여, 기주식물인 바나나 유전자와 기주유사관계 바이러스 CMV를 대상으로 PCR을 수행한 결과 유연관계 바이러스와 비특이적 반응 없이 BanMMV가 검출되었음.



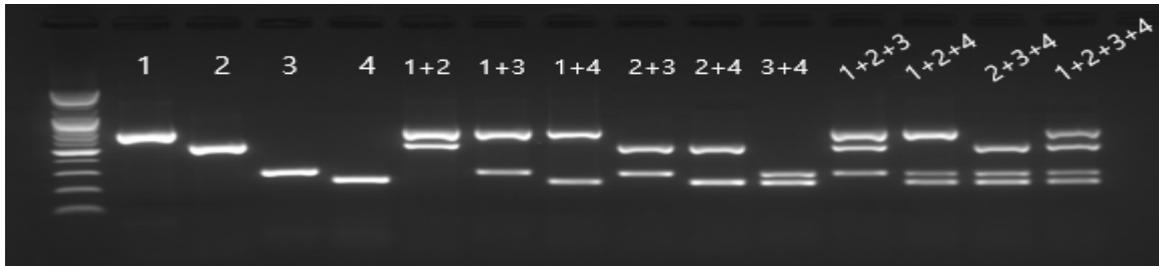
<그림> 여주 국내 유입우려 바이러스 4종 Begomovirus PCR 검정 결과

- 여주 국내 유입우려 DNA 바이러스인 BGYMV, ChaYMV, ICMV, ToLCPaV 프라이머를 이용하여, 기주유사관계 바이러스 MYSV, PBNV를 포함하여 PCR을 수행한 결과 기주 유사관계 바이러스와 비특이적 반응 없이 4종 Begomovirus가 동시에 검출되었음.



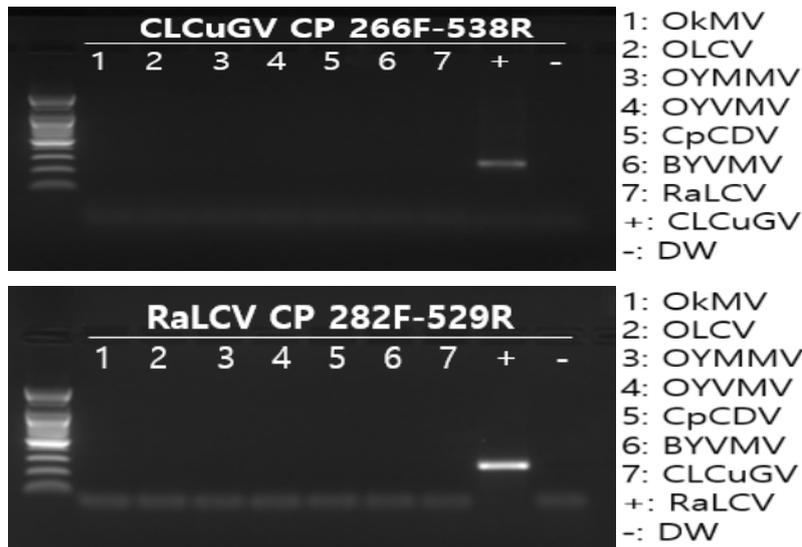
<그림> 여주 국내 유입우려 바이러스 MYSV, SqVYV PCR 검정 결과

- 여주 국내 유입우려 RNA 바이러스인 MYSV, SqVYV 프라이머를 이용하여, 기주유사관계 바이러스 BGYMV, ChaYMV, ICMV, ToLCPaV, PBNV를 포함하여 PCR을 수행한 결과 기주 유사관계 바이러스와 비특이적 반응 없이 2종 RNA 바이러스 MYSV, SqVYV가 각각 검출되었음.



<그림> 오크라 국내 유입우려 바이러스 OYMMV, OkMV, OYVMV, OLCV PCR 검정 결과

- 오크라 국내 유입우려 DNA 바이러스인 OYMMV, OkMV, OYVMV, OLCV 프라이머를 이용하여, PCR을 수행한 결과 각 바이러스와 비특이적 반응 없이 4종 바이러스를 동시에 검출하였음.



<그림> 오크라 국내 유입우려 바이러스 CLCuGV, RaLCV PCR 검정 결과

- 오크라 국내 유입우려 RNA 바이러스인 CLCuGV, RaLCV 프라이머를 이용하여, 기주유사관계 및 유연 관계 바이러스 OkMV, OLCV, OYMMV, OYVMV, CpCDV, BYVMV를 포함하여 PCR을 수행한 결과 비특이적 반응 없이 2종 RNA 바이러스 CLCuGV, RaLCV가 각각 검출되었음.

2-4. 제3협동 연구 수행 과정 및 수행 내용 [(주)셀세이프]

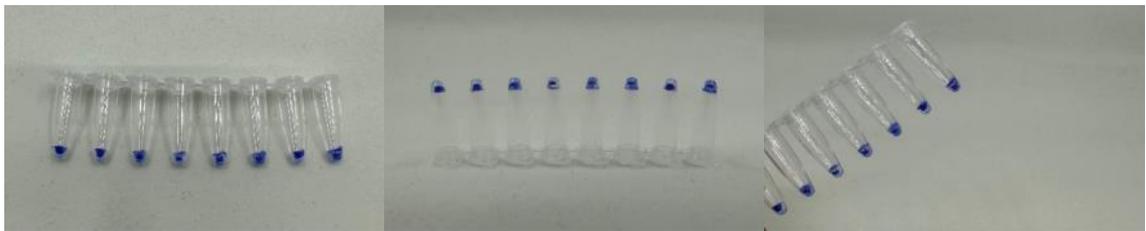
가. 시제품 개발

1) 건조형태 premix 최적화 및 개발

(가) 액상 premix의 건조

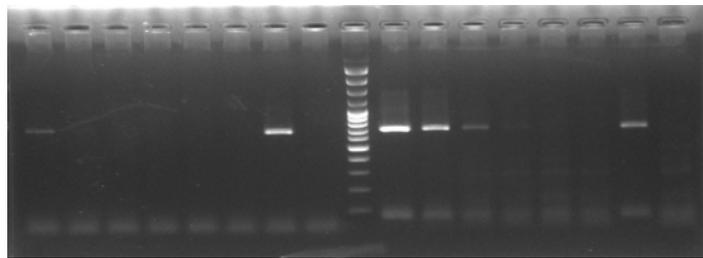
(1) 기존 건조기기 사용

	모델명	FDTE-4508
	동결건조	2~3시간
<p>진공건조시 온도가 유지되지 않아, 건조시간을 조절하지 못한다.</p>		

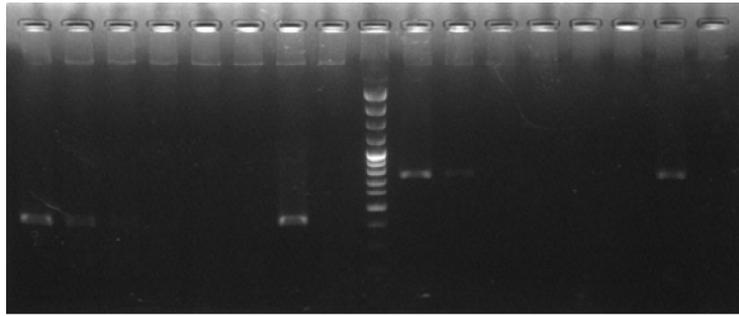


건조완료사진

(2) 실험결과



Lane 1	10 ⁵ Copy	Lane 10	10 ⁵ Copy
Lane 2	10 ⁴ Copy	Lane 11	10 ⁴ Copy
Lane 3	10 ³ Copy	Lane 12	10 ³ Copy
Lane 4	10 ² Copy	Lane 13	10 ² Copy
Lane 5	10Copy	Lane 14	10Copy
Lane 6	1Copy	Lane 15	1Copy
Lane 7	ChiVMV positive control	Lane 16	PAMV positive control
Lane 8	Negative control	Lane 17	Negative control
Lane 9	Marker		



Lane 1	10 ⁵ Copy	Lane 10	10 ⁵ Copy
Lane 2	10 ⁴ Copy	Lane 11	10 ⁴ Copy
Lane 3	10 ³ Copy	Lane 12	10 ³ Copy
Lane 4	10 ² Copy	Lane 13	10 ² Copy
Lane 5	10Copy	Lane 14	10Copy
Lane 6	1Copy	Lane 15	1Copy
Lane 7	RYMV positive control	Lane 16	TEV positive control
Lane 8	Negative control	Lane 17	Negative control
Lane 9	Marker		

(3) 건조 성능 개선

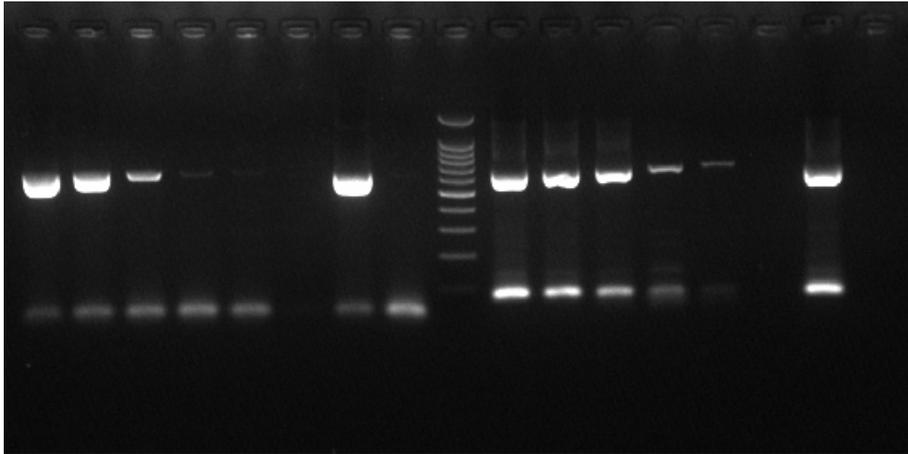
건조기기 교체

	모델명	FDT-8632
	동결건조	24~26시간
<p>진공건조시 온도를 유지할 수 있어, 건조시간을 조절할 수 있다.</p>		

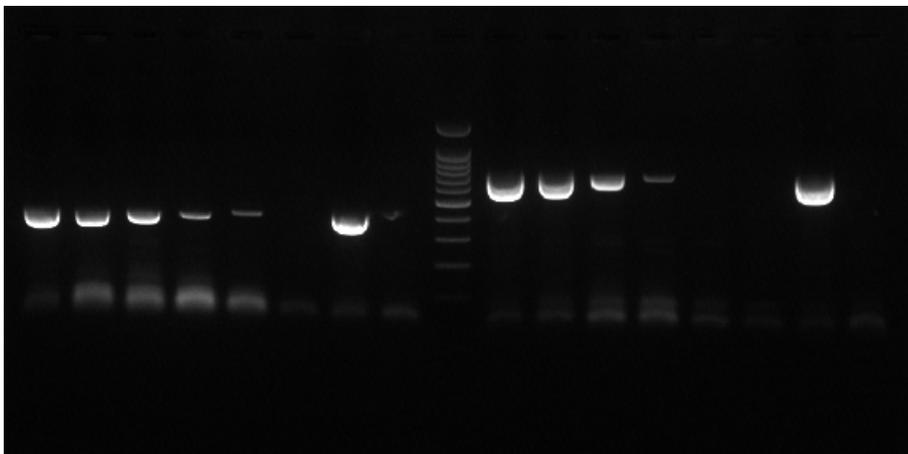


건조완료사진

(4) 실험결과



Lane 1	10 ⁵ Copy	Lane 10	10 ⁵ Copy
Lane 2	10 ⁴ Copy	Lane 11	10 ⁴ Copy
Lane 3	10 ³ Copy	Lane 12	10 ³ Copy
Lane 4	10 ² Copy	Lane 13	10 ² Copy
Lane 5	10Copy	Lane 14	10Copy
Lane 6	1Copy	Lane 15	1Copy
Lane 7	ChiVMV positive control	Lane 16	PAMV positive control
Lane 8	Negative control	Lane 17	Negative control
Lane 9	Marker		



Lane 1	10 ⁵ Copy	Lane 10	10 ⁵ Copy
Lane 2	10 ⁴ Copy	Lane 11	10 ⁴ Copy
Lane 3	10 ³ Copy	Lane 12	10 ³ Copy
Lane 4	10 ² Copy	Lane 13	10 ² Copy
Lane 5	10Copy	Lane 14	10Copy
Lane 6	1Copy	Lane 15	1Copy
Lane 7	RYMV positive control	Lane 16	TEV positive control
Lane 8	Negative control	Lane 17	Negative control
Lane 9	Marker		

(5) 건조 성능 개선 결과

건조기 교체 후 premix의 품질이 개선되어 성능이 좋아짐.

나. 농림축산검역본부에서 지정한 정밀검사법 미구축 식물검역바이러스 11종에 대한 DNA 및 RNA 준비.

1) 실험재료

(가) 키트 목록

- EZ-CleanCut™ Sspl (enzymomics)
- Nspl (NEB : New England BioLabs)
- LaboPass™ PCR Purification Kit (Cosmo genetech)
- T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System (Promega)

(나) 농림축산검역본부에서 지정한 식물검역바이러스 11종

< 2020년도 농기평과제 6종 양성대조클론 >

- Alstroemeria mosaic virus(AIMV)
- American plum line pattern virus (APLPV)
- Chilli veinal mottle virus (ChiVMV)
- Potato aucuba mosaic virus (PAMV)
- Rice yellow mottle virus (RYMV)
- Tobacco etch virus (TEV)

< 2021년도 농기평과제 5종 양성대조클론 >

- Carnation etched ring virus (CERV)
- Eggplant mottled dwarf virus (EMDV)
- Maize chlorotic mottle virus (MCDV)
- Lettuce big-vein associated virus (LBVaV)
- Potato yellow dwarf virus (PYDV)

2) 실험 방법

(가) 농림축산검역본부에서 지정한 식물검역바이러스 11종의 DNA 및 RNA 준비.

(1) DNA template 준비

Carnation etched ring virus (CERV)는 농림축산검역본부에서 디자인한 ‘2021년도 농기평과제 5종 양성대조클론 제작’을 기반으로 한 Plasmid DNA를 사용하였다.

Vector information (Bioneer)

Vector information

pBIC-A vector spec

- * **SP6 promoter** : 12bp ~ 29bp
- * **XhoI**: 30bp ~ 35bp
- * **pUC origin** : 167bp ~ 834bp
- * **Ampicillin** : 985bp ~ 1839bp
- * **BamHI**: 1975bp ~ 1980bp
- * **T7 promoter** : 1981bp ~ 2000
- * **Seq. primer** :

pBIC_F : 5'-CTCATGAGCGGATACATATTTG-3'

pBIC_R : 5'-GCCGACCCGAACGACCGAG-3'

***Cloning & In vitro transcription region**

GGATCCTAAATACGACTCACTATAGGGCGAATTGAATTCAGCCAGCAAGACAGCGATATCACCTGTAAGTCGGACGA
 ATTCAGCTTGAGTATTCTATAGTGTCACTAAATCTCGAG

***Restriction enzyme that cut the pBHA vector between 0 and 3 times**

# of sites	Enzyme
0	AarI, AatII, AbsI, AccI, AflII, AgeI, Ajul, AlfI, AoiI, ApaI, ArsI, AscI, AsuI, AvrII, BaeI, BalI, Bari, BbvCI, BclI, BglII, BpII, Bpu10I, BsaBI, BsaXI, BsePI, BseYI, BseYI, BsgI, BsmI, Bsp1407I, BspMI, BstEII, BstXI, BtgZI, BtrI, ClaI, CspCI, DraII, DraIII, Eco47III, EcoNI, Esp3I, Fall, FauI, FseI, FspAI, HindII, HindIII, HpaI, KpnI, MauBI, MfeI, MluI, NaeI, Nari, NcoI, NdeI, NheI, NotI, NruI, OsiI, PacI, PaeI, PflMI, PfoI, PmeI, PpuMI, PshAI, PstI, P1-PspI, PspXI, PsrI, PstI, PvuII, RsrII, SacI, SacII, SalI, SanDI, PI-SceI, SexAI, SfiI, SgfI, SgrAI, SgrDI, SmaI, SnaBI, SpeI, SphI, SrfI, Sse8387I, StuI, StyI, SwaI, TstI, Tth111I, XbaI, XcmI, XmaI
1	Acyl, AflIII, AlwNI, AvaI, BamHI, BfiI, BglI, BsaAI, Cfr10I, CfrI, DrdI, Eam1105I, Eco31I, EcoRV, GsuI, HaeIV, NmeAIII, NspI, PmaCI, PvuI, SapI, Scal, SspI, TatI, TfiI, TsoI, VspI, XhoI, XmnI
2	AccI, ApaLI, ApoI, AvaII, BcgI, BciVI, BdaI, BseSI, BsmAI, BspHI, BsrBI, BsrDI, BtsI, Eco57I, EcoRI, HaeII, TspGW1
3	BccI, CciI, Eco57MI, EcoP15I, EcoRII, FokI, HgaI, Hpy99I, MslI, SduI, Tsp45I

양성대조구클론 염기서열정보

2020년도 농기평과제 6종 양성대조구클론 염기서열

Sequence

```

gagaagcatgaccgggaaatccacgaaccacccttgatcacggccatccgagcaggcattccacaagaatcgtgtgagcgaccactgcagaaa
atgtacactcaacgtagctgcagcagcattcctaaggaagcactcgtctcgagcataatgcgactatctggaattccctggagctgagaccagatg
gaacccttaatagcctgcctatgaagtctccaaaattcgtgcgcacctgtcaaacacgcgaatggccctgacggtatgctggatgggatgtggtaga
tcagctcacgagagcttcacattgactcctgaggcaaatcaaacgggaataagcaaggacaaacaggtagcggccggtaacattgccgaagattctct
cacgaaccagatcccttaacggatgtgacaggattgcaagacctagtgtgacgagggtacaggtgccaaatcgtctgacagtctacactccaagc
aatcttaccagtgggattcgaattgagttcccgttgtagcgaacccttaagatggcgaagaatcttagttaccattcctgattcgaagcaaatgc
tcctgggagctgctattggctaaactacgcgaggatagatcctggcactccaactggacacccgggagctgtaagtgatcaatgggactgttatcc
gaggacagtgcccaacgatgacaatcattgccaactggaggcgaatgaccatactggtcagaagtcggcagagcataatgcgactatctggttaacgcc
atgatctgaggaggcaagcacttagtcgattgaaaggaccactgaaactcctgacgctaactcactatggtactctgctactcactgactctcagtc
aactgattccagacgctaaggtcacactctgactcctgattgcaactagcaataccgattggcaatccgcttatacttaactgggattgtgtgca
gacaatgccagatgacaggcattgacgcttgatcattggcattcaaatctcggatcgaagcgcctatggcaattcaatgatggcacgaatacatgca
tcaaacgatcacaggataatgctcgaataatcggatcacgttaagttcaatggtgtggtcatcga
    
```

2021년도 농기평과제 5종 양성대조구클론 염기서열

```

Sequence
AAATGTTACCCGCTACCCTAAGCCGATTGAGGACCCAGTCATACAAAGCTGGACTTGAAGCTAGCGTTTCATCCATCACGGTAGTCATTCAAGAAGGAG
CCCAGTGTACGAGAGACGTTTCTCACGGCCATCCGAGCAGGTGGCCCTGACGGTTAATTGACTCCTGAGGCAAATCAAACGGGAATAATTGCAGTTCC
CGATTGTAGCGAAACCTTAAGATCCATGAGGAAGAAGCTAGTGCAGGCGGACCGAAGAATCTTAGTTACCATTGGTCTACAAAAGCTTGTGCTCAGGTCA
GGTCATCGCGCAGAAATCGAGGGGACGTGCTCCGGAATGCACCTACTGGGAATTGGCTAAACGACAAGTCCATCTTCGTCTCGAATCTACGAATGGAT
CCAATGGGACTGTTATCCTCATTGCCACTGGAGGCGAATGACCATACTGGTCAAGAAGTCCCGACTCCTCGACGCTAATCACTAATTTGGCAATCCTGAGT
GTTGAAGCTCTACGCTATTGGTGCAGACCTAGCAATACCGCCGATTGCTATCCAGAGCTTCTCACATTCTGGCATAATAAGCCACTGCCGAGCTTATAC
TTAGTCTAACAGACAAACGTTCTGCCAAATGTACGCTCAGAAGAAGCATTAGGTGCCAGATGACAGGCATTAGCCGTTGATCAGGGTCCACATGGCATCT
GTGATTGCGCTTACAAAGAGACCCACTCTGCCAGATTGAGGCAACCGAGATGCGCCTATGGAAGGCAGGTGAGGAACTACATTCAAATCTTAACAGA
GTCAGACAGGAACTGTCCTGGCCCGGATCGTAACGAGGATACATACTGTGGCACTTTGCCTGATAAATCGGATCACGTTAAAGCAATCTCGAGGCAAGT
CCTTACTGGATGGACTTAGGCTCGGACCATGGTTGCTGTTACGCGTATAAGGCTGATTTCTGTAAGCCGAGGGCGAGATTTCCGCAAGTCCGATGCA
CCGATTAAGCGGAGTTTACGGATCCATAAAGCTATTAGCCGATTCCAGGAGTAGTGAGGTTCCAGGATGCCGTCAGAGAAGACATAGGTGACTCTAGCTA
TAGAATCGATATGTGCAACATCAGCAGAATAACGGCAGAGGTGGATACAGATGTTTGGTCCAAGTCTGGATGGCTCCAGTTTCATGATTGATAGCTCCTGC
GAACGACGAGCTGGATAGTAATGCGAACTGTCGAATTACTTCGGGCACGATGTCGACTTCCAAGTGAGGCTTGGATGCGGGAAGATGTGAGGTCAGTTTCTC
CAGCAACAGAGCTACCTGGAGATCCGACTCGCTTAGATACATGGGAACACTGCAATCGGTGAGCCATTGAAGAAATGCTAGCCCTTGGAGATTGTGTGA
GCACAATATTGCCGATAGGTATAAAGCAATGGATGACAGCAACCAA
    
```

(2) RNA template 준비

Alstroemeria mosaic virus(AIMV)외 10종은 농림축산검역본부에서 디자인한 ‘2020년도 농기평과제 6종 양성대조클론 제작’, ‘2021년도 농기평과제 5종 양성대조클론 제작’을 기반으로 한 Plasmid DNA를 Invitro-transcription하여 사용하였다.

(가) Linearizing DNA Template

① 각 Restriction Endonuclease에 필요한 Component를 준비한다.

EZ-CleanCut™ Sspl (enzymomics) : AIMV, APLPV, ChiVMV, PAMV, RYMV, TEV

A Component	A Final Conc.	A Volume
B Substrate DNA	B 1ug	B X ul
C 10X FastCut Buffer	C 1X	C 5ul
D EZ-CleanCut™ Sspl	D 20unit	D 1ul
E Sterile water	E -	E Up to 50ul
F Total Reaction Volume	F -	A 50 μl

Nspl (NEB) : LBVaV, MCMV, EMDV, PYDV

A Component	A Volume
B Restriction Enzyme (Nspl)	B 10 units is sufficient, generally 1μl is used
C DNA	C 1 μg
D 10X NEBuffer	D 5 μl (1X)
E Sterile water	E Up to 50ul
F Total Reaction Volume	50ul

② 각 Component를 혼합하여 조건에 맞게 반응시킨다.

A Restriction Endonuclease	A Temperature	A Time
B EZ-CleanCut™ Sspl	B 37°C	B 15min
C Nspl	C 37°C	C 1hour

③ Clean up (PCR purification)

③-1. Linearizing된 DNA Template를 50ul 준비한다.

③-2. DNA Template에 5배volume만큼 PB buffer를 첨가하여 Mixture를 만든다.

③-3. Mixture를 spin column으로 옮기고, 13,000rpm에 1분간 원심분리한다.

③-4. Collection tube를 비우고, NW buffer 750ul를 column에 넣어 다시 13,000rpm에 1분간 원심분리한다.

③-5. Column을 새로운 1.5ml tube에 옮긴다.

③-6. Column에 EB buffer 또는 distilled water 50ul를 넣어 1분간 실온에서 배양한 후, 13,000rpm에 1분간 원심분리하여 elution한다.

Transcription (Promega : T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System)
Synthesizing Large Quantities of RNA

In-vitro Transcription에 필요한 Component를 준비한다.

A	T7 Reaction Components	A	Sample Reaction
B	RiboMAX™ Express T7 2X Buffer	B	25µl
C	Linear DNA template (1 µg total)	C	20µl
D	Nuclease-Free Water	D	0µl
E	Enzyme Mix, T7 Express	E	5µl
F	Final volume	F	50µl

Component를 혼합하여 조건에 맞게 반응시킨다.

A	Temperature	B	Time
C	37°C	D	30min

(Removing DNA Template and Unincorporated rNTPs Following Transcription)

Template DNA 1µg당 1unit의 농도가 되도록 RQ1 RNase-Free DNase를 첨가한다.
37 °C에서 15분간 배양한다.

1 volume의 phenol (pH 4-5): chloroform: isoamyl alcohol (125:24:1)을 넣어 1분간 Vortexing 후, 15,000RPM에서 2분간 원심분리한다.

상층액을 새tube에 옮기고 1 volume의 phenol (pH 4-5): chloroform: isoamyl alcohol (125:24:1)을 넣어준다. 1분간 Vortexing 후, 15,000RPM에서 2분간 원심분리한다.

상층액을 새tube에 옮긴다. 남은 chloroform은 마이크로 원심분리기에서 최고 속도로 10분간 원심분리하여 마이크로 피펫으로 바닥 상을 제거함으로써 제거할 수 있다.

3M Sodium Acetate (pH 5.2) 0.1 volume과 95 % 에탄올 2.5 volume을 첨가하여 섞고 2-5분 동안 얼음 위에 둔다. 마이크로 원심분리기에서 최고 속도로 10분간 원심분리한다.

상등액을 제거하고 70% 에탄올 1ml로 세척 후 70% 에탄올 제거한다. Tube의 뚜껑을 열어 남은 70% 에탄올 건조시키고 RNA 샘플을 TE 버퍼 또는 DNase free Water를 전사 반응과 동일한 부피로 다시 부유시킨다.

-70°C에서 보관한다.

나) 식물검역바이러스 11종에 대한 DNA 및 RNA 정량.

(1) 실험재료

- Qubit 1x dsDNA Hs assay kit (Invitrogen:Thermo Fisher Scientific Inc.)
- Qubit RNA Hs assay kit (Invitrogen:Thermo Fisher Scientific Inc.)

식물검역바이러스 DNA 및 RNA 정량 및 측정

DNA 정량 및 측정 (Qubit 1x dsDNA Hs assay kit) - CERV

Qubit™ standard1,2를 각각 튜브에 10µl씩 분주한다.

측정하고자 하는 DNA sample을 1-20µl 분주한다.

Qubit™ 1X dsDNA working solution을 각 튜브의 Volume이 200µl이 되도록 분주한다.

3~5초동안 Vortexing하여 각 Sample들을 고르게 섞어준다.

실온에서 2분동안 Incubation 시킨 후, DNA 농도를 측정한다.

측정한 DNA농도로 Copies/ul를 계산하여, 105copies/ul 농도의 DNA를 만든다.

RNA 정량 및 측정 (Qubit RNA Hs assay kit) – AIMV, APLPV, ChiVMV, PAMV, RYMV, TEV, LBVaV, MCMV, EMDV, PYDV

Qubit™ RNA HS reagent : RNA HS buffer를 1:199 비율로 섞어 Qubit™ working solution을 준비한다.

Qubit™ working solution을 용량에 맞추어 넣어준다.

A	B Standard assay tubes	C User sample assay tubes
A Volume of working solution	A 190µl	D 180~199µl
B Volume of standard	B 10µl	E -
C Volume of user sample	C -	F 1~20µl
D Total Volume in each assay tube	D 200µl	G 200µl

Qubit™ standard 1,2를 각각 튜브에 10µl씩 분주한다

측정하고자 하는 RNA sample을 1~20µl 분주한다.

3~5초동안 Vortexing하여 각 Sample들을 고르게 섞어준다.

실온에서 2분동안 Incubation 시킨 후, RNA 농도를 측정한다.

측정한 RNA농도로 Copies/ul를 계산하여, 105copies/ul 농도의 RNA를 만든다.

다. 식물검역바이러스 11종에 대한 민감도(Sensitivity) 측정

1) 실험재료

(가) 진단키트 목록

- ① *Alstroemeria mosaic virus*(AIMV)
- ② *American plum line pattern virus* (APLPV)
- ③ *Chilli veinal mottle virus* (ChiVMV)
- ④ *Potato aucuba mosaic virus* (PAMV)
- ⑤ *Rice yellow mottle virus* (RYMV)
- ⑥ *Tobacco etch virus* (TEV)
- ⑦ *Carnation etched ring virus* (CERV)
- ⑧ *Eggplant mottled dwarf virus* (EMDV)
- ⑨ *Maize chlorotic mottle virus* (MCDV)
- ⑩ *Lettuce big-vein associated virus* (LBVaV)
- ⑪ *Potato yellow dwarf virus* (PYDV)

2) 실험방법

(가) RT-PCR/PCR 검사법 정보 및 반응 조건

- 실험실정밀검역 운영요령(예규 제178호)의 『주요 검사대상 병원체별 표준검사법 목록』 적용

(1) 반응 조성

Reaction Components	Sample Reaction	PC (Positive Control)	NTC (No Template Control)
(RT-)PCR premix	-	-	-
Plant Virus DNA,	1 µl	-	-

Reaction Components	Sample Reaction	PC (Positive Control)	NTC (No Template Control)
RNA			
Positive Control	-	1 μ l	-
Nuclease Free Water	Up to 20 μ l		
Final Volume	20 μ l	20 μ l	1 μ l

- Plant Virus DNA, RNA : 'II. 식물검역바이러스 11종에 대한 DNA 및 RNA 정량'에서 정량한

11종 식물검역바이러스 DNA 및 RNA를 10⁵copies/ μ l부터 10⁰copies/ μ l까지 Serial Dilution한 Plant Virus DNA or RNA

(2) 반응 조건

A. AIMV, APLPV, PAMV, RYMV, TEV

Steps & Cycle		온도(°C)	시간
Reverse Transcription		42	60 min
Pre-Heat		94	15 min
PCR	35 Cycles	Denature	94 45 sec
		Anneal	55 1 min
		Extend*	72 1 min

B. ChiVMV

Steps & Cycle		온도(°C)	시간
Reverse Transcription		42	60 min
Pre-Heat		94	10 min
PCR	35 Cycles	Denature	94 45 sec
		Anneal	55 1 min
		Extend*	72 1 min

C. CERV

Steps & Cycle		온도(°C)	시간
Pre-Heat		95	15 min
PCR	32 Cycles	Denature	94 30 sec
		Anneal	60 30 sec
		Extend*	72 1 min

D. EMDV, MCMV, LBVaV, PYDV

Steps & Cycle		온도(°C)	시간
Reverse Transcription		42	60 min
Pre-Heat		95	15 min
PCR	32 Cycles	Denature	94 30 sec
		Anneal	60 30 sec

		Extend*	72	1 min
--	--	---------	----	-------

라. 식물검역바이러스 11종에 대한 특이도(Specificity) 측정

1) 실험재료

(가) 진단키트 목록

- ① *Alstroemeria mosaic virus (AIMV)*
- ② *American plum line pattern virus (APLPV)*
- ③ *Chilli veinal mottle virus (ChiVMV)*
- ④ *Potato aucuba mosaic virus (PAMV)*
- ⑤ *Rice yellow mottle virus (RYMV)*
- ⑥ *Tobacco etch virus (TEV)*
- ⑦ *Carnation etched ring virus (CERV)*
- ⑧ *Eggplant mottled dwarf virus (EMDV)*
- ⑨ *Maize chlorotic mottle virus (MCDV)*
- ⑩ *Lettuce big-vein associated virus (LBVaV)*
- ⑪ *Potato yellow dwarf virus (PYDV)*

(나) RNA 추출

- Plant RNA mini Kit Ver.2 - Onsol
- 포도잎 (*Vitis vinifera* L.)

2) 실험방법

(가) RNA 추출 (Plant RNA mini Kit Ver.2 - Onsol)

*모든 Centrifugation step들은 14,000rpm으로 실행.

- ① 1.5ml tube 에 30~50mg 의 ground tissue 를 넣는다.
- ② Buffer RPL2 400 μ l 넣고 Vortexing 하여 균질한 용액을 얻는다.
- ③ 실온에도 3 분동안 방치하다.
- ④ 모든 Lysate 를 DroX column 에 옮기고, 1 분간 원심분리한다.
- ⑤ 조심스럽게 상층액 300 μ l 를 새 1.5ml tube 로 옮긴다.
- ⑥ 70% ethanol 300 μ l 를 Tube 에 넣고 pipetting 이나 inverting 하여 충분히 섞어준다.
- ⑦ 모든 mixture 를 Spin column 로 옮기고 30 초동안 원심분리한다. Collecting tube 를 비우고 spin column 을 다시 tube 에 끼운다.
- ⑧ Buffer RW1 500 μ l 를 spin column 에 넣고 30 초간 원심분리한다. Collecting tube 를 비우고 spin column 을 다시 tube 에 끼운다.
- ⑨ 70 μ L 의 DNase I reaction mixture 를 spin column 의 중앙에 분주한 후, 실온에서 10 분간 Incubation 시킨다.
- ⑩ Buffer RW1 500 μ l 를 spin column 에 넣고 2 분동안 둔다.
- ⑪ 30 초동안 원심분리 후, Collecting tube 를 비우고 spin column 을 다시 tube 에 끼운다.
- ⑫ Buffer RW2 750 μ l 를 spin column 에 넣고 30 초동안 원심분리 후, Collecting tube 를 비우고 spin column 을 다시 tube 에 끼운다.
- ⑬ 12 번 step 을 한번 더 반복한다.
- ⑭ 1 분 동안 원심분리하여 잔여 Wash buffer 를 제거한 후, spin column 을 새 1.5ml tube 에 옮긴다.
- ⑮ 50 μ l 의 Nuclease Free Water 를 spin column membrane 의 중앙에 넣고 1 분간 방치 후, 1 분간 원심분리하여 RNA 를 Elution 한다.

(나) RNA 정량 및 측정 (Qubit RNA Hs assay kit)

- ① Qubit™ RNA HS reagent : RNA HS buffer를 1:199 비율로 섞어 Qubit™ working solution을 준비한다.
- ② Qubit™ working solution을 용량에 맞추어 넣어준다.

	Standard assay tubes	User sample assay tubes
Volume of working solution	190 μ l	180~199 μ l
Volume of standard	10 μ l	-
Volume of user sample	-	1~20 μ l
Total Volume in each assay	200 μ l	200 μ l

tube		
------	--	--

- ③ Qubit™ standard1,2를 각각 튜브에 10µl씩 분주한다
 - ④ 측정하고자 하는 RNA sample을 1-20µl 분주한다.
 - ⑤ 3~5초동안 Vortexing하여 각 Sample들을 고르게 섞어준다.
 - ⑥ 실온에서 2분동안 Incubation 시킨 후, RNA 농도를 측정한다.
- (다) RT-PCR/PCR 검사법 정보 및 반응 조건

- 실험실정밀검역 운영요령(예규 제178호)의 『주요 검사대상 병원체별 표준검사법 목록』 적용

(1) 반응조성

Reaction Components	Sample Reaction
(RT-) PCR premix	0 µl
포도잎 추출 RNA	5 µl
Nuclease Free Water	Up to 20 µl
Final Volume	20 µl

(2) 반응조건

A. AIMV, APLPV, PAMV, RYMV, TEV

Steps & Cycle		온도(°C)	시간
Reverse Transcription		42	60 min
Pre-Heat		94	15 min
PCR	35 Cycles	Denature	94 45 sec
		Anneal	55 1 min
		Extend*	72 1 min

B. ChiVMV

Steps & Cycle		온도(°C)	시간
Reverse Transcription		42	60 min
Pre-Heat		94	10 min
PCR	35 Cycles	Denature	94 45 sec
		Anneal	55 1 min
		Extend*	72 1 min

C. CERV

Steps & Cycle		온도(°C)	시간
Pre-Heat		95	15 min
PCR	32 Cycles	Denature	94 30 sec
		Anneal	60 30 sec
		Extend*	72 1 min

D. EMDV, MCMV, LBVaV, PYDV

Steps & Cycle		온도(°C)	시간
Reverse Transcription		42	60 min
Pre-Heat		95	15 min
PCR	32 Cycles	Denature	94
		Anneal	60
		Extend*	72
			30 sec
			30 sec
			1 min

다. 식물검역바이러스 11종에 대한 완건성(robustness) 측정 : MgCl₂농도별 완건성

1. 실험재료

1) 진단키트 목록

① *Alstroemeria mosaic virus (AIMV)*

2. 실험방법

1) RT-PCR/PCR 검사법 정보 및 반응 조건

- 실험실정밀검역 운영요령(예규 제178호)의 『주요 검사대상 병원체별 표준검사법 목록』 적용

(1) 반응 조성

Vial No.	Reaction Components	Sample Reaction	NTC (No Template Control)	PC (Positive Control)
1	(RT-) PCR premix	-	-	-
2	Plant Virus RNA	1 µl	-	-
3	Positive Control	-	-	1 µl
4	Nuclease Free Water	Up to 20 µl		
Final Volume		20µl	20 µl	20 µl

● Plant Virus DNA, RNA : 'II. 식물검역바이러스 11종에 대한 DNA 및 RNA 정량'에서 정량한 11종 식물검역바이러스 DNA 및 RNA를 10⁵copies/ul부터 10⁰copies/ul까지 Serial Dilution한 Plant Virus DNA or RNA

(2) 반응 조건

A. AIMV

Steps & Cycle		온도(°C)	시간
Reverse Transcription		42	60 min
Pre-Heat		94	15 min
PCR	35 Cycles	Denature	94
		Anneal	55
		Extend*	72
			45 sec
			1 min
			1 min

바. 식물검역바이러스 11종에 대한 현장적용샘플 시험

1. 실험재료

1) 진단키트 목록 (SafeDry™ Plant Virus Detection Kit)

- ① *Alstroemeria mosaic virus*(AIMV)
- ② *American plum line pattern virus* (APLPV)
- ③ *Chilli vein mottle virus* (ChiVMV)
- ④ *Potato aucuba mosaic virus* (PAMV)
- ⑤ *Rice yellow mottle virus* (RYMV)
- ⑥ *Tobacco etch virus* (TEV)
- ⑦ *Carnation etched ring virus* (CERV)
- ⑧ *Eggplant mottled dwarf virus* (EMDV)
- ⑨ *Maize chlorotic mottle virus* (MCDV)
- ⑩ *Lettuce big-vein associated virus* (LBVaV)
- ⑪ *Potato yellow dwarf virus* (PYDV)

2) 양성시료

- ELISA positive control (Agdia) : AIMV, APLPV, PAMV, TEV, MCMV
- ELISA positive control (DSMZ) : ChiVMV, RYMV, LBVaV, EMDV, PYDV

3) RNA 추출

- Plant RNA mini Kit Ver.2 (Onsol)

2. 실험방법

1) RNA 추출 (Plant RNA mini Kit Ver.2 – Onsol)

*모든 Centrifugation step들은 14,000rpm으로 실행.

- ① 1.5ml tube 에 30~50mg 의 ground tissue 를 넣는다.
- ② Buffer RPL2 400 μ l 넣고 Vortexing 하여 균질한 용액을 얻는다.
- ③ 실온에도 3 분동안 방치하다.
- ④ 모든 Lysate 를 DroX column 에 옮기고, 1 분간 원심분리한다.
- ⑤ 조심스럽게 상층액 300 μ l 를 새 1.5ml tube 로 옮긴다.
- ⑥ 70% ethanol 300 μ l 를 Tube 에 넣고 pipetting 이나 inverting 하여 충분히 섞어준다.
- ⑦ 모든 mixture 를 Spin column 로 옮기고 30 초동안 원심분리한다. Collecting tube 를 비우고 spin column 을 다시 tube 에 끼운다.
- ⑧ Buffer RW1 500 μ l 를 spin column 에 넣고 30 초간 원심분리한다. Collecting tube 를 비우고 spin column 을 다시 tube 에 끼운다.
- ⑨ 70 μ l 의 DNase I reaction mixture 를 spin column 의 중앙에 분주한 후, 실온에서 10 분간 Incubation 시킨다.
- ⑩ Buffer RW1 500 μ l 를 spin column 에 넣고 2 분동안 둔다.
- ⑪ 30 초동안 원심분리 후, Collecting tube 를 비우고 spin column 을 다시 tube 에 끼운다.
- ⑫ Buffer RW2 750 μ l 를 spin column 에 넣고 30 초동안 원심분리 후, Collecting tube 를 비우고 spin column 을 다시 tube 에 끼운다.
- ⑬ 12 번 step 을 한번 더 반복한다.
- ⑭ 1 분 동안 원심분리하여 잔여 Wash buffer 를 제거한 후, spin column 을 새 1.5ml tube 에 옮긴다.
- ⑮ 50 μ l 의 Nuclease Free Water 를 spin column membrane 의 중앙에 넣고 1 분간 방치 후, 1 분간 원심분리하여 RNA 를 Elution 한다.

2) RT-PCR 검사법 정보 및 반응조건

- 실험실정밀검역 운영요령(예규 제178호)의 『주요 검사대상 병원체별 표준검사법 목록』 적용

(1) 반응 조성

(2) 반응 조건

Reaction Components	Sample Reaction	PC (Positive Control)	NTC (No Template Control)
(RT-)PCR premix	-	-	-
Sample	3-5 μ l	-	-
Positive Control	-	1 μ l	-
Nuclease Free Water	Up to 20 μ l		
Final volume	20 μ l	20 μ l	20 μ l

A. AIMV, APLPV, PAMV, RYMV, TEV

Steps & Cycle			온도(°C)	시간
Reverse Transcription			42	60 min
Pre-Heat			94	15 min
PCR	35 Cycles	Denature	94	45 sec
		Anneal	55	1 min
		Extend*	72	1 min

B. ChiVMV

Steps & Cycle			온도(°C)	시간
Reverse Transcription			42	60 min
Pre-Heat			94	10 min
PCR	35 Cycles	Denature	94	45 sec
		Anneal	55	1 min
		Extend*	72	1 min

C. CERV

Steps & Cycle			온도(°C)	시간
Pre-Heat			95	15 min
PCR	32 Cycles	Denature	94	30 sec
		Anneal	60	30 sec
		Extend*	72	1 min

D. EMDV, MCMV, LBVaV, PYDV

Steps & Cycle			온도(°C)	시간
Reverse Transcription			42	60 min
Pre-Heat			95	15 min
PCR	32 Cycles	Denature	94	30 sec
		Anneal	60	30 sec
		Extend*	72	1 min

사. 농림축산검역본부내 시제품 시험

1) 실험재료

(가) 진단키트 목록 (SafeDry™ Plant Virus Detection Kit)

- ① *Alstroemeria mosaic virus*(AIMV)
- ② *American plum line pattern virus* (APLPV)
- ③ *Chilli veinal mottle virus* (ChiVMV)
- ④ *Potato aucuba mosaic virus* (PAMV)
- ⑤ *Rice yellow mottle virus* (RYMV)
- ⑥ *Tobacco etch virus* (TEV)
- ⑦ *Carnation etched ring virus* (CERV)
- ⑧ *Eggplant mottled dwarf virus* (EMDV)
- ⑨ *Maize chlorotic mottle virus* (MCDV)
- ⑩ *Lettuce big-vein associated virus* (LBVaV)
- ⑪ *Potato yellow dwarf virus* (PYDV)

(나)양성시료

- ELISA positive control (Agdia, Elkhart, USA)

(APLPV, CERV는 양성대조구 클론 사용)

2) 실험방법

가) RNA 추출

- RNeasy plant mini kit (QIAgen, Hilden, Germany)

나) T-PCR 검사법 정보 및 반응조건

- 실험실정밀검역 운영요령(예규 제178호)의 『주요 검사대상 병원체별 표준검사법 목록』 적용

(1) 반응 조성

Reaction Components	Sample Reaction	PC (Positive Control)	NTC (No Template Control)
(RT-)PCR premix	-	-	-
Sample	3-5 µl	-	-
Positive Control	-	1 µl	-
Nuclease Free Water	Up to 20 µl		
Final volume	20 µl	20 µl	1 µl

(2) 반응 조건

A. AIMV, APLPV, PAMV, RYMV, TEV

Steps & Cycle		온도(°C)	시간
Reverse Transcription		42	60 min
Pre-Heat		94	15 min
PCR	35 Cycles	Denature	94
		Anneal	55
		Extend*	72

B. ChiVMV

Steps & Cycle			온도(°C)	시간
Reverse Transcription			42	60 min
Pre-Heat			94	10 min
PCR	35 Cycles	Denature	94	45 sec
		Anneal	55	1 min
		Extend*	72	1 min

C. CERV

Steps & Cycle			온도(°C)	시간
Pre-Heat			95	15 min
PCR	35 Cycles	Denature	94	30 sec
		Anneal	60	30 sec
		Extend*	72	1 min

D. EMDV, MCMV, LBVaV, PYDV

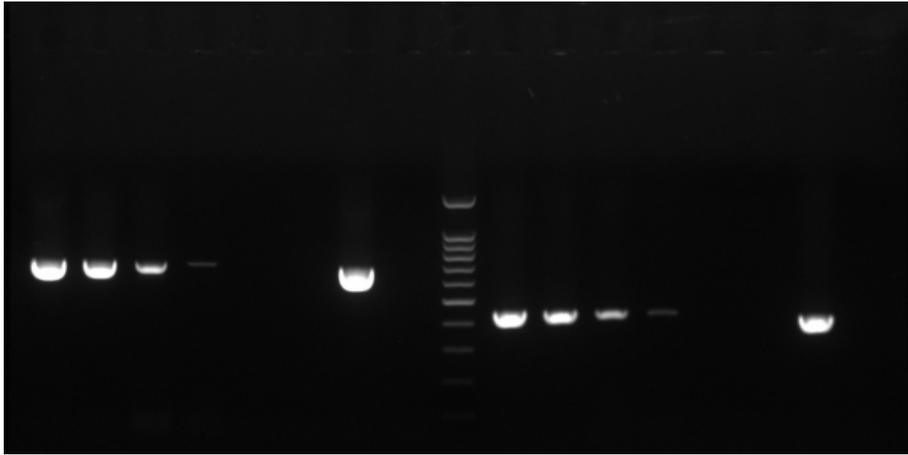
Steps & Cycle			온도(°C)	시간
Reverse Transcription			42	60 min
Pre-Heat			95	15 min
PCR	35 Cycles	Denature	94	30 sec
		Anneal	60	30 sec
		Extend*	72	1 min

(가) 식물검역바이러스 11종에 대한 민감도(Sensitivity) 측정

- 식물검역바이러스 11종에 대한 민감도(Sensitivity) 결과

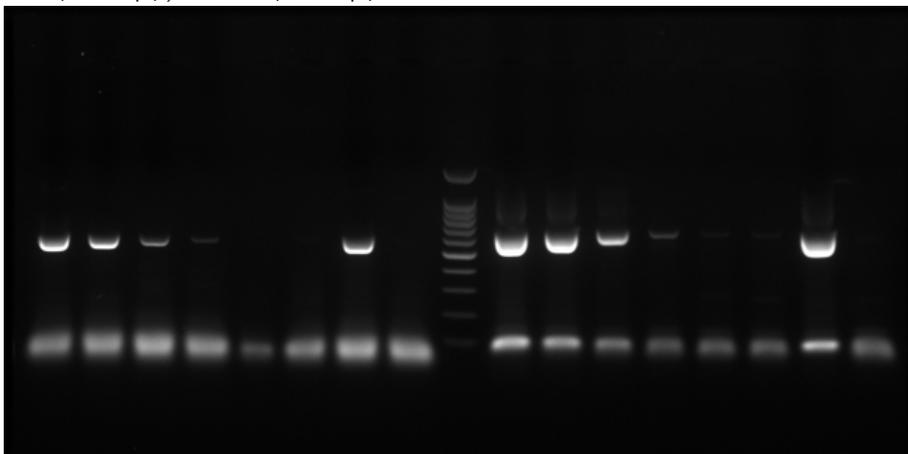
Copies/μl	민감도(Sensitivity) 결과																					
	10 ⁵			10 ⁴			10 ³			10 ²			10 ¹			10 ⁰			NTC			
AIMV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
APLPV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ChiVMV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PAMV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RYMV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TEV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CERV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LBVaV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MCMV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EMDV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PYDV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(가) AIMV(670bp), APLPV(436bp)



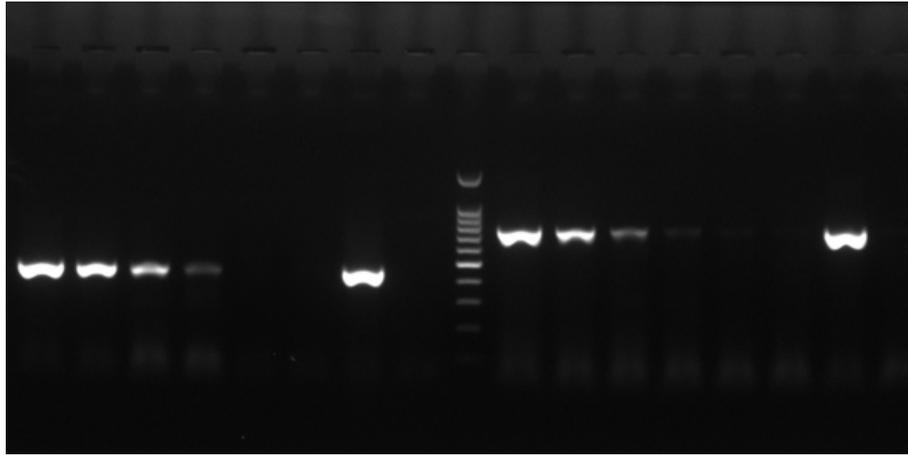
Lane 1	10 ⁵ Copy	Lane 10	10 ⁵ Copy
Lane 2	10 ⁴ Copy	Lane 11	10 ⁴ Copy
Lane 3	10 ³ Copy	Lane 12	10 ³ Copy
Lane 4	10 ² Copy	Lane 13	10 ² Copy
Lane 5	10Copy	Lane 14	10Copy
Lane 6	1Copy	Lane 15	1Copy
Lane 7	AIMV positive control	Lane 16	APLPV positive control
Lane 8	Negative control	Lane 17	Negative control
Lane 9	Marker		

(나) ChiVMV(662bp), PAMV(696bp)



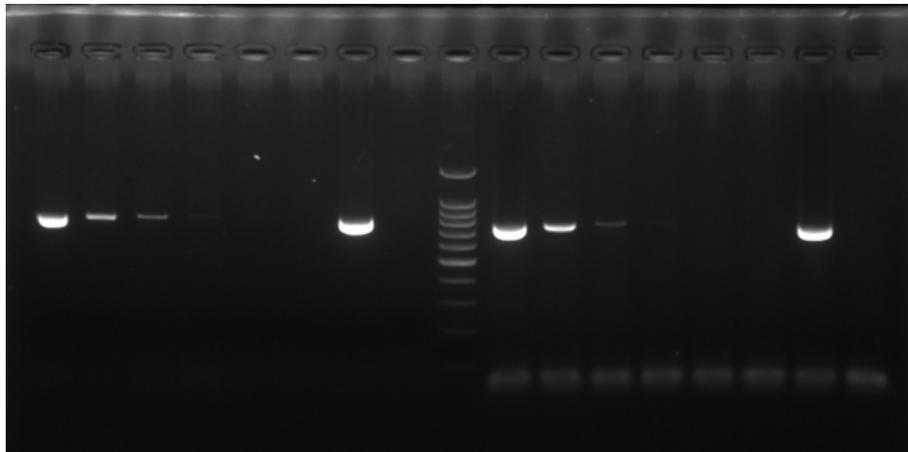
Lane 1	10 ⁵ Copy	Lane 10	10 ⁵ Copy
Lane 2	10 ⁴ Copy	Lane 11	10 ⁴ Copy
Lane 3	10 ³ Copy	Lane 12	10 ³ Copy
Lane 4	10 ² Copy	Lane 13	10 ² Copy
Lane 5	10Copy	Lane 14	10Copy
Lane 6	1Copy	Lane 15	1Copy
Lane 7	ChiVMV positive control	Lane 16	PAMV positive control
Lane 8	Negative control	Lane 17	Negative control
Lane 9	Marker		

(다) RYMV(431bp), TEV(738bp)



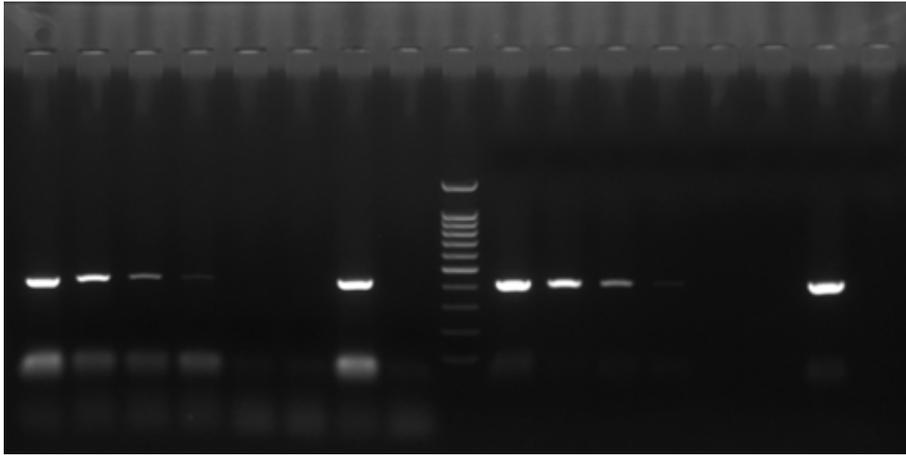
Lane 1	10 ⁵ Copy	Lane 10	10 ⁵ Copy
Lane 2	10 ⁴ Copy	Lane 11	10 ⁴ Copy
Lane 3	10 ³ Copy	Lane 12	10 ³ Copy
Lane 4	10 ² Copy	Lane 13	10 ² Copy
Lane 5	10Copy	Lane 14	10Copy
Lane 6	1Copy	Lane 15	1Copy
Lane 7	RYMV positive control	Lane 16	TEV positive control
Lane 8	Negative control	Lane 17	Negative control
Lane 9	Marker		

(라) CERV(789bp)



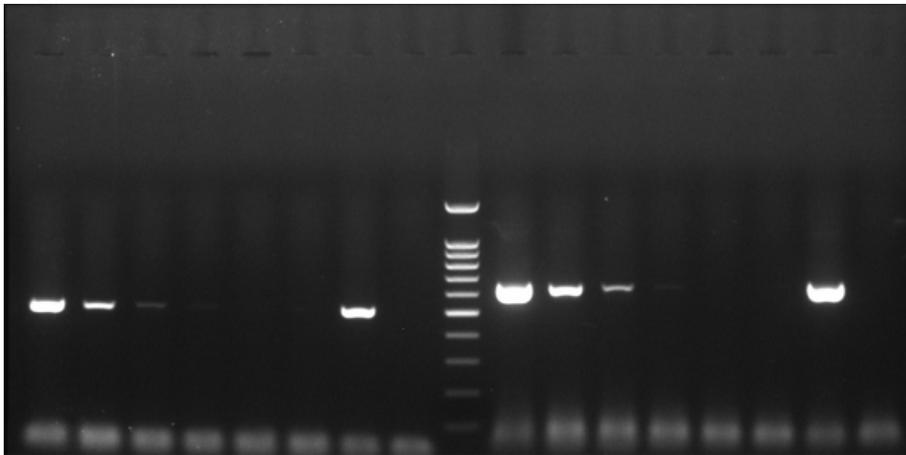
Lane 1	10 ⁵ Copy	Lane 10	10 ⁵ Copy
Lane 2	10 ⁴ Copy	Lane 11	10 ⁴ Copy
Lane 3	10 ³ Copy	Lane 12	10 ³ Copy
Lane 4	10 ² Copy	Lane 13	10 ² Copy
Lane 5	10Copy	Lane 14	10Copy
Lane 6	1Copy	Lane 15	1Copy
Lane 7	CERV positive control	Lane 16	CERV positive control
Lane 8	Negative control	Lane 17	Negative control
Lane 9	Marker		

(마) LBVaV(427bp), MCMV(411bp)



Lane 1	10 ⁵ Copy	Lane 10	10 ⁵ Copy
Lane 2	10 ⁴ Copy	Lane 11	10 ⁴ Copy
Lane 3	10 ³ Copy	Lane 12	10 ³ Copy
Lane 4	10 ² Copy	Lane 13	10 ² Copy
Lane 5	10Copy	Lane 14	10Copy
Lane 6	1Copy	Lane 15	1Copy
Lane 7	LBVaV positive control	Lane 16	MCMV positive control
Lane 8	Negative control	Lane 17	Negative control
Lane 9	Marker		

(바) EMDV(521bp), PYDV(669bp)



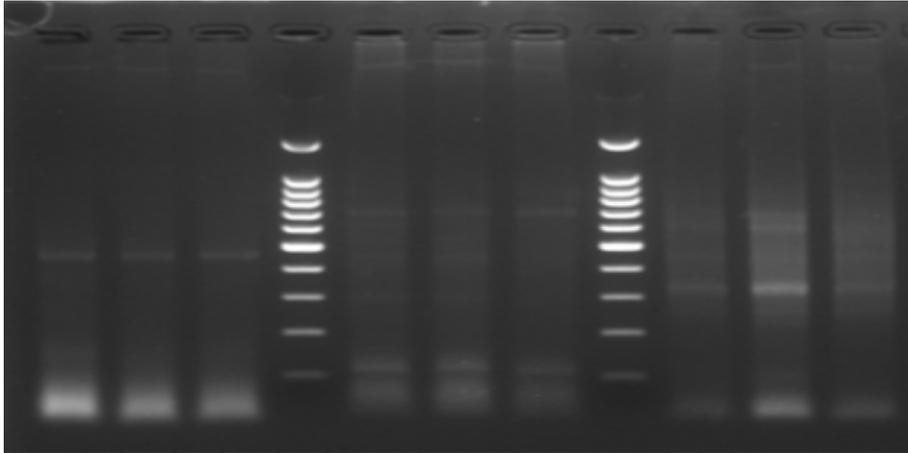
Lane 1	10 ⁵ Copy	Lane 10	10 ⁵ Copy
Lane 2	10 ⁴ Copy	Lane 11	10 ⁴ Copy
Lane 3	10 ³ Copy	Lane 12	10 ³ Copy
Lane 4	10 ² Copy	Lane 13	10 ² Copy
Lane 5	10Copy	Lane 14	10Copy
Lane 6	1Copy	Lane 15	1Copy
Lane 7	EMDV positive control	Lane 16	PYDV positive control
Lane 8	Negative control	Lane 17	Negative control
Lane 9	Marker		

(나) 식물검역바이러스 11종에 대한 특이도(Specificity) 측정

- 식물검역바이러스 11종에 대한 특이도(Specificity) 결과

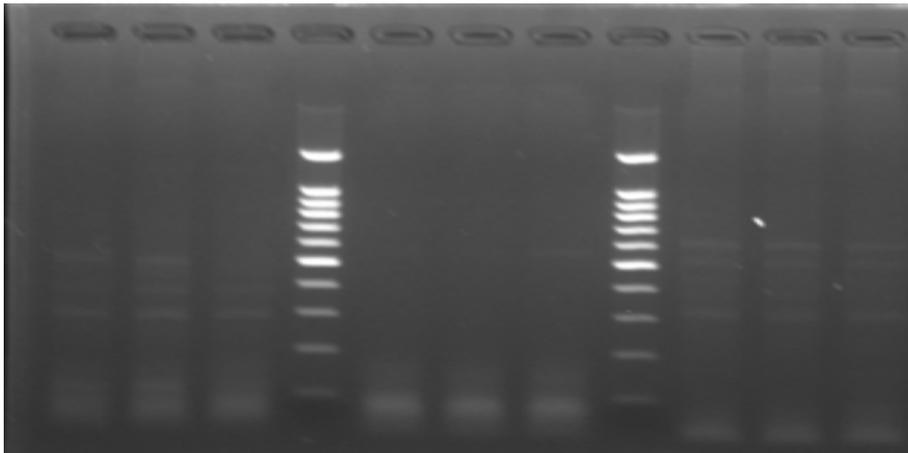
특이도(Specificity) 결과							
	포도잎 추출 RNA				포도잎 추출 RNA		
AIMV	-	-	-	CERV	-	-	-
APLPV	-	-	-	LBVaV	-	-	-
ChiVMV	-	-	-	MCMV	-	-	-
PAMV	-	-	-	EMDV	-	-	-
RYMV	-	-	-	PYDV	-	-	-
TEV	-	-	-				

1) AIMV(670bp), APLPV(436bp), ChiVMV(662bp)



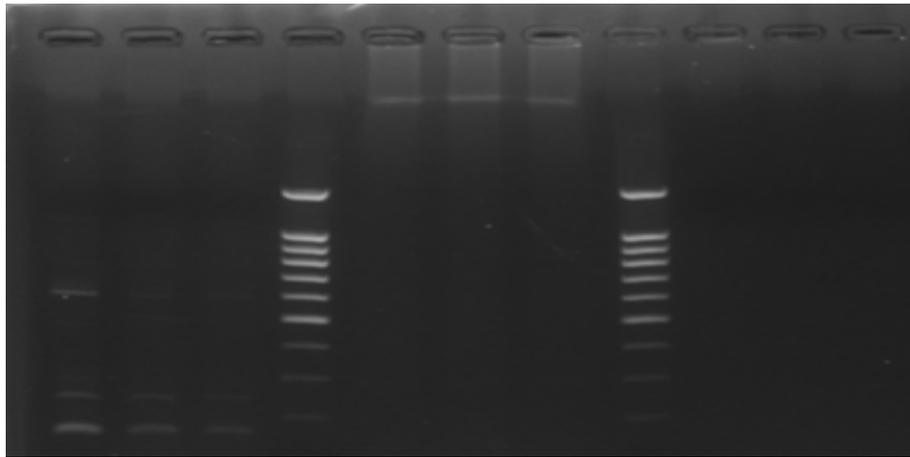
Lane 1	포도잎 추출 RNA / AIMV	Lane 7	포도잎 추출 RNA / APLPV
Lane 2	포도잎 추출 RNA / AIMV	Lane 8	Marker
Lane 3	포도잎 추출 RNA / AIMV	Lane 9	포도잎 추출 RNA / ChiVMV
Lane 4	Marker	Lane 10	포도잎 추출 RNA / ChiVMV
Lane 5	포도잎 추출 RNA / APLPV	Lane 11	포도잎 추출 RNA / ChiVMV
Lane 6	포도잎 추출 RNA / APLPV		

2) PAMV(696bp), RYMV(431bp), TEV(738bp)



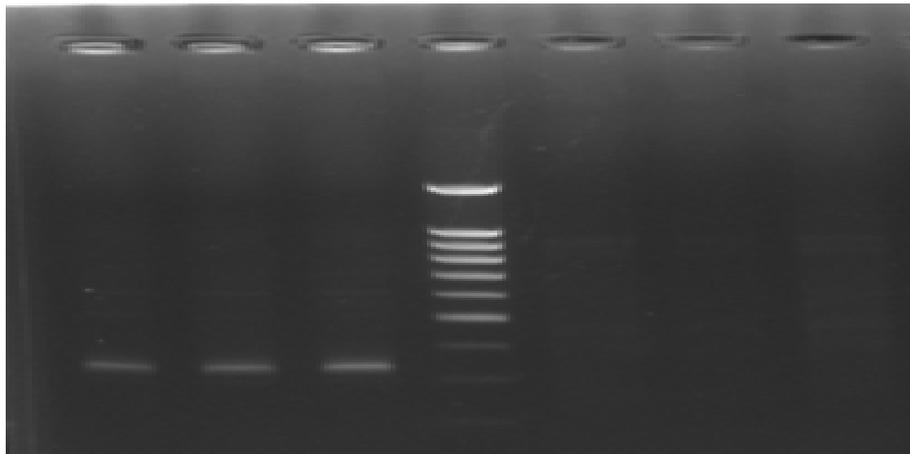
Lane 1	포도잎 추출 RNA / PAMV	Lane 7	포도잎 추출 RNA / RYMV
Lane 2	포도잎 추출 RNA / PAMV	Lane 8	Marker
Lane 3	포도잎 추출 RNA / PAMV	Lane 9	포도잎 추출 RNA / TEV
Lane 4	Marker	Lane 10	포도잎 추출 RNA / TEV
Lane 5	포도잎 추출 RNA / RYMV	Lane 11	포도잎 추출 RNA / TEV
Lane 6	포도잎 추출 RNA / RYMV		

3) CERV(789bp), LBVaV(427bp), MCMV(411bp)



Lane 1	포도잎 추출 RNA / CERV	Lane 7	포도잎 추출 RNA / LBVaV
Lane 2	포도잎 추출 RNA / CERV	Lane 8	Marker
Lane 3	포도잎 추출 RNA / CERV	Lane 9	포도잎 추출 RNA / MCMV
Lane 4	Marker	Lane 10	포도잎 추출 RNA / MCMV
Lane 5	포도잎 추출 RNA / LBVaV	Lane 11	포도잎 추출 RNA / MCMV
Lane 6	포도잎 추출 RNA / LBVaV		

4) EMDV(521bp), PYDV(669bp)



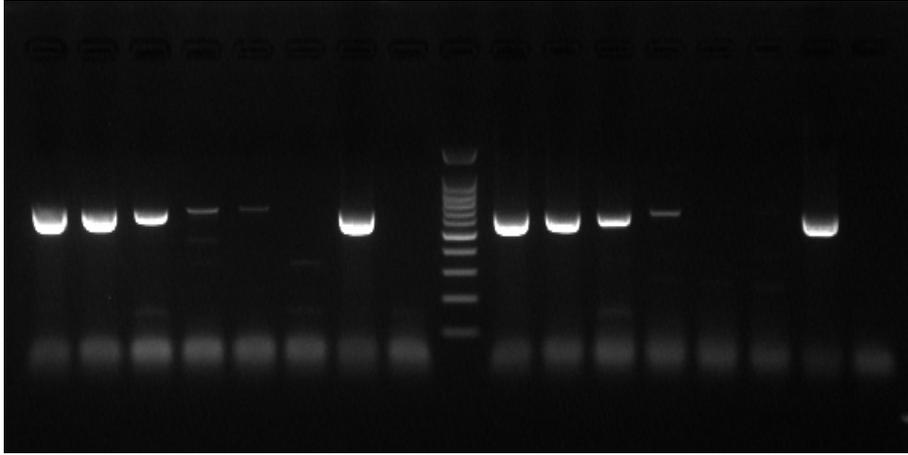
Lane 1	포도잎 추출 RNA / EMDV	Lane 5	포도잎 추출 RNA / PYDV
Lane 2	포도잎 추출 RNA / EMDV	Lane 6	포도잎 추출 RNA / PYDV
Lane 3	포도잎 추출 RNA / EMDV	Lane 7	포도잎 추출 RNA / PYDV
Lane 4	Marker		

(다) 식물검역바이러스 11종에 대한 완건성(robustness)

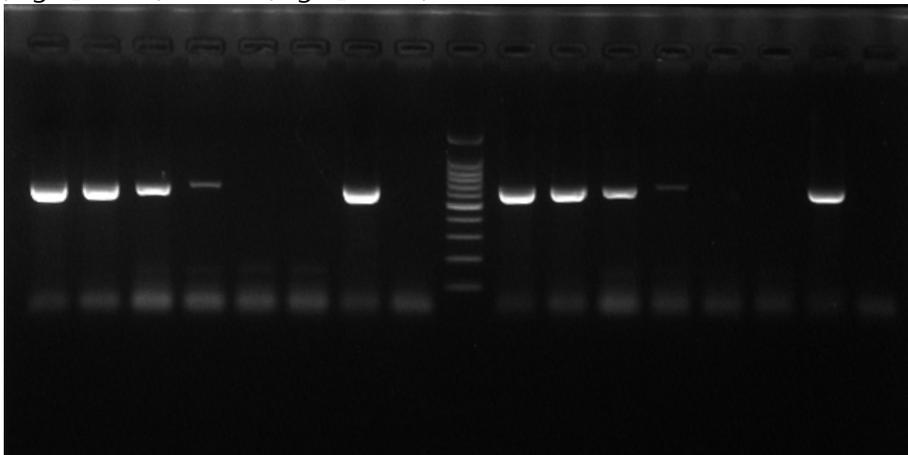
1) 식물검역바이러스 11종에 대한 완건성(robustness) 결과

민감도(Sensitivity) 결과																				
Copies/ μ l	10^5			10^4			10^3			10^2			10^1			10^0			NTC	
AIMV (MgCl ₂ 2mM)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
AIMV (MgCl ₂ 2.5mM)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
AIMV (MgCl ₂ 3mM)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

2) AIMV (MgCl₂ 2mM), AIMV (MgCl₂ 2.5mM)



3) AIMV (MgCl₂ 2mM), AIMV (MgCl₂ 3mM)

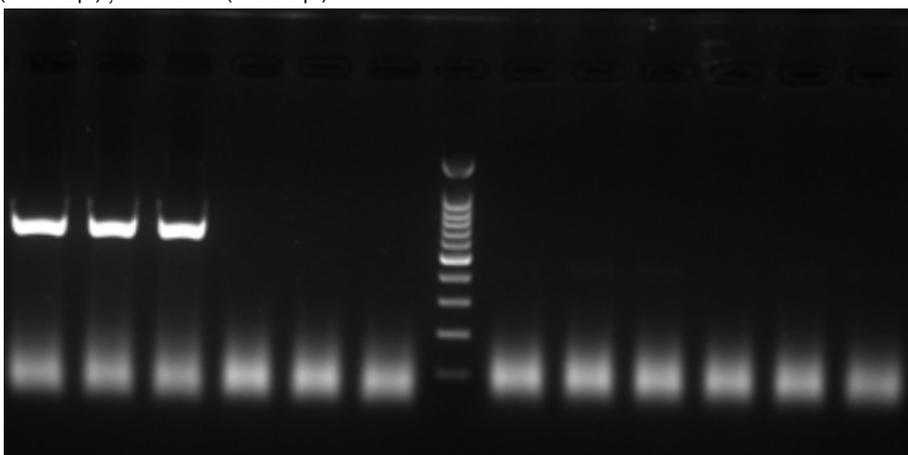


(라) 식물검역바이러스 11종에 대한 현장적용샘플 시험

1) 식물검역바이러스 11종에 대한 현장적용샘플 시험결과

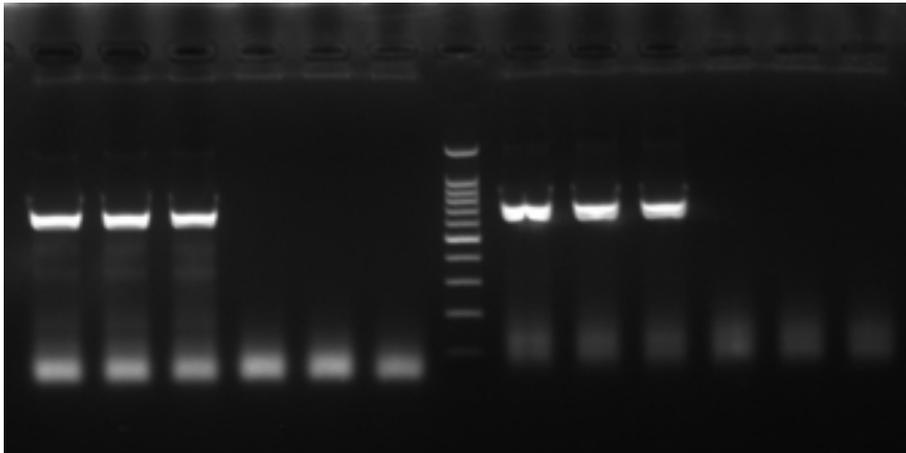
	현장적용샘플				현장적용샘플		
	+	+	+		-	-	-
AIMV	+	+	+	CERV	-	-	-
APLPV	-	-	-	LBVaV	+	+	+
ChiVMV	+	+	+	MCMV	+	+	+
PAMV	+	+	+	EMDV	+	+	+
RYMV	+	+	+	PYDV	+	+	+
TEV	+	+	+				

2) AIMV(670bp), APLPV(436bp)



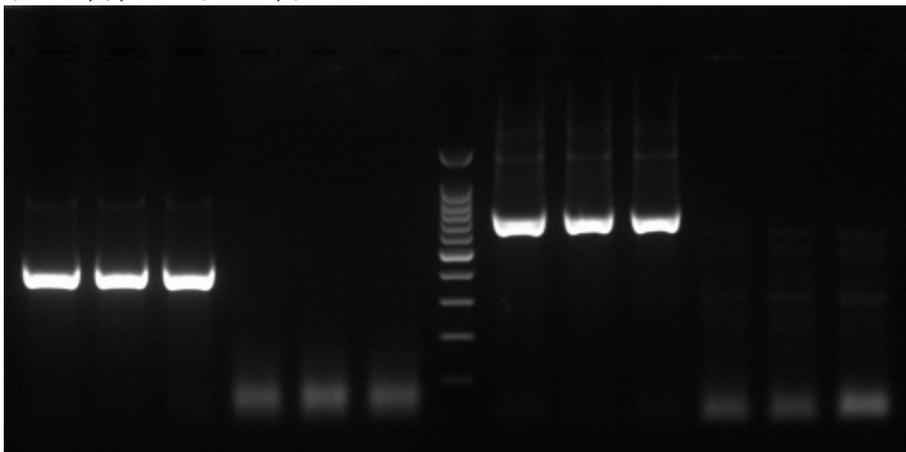
Lane 1	Elisa PC / AIMV	Lane 8	Elisa PC / APLPV
Lane 2	Elisa PC / AIMV	Lane 9	Elisa PC / APLPV
Lane 3	Elisa PC / AIMV	Lane 10	Elisa PC / APLPV
Lane 4	Negative control	Lane 11	Negative control
Lane 5	Negative control	Lane 12	Negative control
Lane 6	Negative control	Lane 13	Negative control
Lane 7	Marker		

3) ChiVMV(662bp), PAMV(696bp)



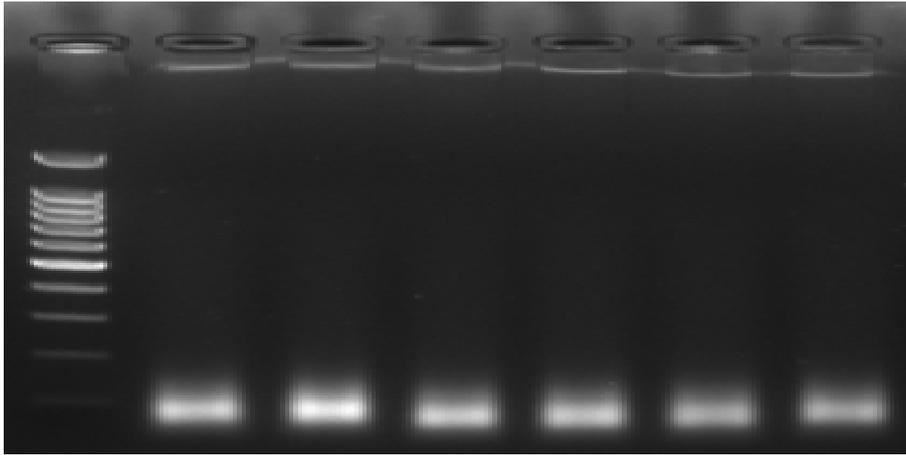
Lane 1	Elisa PC / ChiVMV	Lane 8	Elisa PC / PAMV
Lane 2	Elisa PC / ChiVMV	Lane 9	Elisa PC / PAMV
Lane 3	Elisa PC / ChiVMV	Lane 10	Elisa PC / PAMV
Lane 4	Negative control	Lane 11	Negative control
Lane 5	Negative control	Lane 12	Negative control
Lane 6	Negative control	Lane 13	Negative control
Lane 7	Marker		

4) RYMV(431bp), TEV(738bp)



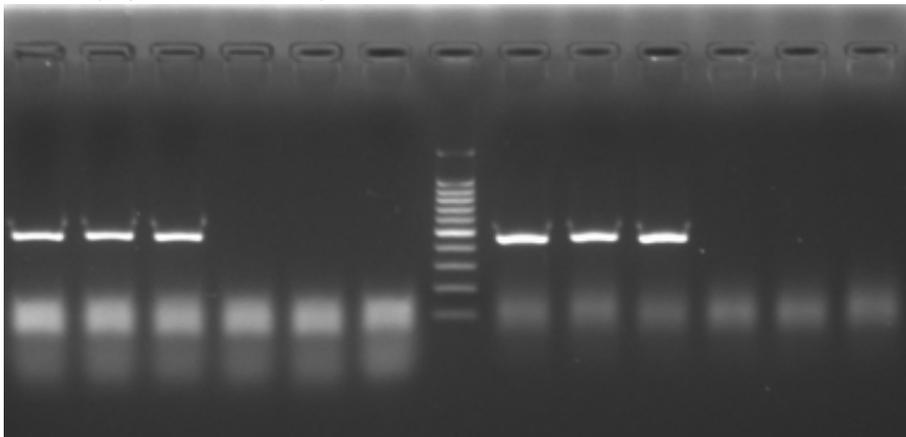
Lane 1	Elisa PC / RYMV	Lane 8	Elisa PC / TEV
Lane 2	Elisa PC / RYMV	Lane 9	Elisa PC / TEV
Lane 3	Elisa PC / RYMV	Lane 10	Elisa PC / TEV
Lane 4	Negative control	Lane 11	Negative control
Lane 5	Negative control	Lane 12	Negative control
Lane 6	Negative control	Lane 13	Negative control
Lane 7	Marker		

5) CERV(789bp)



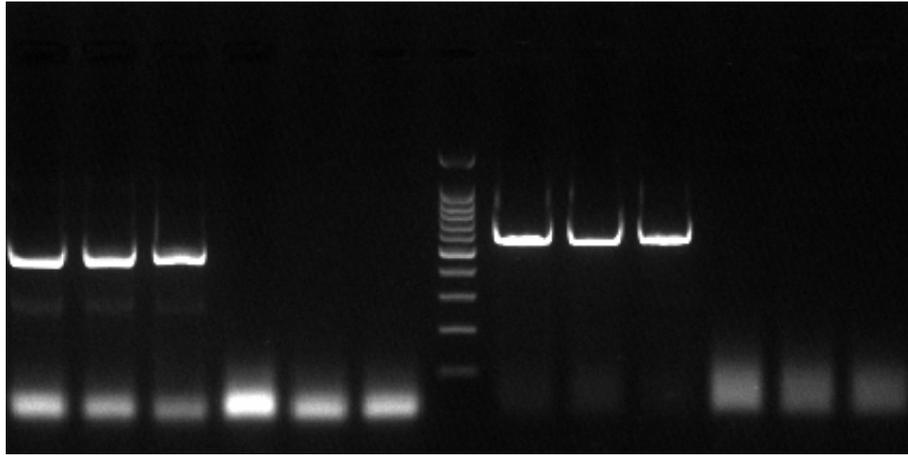
Lane 1	Elisa PC / CERV		
Lane 2	Elisa PC / CERV		
Lane 3	Elisa PC / CERV		
Lane 4	Negative control		
Lane 5	Negative control		
Lane 6	Negative control		
Lane 7	Marker		

6) LBVaV(427bp), MCMV(411bp)



Lane 1	Elisa PC / LBVaV	Lane 8	Elisa PC / MCMV
Lane 2	Elisa PC / LBVaV	Lane 9	Elisa PC / MCMV
Lane 3	Elisa PC / LBVaV	Lane 10	Elisa PC / MCMV
Lane 4	Negative control	Lane 11	Negative control
Lane 5	Negative control	Lane 12	Negative control
Lane 6	Negative control	Lane 13	Negative control
Lane 7	Marker		

7) EMDV(521bp), PYDV(669bp)

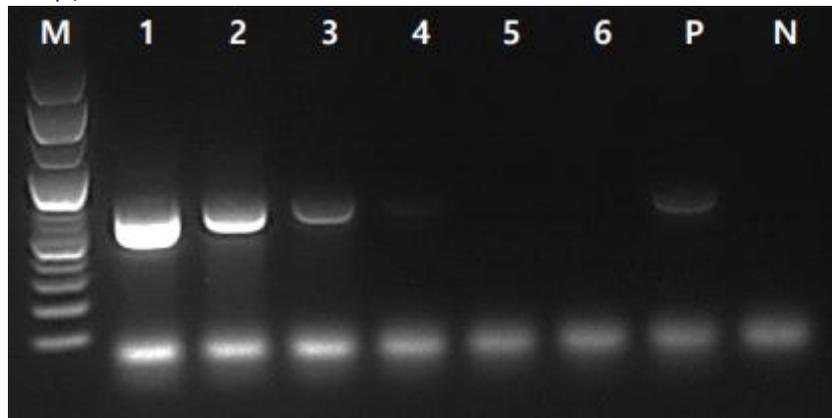


Lane 1	Elisa PC / EMDV	Lane 8	Elisa PC / PYDV
Lane 2	Elisa PC / EMDV	Lane 9	Elisa PC / PYDV
Lane 3	Elisa PC / EMDV	Lane 10	Elisa PC / PYDV
Lane 4	Negative control	Lane 11	Negative control
Lane 5	Negative control	Lane 12	Negative control
Lane 6	Negative control	Lane 13	Negative control
Lane 7	Marker		

(마) 농림축산검역본부내 시제품 시험

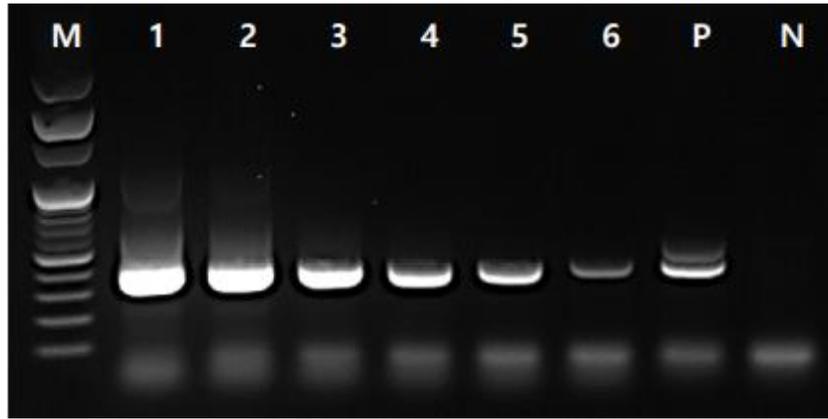
- 농림축산검역본부내 시제품 시험결과

(1) AIMV(670bp)



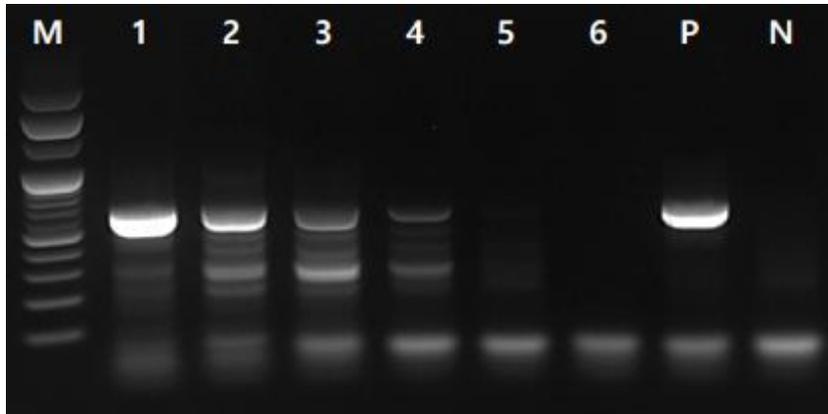
M	Marker
Lane 1	10ng
Lane 2	1ng
Lane 3	0.1ng
Lane 4	0.01ng
Lane 5	0.001ng
Lane 6	0.0001ng
P	AIMV positive control
N	Negative (D.W.)

(2) APLPV(436bp)



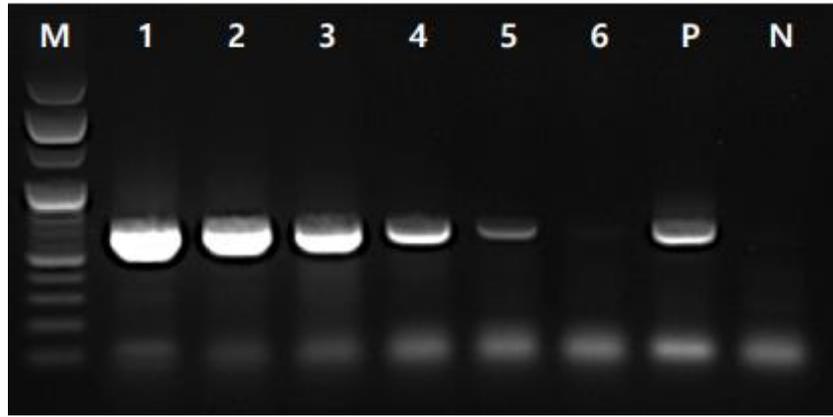
M	Marker
Lane 1	1ng
Lane 2	0.1ng
Lane 3	0.01ng
Lane 4	0.001ng
Lane 5	0.0001ng
Lane 6	0.00001ng
P	APLPV positive control
N	Negative (D.W.)

(3) ChiVMV(662bp)



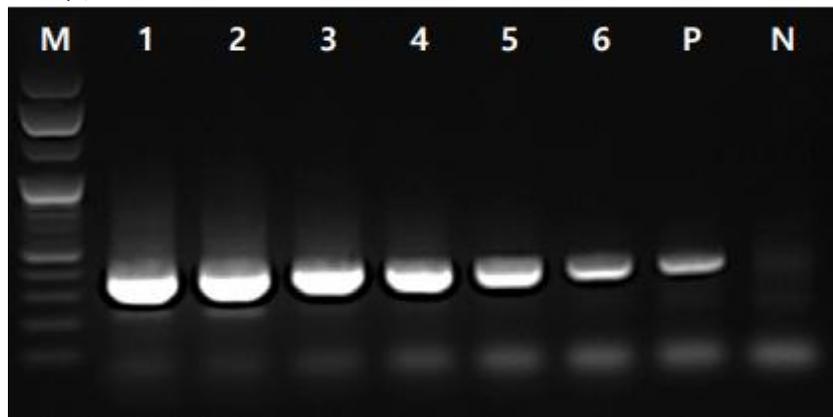
M	Marker
Lane 1	100ng
Lane 2	10ng
Lane 3	1ng
Lane 4	0.1ng
Lane 5	0.01ng
Lane 6	0.001ng
P	ChiVMV positive control
N	Negative (D.W.)

(4) PAMV(696bp)



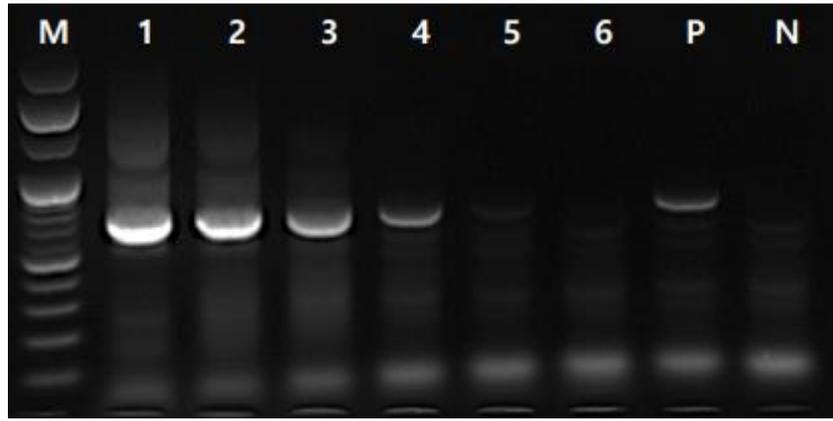
M	Marker
Lane 1	100ng
Lane 2	10ng
Lane 3	1ng
Lane 4	0.1ng
Lane 5	0.01ng
Lane 6	0.001ng
P	PAMV positive control
N	Negative (D.W.)

(5) RYMV(431bp)



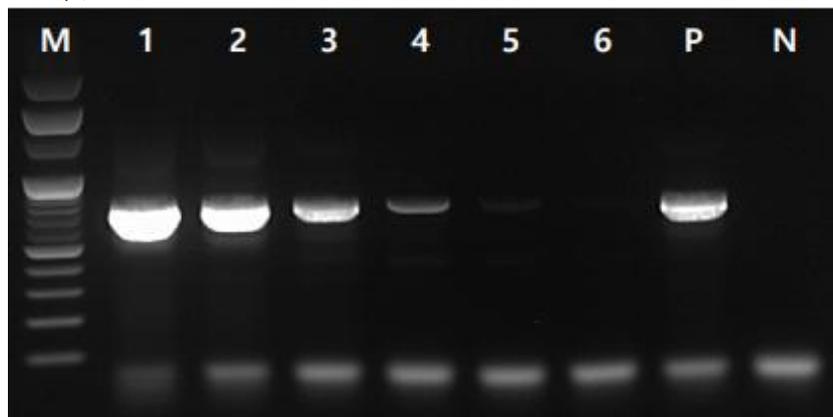
M	Marker
Lane 1	100ng
Lane 2	10ng
Lane 3	1ng
Lane 4	0.1ng
Lane 5	0.01ng
Lane 6	0.001ng
P	RYMV positive control
N	Negative (D.W.)

(6) TEV(738bp)



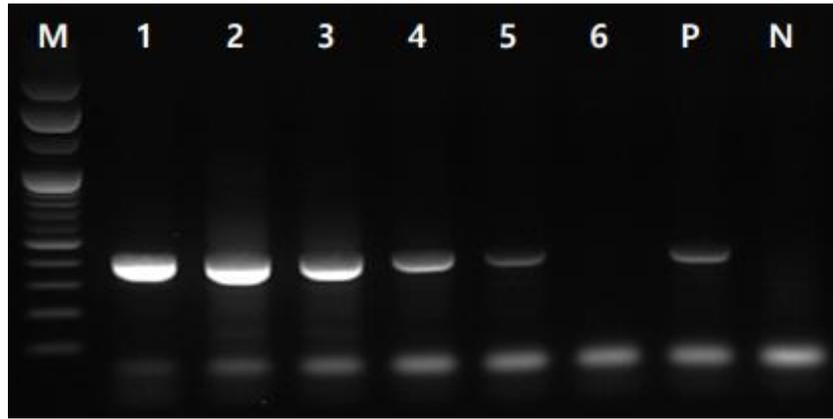
M	Marker
Lane 1	100ng
Lane 2	10ng
Lane 3	1ng
Lane 4	0.1ng
Lane 5	0.01ng
Lane 6	0.001ng
P	TEV positive control
N	Negative (D.W.)

(7) CERV(789bp)



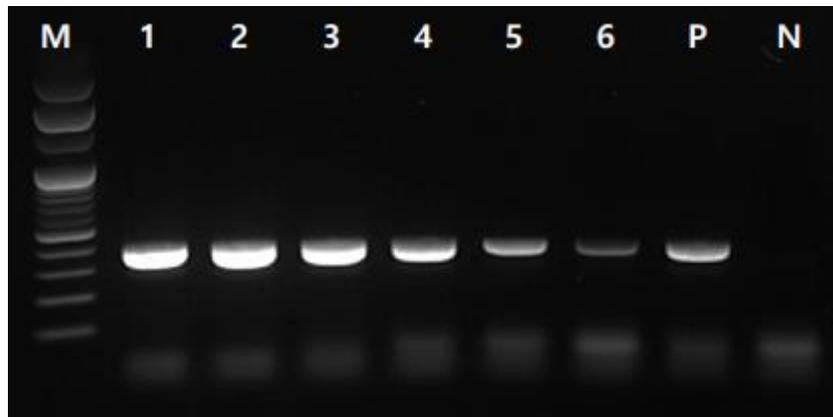
M	Marker
Lane 1	1ng
Lane 2	0.1ng
Lane 3	0.01ng
Lane 4	0.001ng
Lane 5	0.0001ng
Lane 6	0.00001ng
P	CERV positive control
N	Negative (D.W.)

(8) LBVaV(427bp)



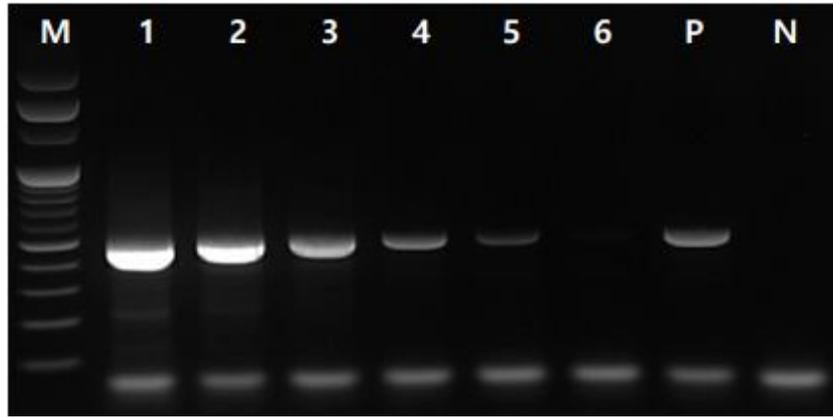
M	Marker
Lane 1	10ng
Lane 2	1ng
Lane 3	0.1ng
Lane 4	0.01ng
Lane 5	0.001ng
Lane 6	0.0001ng
P	LBVaV positive control
N	Negative (D.W.)

(9) MCMC(411bp)



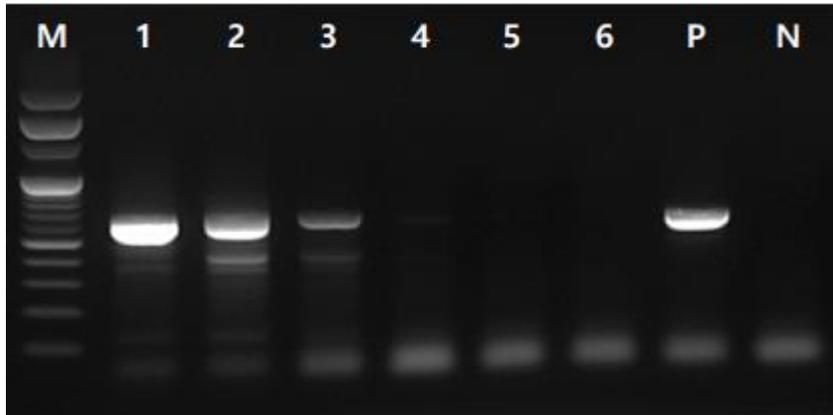
M	Marker
Lane 1	10ng
Lane 2	1ng
Lane 3	0.1ng
Lane 4	0.01ng
Lane 5	0.001ng
Lane 6	0.0001ng
P	MCMV positive control
N	Negative (D.W.)

(10) EMDV(521bp)



M	Marker
Lane 1	100ng
Lane 2	10ng
Lane 3	1ng
Lane 4	0.1ng
Lane 5	0.01ng
Lane 6	0.001ng
P	EMDV positive control
N	Negative (D.W.)

(11) PYDV(669bp)



M	Marker
Lane 1	10ng
Lane 2	1ng
Lane 3	0.1ng
Lane 4	0.01ng
Lane 5	0.001ng
Lane 6	0.0001ng
P	PYDV positive control
N	Negative (D.W.)

바. 시제품 제조(통상실시 계약 완료 6건 및 추진 4건)



AIMV-48



APLPV-48



ChiVMV-48



PAMV-48



RYMV-48



TEV-48



PYDV-48



LBVaV-48



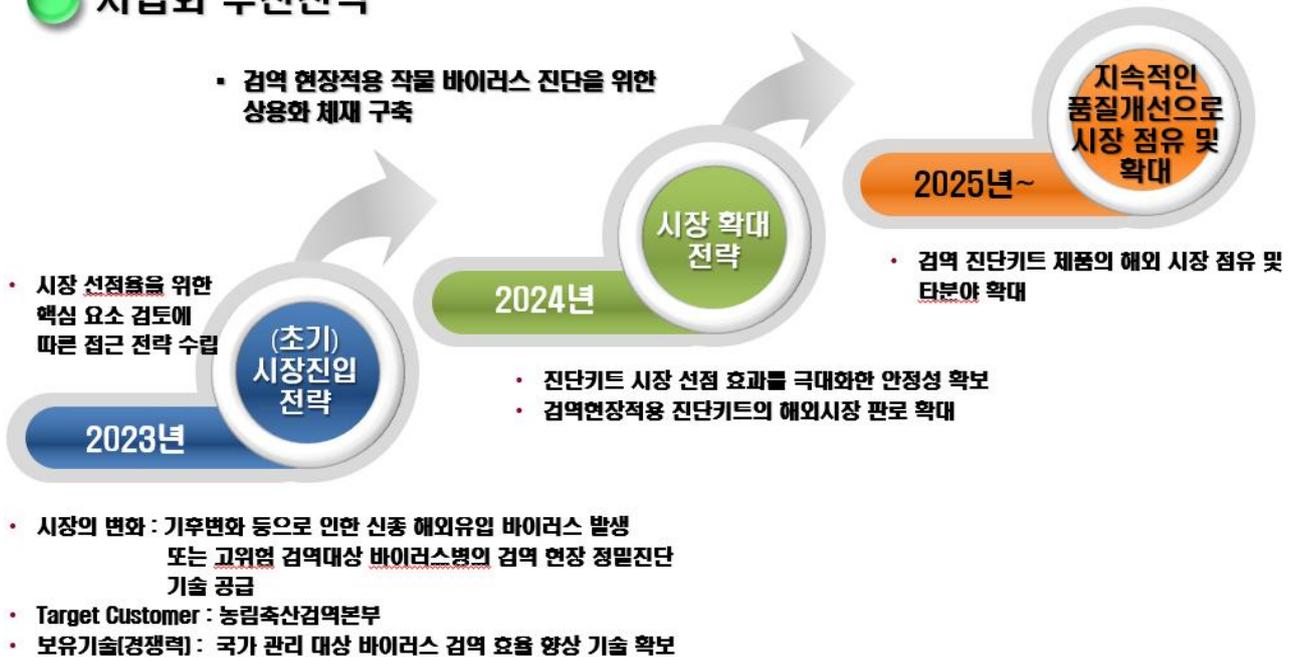
MCMV-48



EMDV-48

[향후 사업화 계획, 매출전망 등]

사업화 추진전략



3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

○ 주관연구기관(농림축산검역본부)

1. 식물검역 바이러스 16종에 대한 PCR 검사법 개발 완료

순번	대상 바이러스	선발된 검사법 개수	비고
1	Alstroemeria mosaic virus (AIMV)	5개	
2	American plum line pattern virus (APLPV)	2개	
3	Chilli veinal mottle virus (ChiVMV)	2개	
4	Tobacco etch virus (TEV)	2개	
5	Potato aucuba mosaic virus (PAMV)	3개	
6	Rice yellow mottle virus (RYMV)	3개	
7	Carnation etched ring virus (CERV)	8개	
8	Eggplant mottled dwarf virus (EMDV)	5개	
9	Potato yellow dwarf virus (PYDV)	3개	
10	Lettuce big-vein associated varicosavirus (LBVaV)	3개	
11	Maize chlorotic mottle virus (MCMV)	5개	
12	Abutilon mosaic virus (AbMV)	3개	
13	Fragaria chiloensis latent virus (FCILV)	5개	
14	Grapevine geminivirus (GGVA)	3개	
15	Grapevine berry inner necrosis virus (GINV)	2개	
16	Grapevine fabavirus (GFabV)	2개	

2. 해당 16종 PCR 검사법에 활용가능한 일명 '묶음형 양성대조군 클론' 개발 완료

○ 제1협동연구기관(서울여대산학협력단)

- 18종 검역대상 바이러스에 대한 정밀검사법에 사용될 수 있는 보완된 프라이머 개발 완료 --> 18종, 46세트 개발 완료
- 18종 검역대상 바이러스에 대한 표준양성시료 제작 완료
- 기주식물별 프라이머 적용한 PCR 검사법 개발 --> 최적의 Ta 온도 및 프라이머 농도 확보
- PCR 검사법에 주요 사용되는 중합효소를 대상으로 국내산과 외국산 효율성 비교분석 완료

○ 제2협동연구기관(철원플라즈마산업기술연구원)

1. 총 채집 아열대 작물 : 10종 (용과, 파파야, 바나나, 망고, 백향과, 구아바, 여주, 오크라, 삼채, 암빈)
2. 작물별 검출 바이러스

번호	아열대 작물	검출 바이러스	비고
1	용과	Cactus virus X	-
		Pitaya virus X	국내 첫보고
		Zygocactus virus X	국내 첫보고
2	파파야	Milk vetch dwarf virus	-
3	바나나	Cucumber mosaic virus	국내 첫보고
		Cactus virus X	국내 첫보고
		Schlumbergera virus X	-
4	구아바	없음	-
5	망고	없음	-
6	백향과	Cucumber mosaic virus	-
		Cucurbit aphid-borne yellows virus	-
		East Asian Passiflora virus	-
		Euphorbia leaf curl virus	-
		Papaya leaf curl Guandong virus	-
Passiflora latent virus	-		

7	여주	Beet western yellows virus	-
		Cucumber mosaic virus	-
		Cucurbit aphid-borne yellows virus	국내 첫보고
		Watermelon mosaic virus	-
		Zucchini yellow mosaic virus	-
8	오크라	없음	-
9	삼채	없음	-
10	얌빈	없음	-

- 국내 재배 10종 아열대 작물에 대한 유입우려 바이러스 관리방안 모색
- 작물별 국내 미보고 해외 유입우려 바이러스 검사법 개발
- 국내 바이러스 검출 지도 작성

- 제3협동연구기관(주셀세이프)
 - 현장진단에 적합한 PCR master mix 제조 및 키트화
 - 시제품 매뉴얼 제작 및 품질 평가(민감성, 특이성, 완건성)
 - 시제품 평가(검역본부)

(2) 정량적 연구개발성과(해당 시 작성하며, 연구개발과제의 특성에 따라 수정이 가능합니다)

- 특허
 - 출원: 알스트로에메리아 모자이크 바이러스를 특이적으로 검출하기 위한 프라이머 세트 및 용도 등 15건
 - 등록: 알스트로에메리아 모자이크 바이러스를 특이적으로 검출하기 위한 프라이머 세트 및 용도 등 10건
- 고용창출: 4건
- 논문
 - SCIE: First report of cucumber mosaic virus infecting bitter melon (*Momordica charantia*) in Korea 등 3건
 - 비SCIE: Development of an RT-PCR assay and its positive clone for plant quarantine inspection of American plum line pattern virus in Korea (KJOAS 49:821-831) 등 2건
- 학술발표
 - Development of an RT-PCR assay to detect Chilli veinal mottle virus for plant quarantine inspections in South Korea 등 12건
- 인력양성: 2건
- 정책활용
 - 정책건의: Alstroemeria mosaic virus (AIMV)의 PCR 검사법 실험실정밀검역 활용 건의 등 11건
 - 정책채택: Alstroemeria mosaic virus (AIMV)의 PCR 검사법 실험실정밀검역 활용 건의 등 11건
- 홍보: 지역 전문지 1건
- 수상: 지역 과학대상 1건

< 정량적 연구개발성과표 >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명	연도		1단계	2단계	종료 후	계	가중치 (%)
			(2020~2021)	(2022)			
전담기관 등록·기탁 지표 ¹⁾	논문 (SCIE)	목표(단계별)	1	2	1	4	-
		실적(누적)	0	3	0	3	
	논문 (비SCIE)	목표(단계별)	2	0	0	2	-
		실적(누적)	1	1	1	3	
	논문 (평균 IF)	목표(단계별)	0	1	0	1	10
		실적(누적)	0	2.643	0	2.643	
	특허(출원)	목표(단계별)	1	1	0	2	20
		실적(누적)	9	6	0	15	
	특허(등록)	목표(단계별)	0	0	2	2	0
		실적(누적)	7	3	0	10	
	학술발표	목표(단계별)	3	2	0	5	10
		실적(누적)	8	4	0	12	

연구개발과제 특성 반영 지표 ²⁾	기술실시	목표(단계별)	0	1	0	1	10
		실적(누적)	0	0	0	0	
	기술료	목표(단계별)	0	0	5백만원	5백만원	0
		실적(누적)	0	0	0	0	
	제품화	목표(단계별)	0	1	0	1	20
		실적(누적)	0	0	0	0	
	매출액	목표(단계별)	0	0	300백만원	300백만원	0
		실적(누적)	0	0	0	0	
	고용창출	목표(단계별)	2	0	0	2	20
		실적(누적)	2	2	0	4	
	인력양성	목표(단계별)	0	0	0	0	0
		실적(누적)	2	0	0	2	
	정책활용	목표(단계별)	0	3	0	3	10
		실적(누적)	12	10	0	22	
	홍보	목표(단계별)	0	0	0	0	0
		실적(누적)	1	0	0	1	
수상	목표(단계별)	0	0	0	0	0	
	실적(누적)	0	1	0	1		
계		목표(단계별)	9	10	3	22	-
		실적(누적)	42	30	0	72	

- * 1) 전담기관 등록·기탁 지표: 논문[에스시아이 Expanded(SCIE), 비SCIE, 평균Impact Factor(IF)], 특허, 보고서원문, 연구시설·장비, 기술요약정보, 저작권(소프트웨어, 서적 등), 생명자원(생명정보, 생물자원), 표준화(국내, 국제), 화합물, 신제품 등을 말하며, 논문, 학술발표, 특허의 경우 목표 대비 실적은 기재하지 않아도 됩니다.
- * 2) 연구개발과제 특성 반영 지표: 기술실시(이전), 기술료, 사업화(투자실적, 제품화, 매출액, 수출액, 고용창출, 고용효과, 투자유치), 비용 절감, 기술(제품)인증, 시제품 제작 및 인증, 신기술지정, 무역수지개선, 경제적 파급효과, 산업지원(기술지도), 교육지도, 인력양성(전문 연구인력, 산업연구인력, 졸업자수, 취업, 연수프로그램 등), 법령 반영, 정책활용, 설계 기준 반영, 타 연구개발사업에의 활용, 기술무역, 홍보(전시), 국제화 협력, 포상 및 수상, 기타 연구개발 활용 중 선택하여 기재합니다 (연구개발과제 특성별로 고유한 성과지표를 추가할 수 있습니다).

< 연구개발성과 성능지표(예시) >

평가 항목 (주요성능 ¹⁾)	단위	전체 항목에서 차지하는 비중 ²⁾ (%)	세계 최고		연구개발 전 국내 성능수준	연구개발 목표치		목표설정 근거
			보유국/보유기관	성능수준	성능수준	1단계 (YYYY~YYYY)	n단계 (YYYY~YYYY)	
1								
2								

- * 1) 정밀도, 인장강도, 내충격성, 작동전압, 응답시간 등 기술적 성능판단기준이 되는 것을 의미합니다.
- * 2) 비중은 각 구성성능 사양의 최종목표에 대한 상대적 중요도를 말하며 합계는 100%이어야 합니다.

(3) 세부 정량적 연구개발성과(해당되는 항목만 선택하여 작성하되, 증빙자료를 별도 첨부해야 합니다)

[과학적 성과]

□ 논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Development of an RT-PCR assay and its positive clone for plant quarantine inspection of American plum line pattern virus in Korea	Korean Journal of Agricultural Science	이다솜, 이정화, 이성진, 임승모, 전재용	제49권 4호	대한민국	충남대학교	비SCIE (KCI)	2022.12.01.	2466-2402	100
2	국내 유입 우려 Banana Mild Mosaic Virus 신속진단을 위한 RT-PCR 검출법 개발	Journal of Agrifultural, Life and Environmental Sciences	배미아, 박미리	제33권 3호	대한민국	강원대학교	비SCIE (KCI)	2021.12.31.	2233-8322	100

3	First report of cucumber mosaic virus infecting bitter melon (<i>Momordica charantia</i>) in Korea	Journal of Plant Pathology	배미아, 박미리	104:1151	이탈리아	Springer	SCIE	2022.05.13.	1125-4653	100
4	First report of cactus virus X infecting banana (<i>Musa spp.</i>) in Korea	Journal of Plant Pathology	배미아, 이효정, 정래동, 박미리	104:1137	이탈리아	Springer	SCIE	2022.06.23.	1125-4653	100
5	First report of pitaya virus X and zygocactus virus X infection of dragon fruit (<i>Selenicereus undatus</i>) in Korea	Journal of Plant Pathology	배미아, 박미리	104:1581	이탈리아	Springer	SCIE	2022.08.19.	1125-4653	100
6	Development of a Multiplex PCR for simultaneous detection of blueberry red ringspot and blueberry scorch virus including an internal control	식물병연구	이혜민, 송은경, 류기현	29:94~99	한국	한국식물병리학회	비SCI	2023.04.13.	1598-2262	95
7	First report of cucurbit aphid-borne yellows causing yellow spots in <i>Momordica charantia</i> in Korea	Journal of Plant Pathology	배미아, 박미리	105:347	이탈리아	Springer	SCIE	2022.11.10.	1125-4653	100

□ 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	2020년 한국식물병리학회 춘계학술발표회	이정화, 전재용, 임승모	2020.10.14.-16.	온라인	대한민국
2	2021년 한국식물병리학회 춘계학술발표회	류혜연, 이다솜, 이정화, 전재용, 임승모	2021.04.22.~23.	온라인	대한민국
3	2021년 한국식물병리학회 춘계학술발표회	류혜연, 이다솜, 이정화, 전재용, 임승모	2021.04.22.~23.	온라인	대한민국
4	2021년 한국식물병리학회 춘계학술발표회	이다솜, 이정화, 류혜연, 전재용, 임승모	2021.04.22.~23.	온라인	대한민국
5	2021년 한국식물병리학회 춘계학술발표회	이다솜, 이정화, 류혜연, 전재용, 임승모	2021.04.22.~23.	온라인	대한민국

6	2021년 한국식물병리학회 추계학술발표회	이다솜, 이정화, 류혜연, 전재용, 임승모	2021.04.22.~23.	온라인	대한민국
7	2022년 한국식물병리학회 추계학술발표회	이다솜, 이성진, 전재용, 임승모	2022.04.20.~22.	변산 소노벨	대한민국
8	2022년 한국식물병리학회 추계학술발표회	이다솜, 이성진, 전재용, 임승모	2022.10.18.~21.	순천대학교	대한민국
9	2021년 한국식물병리학회 추계학술발표회	오지은, 이혜민, 박지호, 방윤현, 송은경, 전재용, 류기현	2021.04.22.~23.	온라인	대한민국
10	2022년 한국식물병리학회 추계학술발표회	이혜민, 송은경, 류기현	2022.10.18.~21.	순천대학교	대한민국
11	2021년 한국식물병리학회 추계학술발표회	배미아, 김병연, 주상연, 김상우, 박미리	2021.11.10.~12.	온라인	대한민국
12	Plant Health 2022	배미아, 김상우, 주상연, 김병연, 박미리	2022.08.06.~10.	David L. Lawrence Convention Center (미국, 피츠버그)	미국

기술 요약 정보

연도	기술명	요약 내용	기술 완성도	등록 번호	활용 여부	미활용사유	연구개발기관 외 활용여부	허용방식

보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록 번호

생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

번호	생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물 명	등록/기탁 번호	등록/기탁 기관	발생 연도

[기술적 성과]

지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	알스트로메리아 모자이크 바이러스를 특이적으로 검출하기 위한 프라이머 세트 및 이의 용도	대한민국	대한민국 (농림축산 검역본부)	2021.03. .02.	10-2021- 002774 4	-	대한민국	2021.07. 14.	10-2279 779	100	활용
2	미국 플럼 라인 패턴 바이러스를 특이적으로 검출하기 위한 프라이머 세트 및 이의 용도	대한민국	대한민국 (농림축산 검역본부)	2021.03. .02.	10-2021- 002774 7	-	대한민국	2021.07. 14.	10-2279 783	100	활용
3	ChiVMV를 특이적으로 검출하기 위한 프라이머 세트 및 이의 용도	대한민국	대한민국 (농림축산 검역본부)	2021.03. .02.	10-2021- 002774 9	-	대한민국	2021.07. 14.	10-2279 787	100	활용
4	TEV를 특이적으로 검출하기 위한 프라이머 세트 및 이의 용도	대한민국	대한민국 (농림축산 검역본부)	2021.03. .02.	10-2021- 002775 0	-	대한민국	2021.07. 14.	10-2279 791	100	활용
5	감자 황반 모자이크 바이러스를 특이적으로 검출하기 위한 프라이머 세트 및 이의 용도	대한민국	대한민국 (농림축산 검역본부)	2021.03. .02.	10-2021- 002775 1	-	대한민국	2021.07. 14.	10-2279 794	100	활용
6	쌀 황반 바이러스를 특이적으로 검출하기 위한 프라이머 세트 및 이의 용도	대한민국	대한민국 (농림축산 검역본부)	2021.03. .02.	10-2021- 002775 3	-	대한민국	2021.07. 14.	10-2279 798	100	활용
7	EMDV를 특이적으로 검출하기 위한 프라이머 세트 및 이의 용도	대한민국	대한민국 (농림축산 검역본부)	2021.12. .08.	10-2021- 017455 2	-	대한민국	2022.06. 10.	10-2409 004	100	활용
8	LBVaV를 특이적으로 검출하기 위한 프라이머 세트 및 이의 용도	대한민국	대한민국 (농림축산 검역본부)	2022.02. .18.	10-2022- 002128 8	-	대한민국	2022.07. 12.	10-2421 257	100	활용

9	MCMV를 특이적으로 검출하기 위한 프라이머 세트 및 이의 용도	대한민국	대한민국 (농림축산검역본부)	2022.02.18.	10-2022-0021291	-	대한민국	2022.07.12.	10-2421259	100	활용
10	PYDV를 특이적으로 검출하기 위한 프라이머 세트 및 이의 용도	대한민국	대한민국 (농림축산검역본부)	2022.02.18.	10-2022-0021297	-	대한민국	2022.07.12.	10-2421262	100	활용
11	블루베리에 대한 병원성 바이러스 검출 마커 및 이를 이용한 검출 방법	대한민국	서울여대 산학협력단	2022.12.09.	10-2022-0171289	-				100	활용
12	파파야 모자이크 바이러스의 진단을 위한 검출 프라이머 세트 및 검출 방법	대한민국	철원플라즈마산업기술연구원	2021.06.17.	10-2021-0078633					100	활용
13	베고모바이러스의 진단을 위한 검출 프라이머 세트 및 검출 방법	대한민국	철원플라즈마산업기술연구원	2021.09.16.	10-2021-0123827	-				100	활용
14	RNA 바이러스 진단을 위한 검출 프라이머 세트 및 검출 방법	대한민국	철원플라즈마산업기술연구원	2021.09.16.	10-2021-0123837	-				100	활용
15	베고모바이러스속 (Begomovirus) 바이러스 검출용 프라이머 세트 및 이의 용도	대한민국	철원플라즈마산업기술연구원	2022.12.09.	10-2022-0171968	-				100	활용

○ 지식재산권 활용 유형

※ 활용의 경우 현재 활용 유형에 √ 표시, 미활용의 경우 향후 활용 예정 유형에 √ 표시합니다(최대 3개 중복선택 가능).

번호	제품화	방어	전용실시	통상실시	무상실시	매매/양도	상호실시	담보대출	투자	기타
1	√			√						
2	√			√						
3	√			√						
4	√			√						
5	√			√						
6	√			√						
7	√			√						
8	√			√						
9	√			√						
10	√			√						
11				√						
12			√			√				
13			√			√				
14			√			√				
15			√			√				

저작권(소프트웨어, 서적 등)

번호	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록 번호	저작권자명	기여율

신기술 지정

번호	명칭	출원일	고시일	보호 기간	지정 번호

기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		

표준화

○ 국내표준

번호	인증구분 ¹⁾	인증어부 ²⁾	표준명	표준인증기구명	제안주체	표준종류 ³⁾	제안/인증일자

* 1) 한국산업규격(KS) 표준, 단체규격 등에서 해당하는 사항을 기재합니다.

* 2) 제안 또는 인증 중 해당하는 사항을 기재합니다.

* 3) 신규 또는 개정 중 해당하는 사항을 기재합니다.

○ 국제 표준

번호	표준화단계구분 ¹⁾	표준명	표준기구명 ²⁾	표준분과명	의장단 활동여부	표준특허 추진여부	표준개발 방식 ³⁾	제안자	표준화 번호	제안일자

- * 1) 국제표준 단계 중 신규 작업항목 제안(NP), 국제표준초안(WD), 위원회안(CD), 국제표준안(DIS), 최종국제표준안(FDIS), 국제표준(IS) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 2) 국제표준화기구(ISO), 국제전기기술위원회(IEC), 공동기술위원회1(JTC1) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 3) 국제표준(IS), 기술시방서(TS), 기술보고서(TR), 공개활용규격(PAS), 기타 중 해당하는 사항을 기재합니다.

[경제적 성과]

시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)

기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황

- * 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

사업화 투자실적

번호	추가 연구개발 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자 자금 성격*

사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		

- * 1) 기술이전 또는 자기실시
- * 2) 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등
- * 3) 국내 또는 국외

매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
합계					

사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

성과					
사업화 계획	사업화 소요기간(년)				
	소요예산(천원)				
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
		국내 국외			
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획					
무역 수지 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후	
	수출				

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)			합계
			2020년	2021년	2022년	
1	작물바이러스 및 병해충 대응 산업화 기술개발사업	농림축산검역본부	1	0	0	1
2	작물바이러스 및 병해충 대응 산업화 기술개발사업	철원플라즈마산업기술연구원	1	0	0	1
3	작물바이러스 및 병해충 대응 산업화 기술개발사업	(주)셀세이프	0	0	2	2
합계			2	0	2	4

□ 고용 효과

구분		고용 효과(명)	
고용 효과	개발 전	연구인력	1
		생산인력	0
	개발 후	연구인력	2
		생산인력	1

□ 비용 절감(누적)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

□ 경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도							
기대 목표							

□ 산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원

□ 기술 무역

(단위: 천원)

번호	계약 연월	계약 기술명	계약 업체명	계약업체 국가	기 징수액	총 계약액	해당 연도 징수액	향후 예정액	수출/수입

[사회적 성과]

□ 법령 반영

번호	구분 (법률/시행령)	활용 구분 (제정/개정)	명칭	해당 조항	시행일	관리 부처	제정/개정 내용

□ 정책활용 내용

번호	구분 (제안/채택)	정책명	관련 기관 (담당 부서)	활용 연도	채택 내용
1	제안 및 채택	Alstroemeria mosaic virus (AIMV)의 PCR 검사법 실험실정밀검역 활용 건의	농림축산검역본부 (위험관리과)	2021	농림축산검역본부 예규 '실험실정밀검역 운영요령'에 검사 방법 채택
2	제안 및 채택	American plum line pattern virus (APLPV)의 PCR 검사법 실험실정밀검역 활용 건의	농림축산검역본부 (위험관리과)	2021	농림축산검역본부 예규 '실험실정밀검역 운영요령'에 검사 방법 채택
3	제안 및 채택	Chilli veinal mottle virus (ChiVMV)의 PCR 검사법 실험실정밀검역 활용 건의	농림축산검역본부 (위험관리과)	2021	농림축산검역본부 예규 '실험실정밀검역 운영요령'에 검사 방법 채택
4	제안 및 채택	Potato aucuba mosaic virus (PAMV)의 PCR 검사법 실험실정밀검역 활용 건의	농림축산검역본부 (위험관리과)	2021	농림축산검역본부 예규 '실험실정밀검역 운영요령'에 검사 방법 채택
5	제안 및 채택	Rice yellow mottle virus (RYMV)의 PCR 검사법 실험실정밀검역 활용 건의	농림축산검역본부 (위험관리과)	2021	농림축산검역본부 예규 '실험실정밀검역 운영요령'에 검사 방법 채택
6	제안 및 채택	Tobacco etch virus (TEV)의 PCR 검사법 실험실정밀검역 활용 건의	농림축산검역본부 (위험관리과)	2021	농림축산검역본부 예규 '실험실정밀검역 운영요령'에 검사 방법 채택
7	제안 및 채택	Carnation etched ring virus (CERV) 특이적인 PCR 검사법의 실험실정밀검역 활용 건의	농림축산검역본부 (위험관리과)	2022	농림축산검역본부 예규 '실험실정밀검역 운영요령'에 검사 방법 채택
8	제안 및 채택	Eggplant mottled dwarf virus (EMDV) 특이적인 PCR 검사법의 실험실정밀검역 활용 건의	농림축산검역본부 (위험관리과)	2022	농림축산검역본부 예규 '실험실정밀검역 운영요령'에 검사 방법 채택
9	제안 및 채택	Lettuce big-vein associated virus (LBVaV) 특이적인 PCR 검사법의 실험실정밀검역 활용 건의	농림축산검역본부 (위험관리과)	2022	농림축산검역본부 예규 '실험실정밀검역 운영요령'에 검사 방법 채택
10	제안 및 채택	Maize chlorotic mottle virus (MCMV) 특이적인 PCR 검사법의 실험실정밀검역 활용 건의	농림축산검역본부 (위험관리과)	2022	농림축산검역본부 예규 '실험실정밀검역 운영요령'에 검사 방법 채택
11	제안 및 채택	Potato yellow dwarf virus (PYDV) 특이적인 PCR 검사법의 실험실정밀검역 활용 건의	농림축산검역본부 (위험관리과)	2022	농림축산검역본부 예규 '실험실정밀검역 운영요령'에 검사 방법 채택

□ 설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

번호	구분 (설계 기준/설명서/지침/안내서)	활용 구분 (신규/개선)	설계 기준/설명서/지침/안내서 명칭	반영일	반영 내용

전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1		2021		2				2	2				

산업 기술 인력 양성

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기관	교육 개최 횟수	총 교육 시간	총 교육 인원

다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

국제화 협력성과

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일
1	언론매체	강원일보	철원플라즈마연 동식품부 신규 개발사업 선정	2020.05.19.

포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관
1	강원도지사표창	강원과학기술대상	강원도 과학기술 발전에 기여	박미리	2022.09.01.	(재)철원플라즈마 산업기술연구원

[인프라 성과]

연구시설·장비

구축기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	개발여부 (○/×)	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자 (YY.MM.DD)	구축비용 (천원)	비고 (설치 장소)

* 「과학기술기본법 시행령」 제42조제4항제2호에 따른 연구시설·장비 종합정보시스템을 의미합니다.

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

- 해당없음

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

- 특허: 출원 13건 및 등록 8건 초과 달성
- 고용창출: 2건 초과 달성
- 학술발표: 7건 초과 달성
- 인력양성: 2건 초과 달성
- 정책활용: 19건 초과 달성
- 홍보: 1건 초과 달성
- 수상: 1건 초과 달성

2) 목표 달성 수준

구분	추진 목표	달성 내용	달성도(%)
1차년도 (2020)	○ 주관연구기관(농림축산검역본부) - PCR 검사 미구축 식물검역바이러스 6종 검사법 개발 (추가 개발 내용)	- PCR 검사 미구축 식물검역바이러스 6종 검사법 개발 완료 - 식물검역바이러스 6종 해당 양성대조구 개발 완료	100 100
	○ 제1협동연구기관(서울여자대학교산학협력단) - 기존 검사법 (프라이머)에 대한 유전자 기반 적정성 검토	- 6종 바이러스 (APMoV, CSNV, INSV, IYSV, PMTV, TNV) 에 대한 최신 유전자 정보들을 기초하여 in silico 기반 분석을 통한 프라이머 적정성 분석 완료 --> 적정성 평가 결과는 미흡으로 분석되어 신규 프라이머 제작 필요	100 100
	- 기존 검사법 (프라이머)에 대한 검역대상 기주식물 검정 적정성 분석	- 기존 검사법 (프라이머) 적정성 평가 결과는 미흡으로 분석되어 기주식물 또한 신규 프라이머로 보완할 필요 - 신규 프라이머 기주식물 검정 분석	100
	- 기존 검사법 (프라이머)의 적정성 문제에 따른 개선 방안 연구	- 6종 바이러스에 대한 신규 프라이머 및 표준양성시료 제작 완료 - 기주식물별 프라이머 적용한 PCR 검사법 개발 --> 최적의 Ta 온도 및 프라이머 농도 확보	100
	○ 제2협동연구기관(철원플라즈마산업기술연구원)	- 전세계 아열대 작물별 바이러스병을 일으키는 바이러스 리스트 구축	100 100
	- 최근 수입된 아열대 작물의 유입우려 바이러스 발생조사	- 1차년도 대상작물(용과, 파파야, 바나나) 전국채집 및 작물별 바이러스 검정(NGS 분석 및 PCR 검정)	100
2차년도 (2021)	○ 주관연구기관(농림축산검역본부) - PCR 검사 미구축 식물검역바이러스 5종 검사법 개발 (추가 개발 내용)	- PCR 검사 미구축 식물검역바이러스 5종 검사법 개발 완료 - 식물검역바이러스 5종 해당 양성대조구 개발 완료	100 100
	○ 제1협동연구기관(서울여자대학교산학협력단) - 기존 검사법 (프라이머)에 대한 유전자 기반 적정성 검토	- 6종 바이러스 (PPV, BRRSV, BIScV, CNRMV, LChV-1, LChV-2) 에 대한 최신 유전자 정보들을 기초하여 in silico 기반 분석을 통한 프라이머 적정성 분석 완료 --> 적정성 평가 결과는 미흡으로 분석되어 신규 프라이머 제작 필요	100 100
	- 기존 검사법 (프라이머)에 대한 검역대상 기주식물 검정 적정성 분석	- 기존 검사법 (프라이머) 적정성 평가 결과는 미흡으로 분석되어 기주식물 또한 신규 프라이머로 보완할 필요 - 신규 프라이머 기주식물 검정 분석	100
	- 기존 검사법 (프라이머)의 적정성 문제에 따른 개선 방안 연구	- 6종 바이러스에 대한 신규 프라이머 및 표준양성시료 제작 완료 - 기주식물별 프라이머 적용한 PCR 검사법 개발하여 최적의 Ta 온도 및 프라이머 농도 확보 - 국내산과 외국산 중합효소 효율성 비교 분석하여 PCR 검사법의 주요 중합효소를 국내산 중합효소로 대체 사용 가능성을 제시	100
	○ 제2협동연구기관(철원플라즈마산업기술연구원)	- 1차년도 대상작물의 주요 유입우려 바이러스 선정 및 검출용 프라이머 구축	100 100
	- 최근 수입된 아열대 작물의 유입우려 바이러스 발생조사	- 2차년도 대상작물(구아바, 백향과, 망고, 여주) 전국채집 및 작물별 바이러스 검정	100

3차년도 (2022)	○ 주관연구기관(농림축산검역본부)		100
	- PCR 검사 미구축 식물검역바이러스 5종 검사법 개발 (추가 개발 내용)	- PCR 검사 미구축 식물검역바이러스 5종 검사법 개발 완료 - 식물검역바이러스 5종 해당 양성대조구 개발 완료	100
	○ 제1협동연구기관(서울여자대학교산학협력단)		100
	- 기존 검사법 (프라이머)에 대한 유전자 기반 적정성 검토	- 6종 바이러스 (BBrMV, BBTv, CNFV, CDV, CCMV, ToCV) 에 대한 최신 유전자 정보들을 기초하여 in silico 기반 분석을 통한 프라이머 적정성 분석 완료 → 적정성 평가 결과는 미흡으로 분석되어 신규 프라이머 제작 필요	100
	- 기존 검사법 (프라이머)에 대한 검역대상 기주식물 검정 적정성 분석 - 기존 검사법 (프라이머)의 적정성 문제에 따른 개선 방안 연구	- 기존 검사법 (프라이머) 적정성 평가 결과는 미흡으로 분석되어 기주식물 또한 신규 프라이머로 보완할 필요 - 신규 프라이머 기주식물 검정 분석 - 6종 바이러스에 대한 신규 프라이머 및 표준양성시료 제작 완료 - 기주식물별 프라이머 적용한 PCR 검사법 개발하여 최적의 Ta 온도 및 프라이머 농도 확보 - 국내산과 외국산 중합효소 효율성 비교 분석하여 PCR 검사법의 주요 중합효소를 국내산 중합효소로 대체 사용 가능성을 제시	100
○ 제2협동연구기관(철원플라즈마산업기술연구원)		100	
- 주요 유입우려 바이러스 검출용 프라이머 구축	- 2차년도 대상작물의 주요 유입우려 바이러스 선정 및 검출용 프라이머 구축	100	
- 최근 수입된 아열대 작물의 유입우려 바이러스 발생조사	- 3차년도 대상작물(오크라, 삼채, 양빈) 전국채집 및 작물별 바이러스 검정	100	
- 최근 수입된 아열대 작물의 유입우려 바이러스의 선정 및 진단법 확보	- 10종 아열대 작물의 연구에서 확인된 바이러스를 제외하여 주요 유입우려 바이러스를 선정 및 PCR 구축 완료	100	
○ 제3협동연구기관(㈜셀세이프)		100	
- 시제품 개발 및 제품 평가	- 시제품 11종 개발 완료	100	

4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성합니다)

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

- 해당없음

2) 자체 보완활동

- 해당없음

3) 연구개발 과정의 성실성

- 해당없음

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

- 기술적 측면
 - 국경검역 식물바이러스의 정밀검사 방법 확립
 - 정밀검사법이 미확보된 식물검역바이러스에 대한 PCR검사법 확보를 통해서 수입 종자 및 식물체를 통해 유입가능한 해외 바이러스 유입 차단
 - 국내 전국단위 식물검역바이러스 모니터링 및 관리방안에 활용 가능
 - 검역본부의 수입식물 병원체 검사체계에 대한 대외 신뢰도 강화
 - 경제적·산업적 측면
 - 신속하고 정확한 해외 바이러스 유입 차단에 의한 국내 생산 작물의 경쟁력 상승
 - 식물검역바이러스 관리체계의 세계적인 선진화로 국가위상 제고
 - 농산물 수출입관련 정책자료 활용
-

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

○ 연구개발성과의 활용

- 수입식물에 대한 검역바이러스 정밀진단법 확보
- 실험실정밀검역 운영요령(농림축산검역본부 예규) 반영
- 정밀진단법 미확보된 검역병원체 최적 진단조건 및 적용의 매뉴얼화
- 서울여대의 ‘기존 바이러스 검사법(18종)의 점검 결과 및 보완 개발된 검사법’은 검역본부에 활용할 수 있도록 담당 부서에 정책건의 추진
- 국내 전국단위 식물검역 바이러스 모니터링 및 관리방안에 활용
- 식물검역 바이러스 신규 검사법 상업화(키트화) 지속 추진 및 검역 정책 현장 안정적 적용을 위한 정도관리

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내				
		2023	2024	2025	2026	2027
국외논문	SCIE	1				
	비SCIE					
국내논문	SCIE					
	비SCIE					
특허출원	국내	2				
	국외					
특허등록	국내		4	2		
	국외					
인력양성	학사					
	석사					
	박사					
사업화	시제품개발					
	상품출시					
	기술이전	6	1			
	공정개발					
	매출액(단위 : 천원)					
	기술료(단위 : 천원)		5,000			
비임상시험 실시						
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상				
		2상				
		3상				
	의료기기					
진료지침개발						
신의료기술개발						
성과홍보						
포상 및 수상실적						
정성적 성과 주요 내용						

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1.	1) 자체평가의견서 2) 연구성과 활용계획서
2.	1) 2)

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 작물바이러스 및 병해충대응산업화기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 작물바이러스 및 병해충대응 산업화기술개발사업 사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.