

How to discriminate the aggregated stocks of migratory species according to their origins:

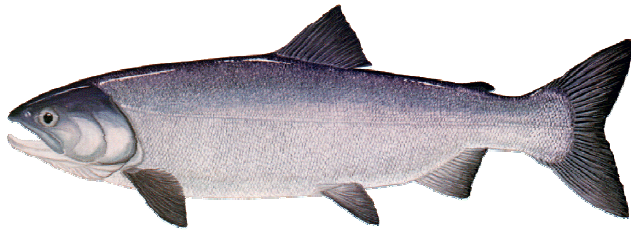
a simple and quick PCR method utilizing stock-specific
single nucleotide polymorphisms

**Youn-Ho Lee, Geoyoung Kang, Woongsic Chung, Ki-Baek
Seong, Suam Kim, Gisic Min**

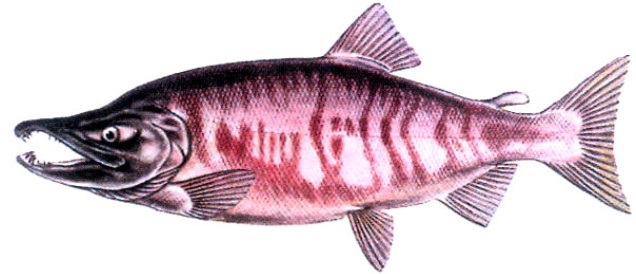
**Korea Ocean Research and Development Institute,
National Fisheries Research and Development Institute,
Pyukyong National University
Inha University**

The chum salmon (*Oncorhynchus keta*): an anadromous fish

(Ocean stage: ♀)

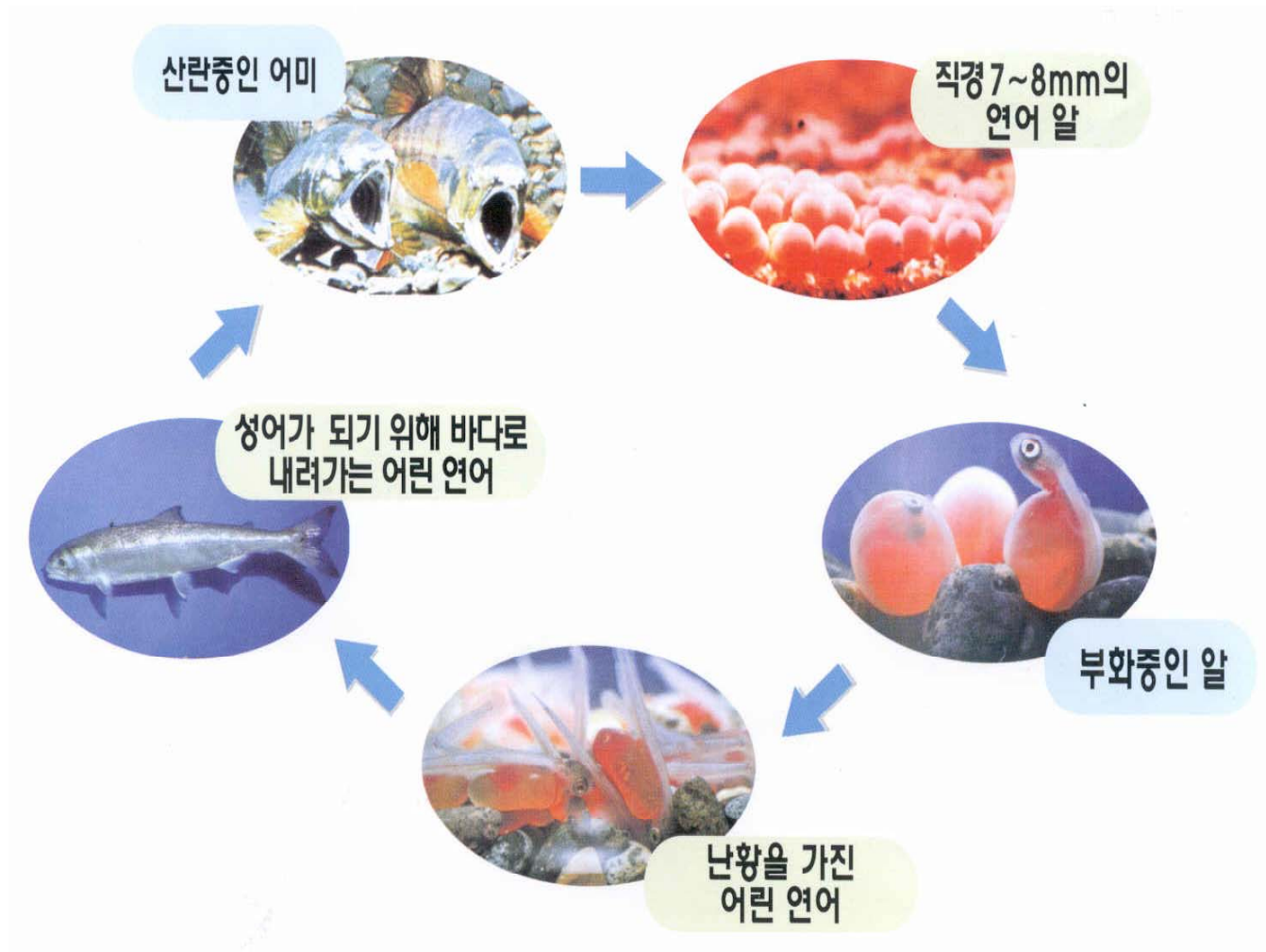


(Spawning stage: ♂)



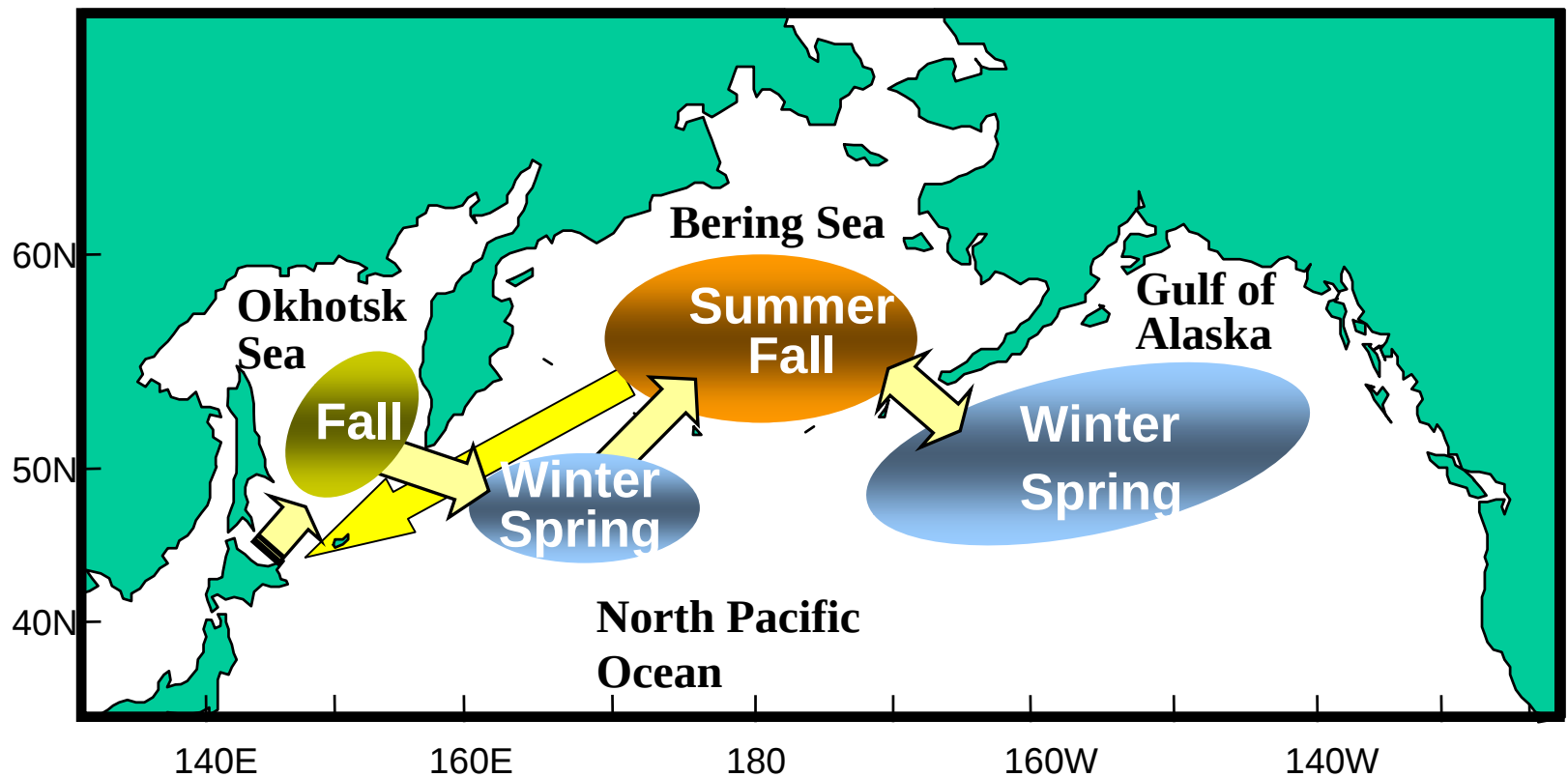
(length, 50 – 80 cm; weight, 2 – 5 kg)



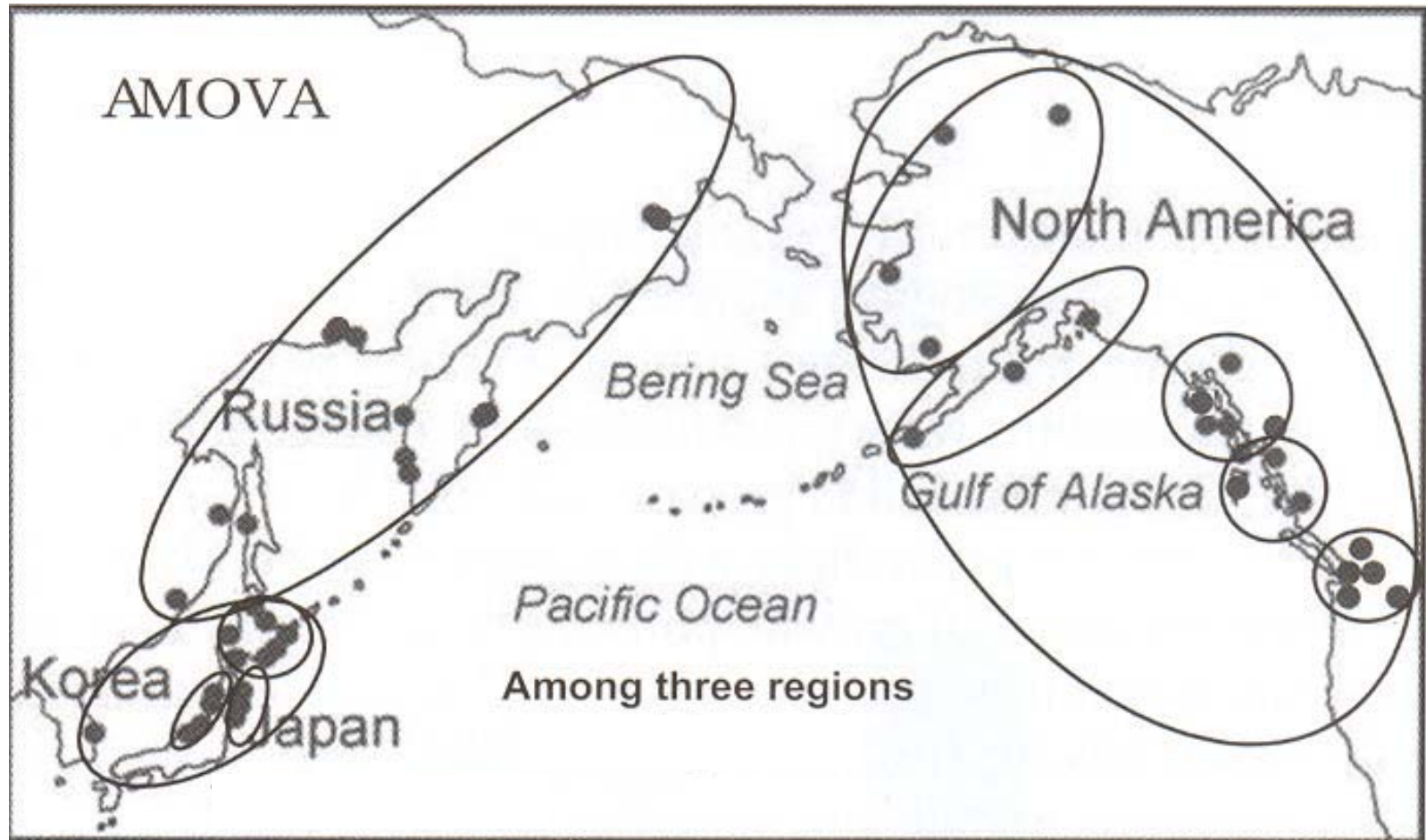


Artificial production of the chum salmon juveniles:
Korea, Japan, Canada, Russia, America

A migration model for Japanese hatchery chum salmon (Urawa, 2000)



Population structure of the chum salmon (Sato et al., 2003);
inferred from the mtDNA control region sequences



Needs:

For proper management and reasonable utilization of the chum salmon resources by each country,

- the distribution and the migration route of each stock need to be determined,**
- the methods identifying each stock separately need to be developed.**

Question:

How can we easily distinguish each chum salmon stock ?

Objectives:

- **to develop genetic markers
which is specific to each stock**
- **to develop an easy and simple method
that discriminates such stock-specific
genetic markers**

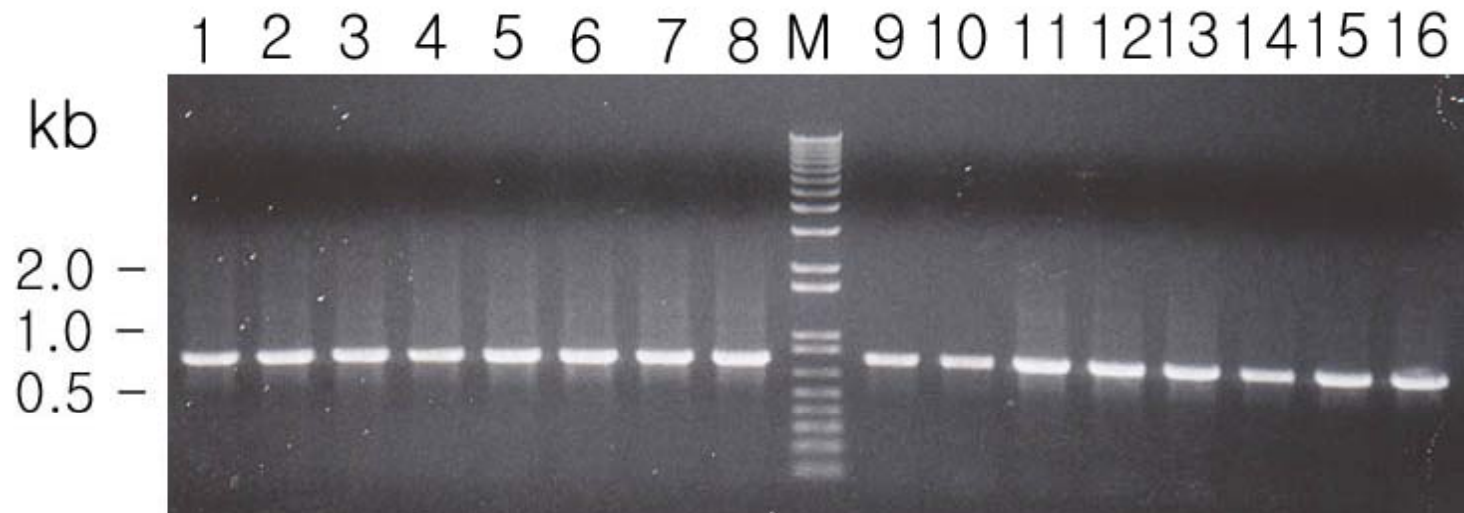
Methods:

1. Genetic marker: single nucleotide polymorphisms (SNPs) among stocks
 - target gene: COIII-ND3-ND4L (744bp) of mtDNA
 - samples:
 - Korea, 48 specimens (Yangyang, Uljin);**
 - Japan, 44 (Mashike, Hakodate);**
 - Canada, 29 (Victoria island, Fraser river);**
 - America, 20 (Quilcene);**
2. A PCR method using SNP-based, stock-specific primers

(Extracted genomic DNA)



(amplified DNA of the COIII-ND3-ND4L region by PCR)



>>> cloning & sequencing

RESULTS: (mtDNA ND3; SNPs)

		8	57	70	120	246	259	420-1	303	307	393	534	591
		TTC	CTT	TTG	GCT	CGG	AAT	GCC	TCA	CAT	GCG	TAA	AAT
KS	KS01												
	KS02, 05, 10, 11	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	(KS13, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 48)												
	KS03, 04, 07, 08	...	.C.	...	...	...	...	...	...	.C.	...	.G.	...
	(KS12, 22, 28, 33)												
	KS20, 31	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	KS26, 32, 34, 36	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS30	.C.	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
JS	KS35	.C.	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.
	KS06, 15, 47	...	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.
	JS01	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.	...
	JS02, 06, 08, 09	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	(JS10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44)												
	JS03	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.	.G.
	JS04	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...	...
	JS05, 25	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...
AS	JS07, 19, 20, 23	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	AS01	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
	AS02, 03, 04, 05,	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
	(AS06, 07, 09, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20)												
CS	AS08, 12, 13	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS01, 06, 11, 12	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	(CS13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29)												
	CS02, 03	...	.C.	.G.	.T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS05, 10, 14	...	.C.	.G.	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS04, 07	...	.C.	...	.T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS08, 09	...	.C.	...	...	...	.G.	.GT.	...	...	...	.G.	.G.
	CS22	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.

(mtDNA ND3; SNPs)

		8	57	70	120	246	259	420-1	303	307	393	534	591
KS	KS01	TTC	CTT	TTG	GCT	CGG	AAT	GCCT	TCA	CAT	GCG	TAA	AAT
	KS02, 05, 10, 11	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	(KS13, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 48)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS03, 04, 07, 08	...	.C.	...	...	...	...	...	...	.C.	...	.G.	...
	(KS12, 22, 28, 33)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS20, 31	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	KS26, 32, 34, 36	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS30	.C.	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
JS	KS35	.C.	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.
	KS06, 15, 47	...	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.
	JS01	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.	...
	JS02, 06, 08, 09	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	(JS10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	JS03	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.	.G.
	JS04	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...	...
	JS05, 25	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...
AS	JS07, 19, 20, 23	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	AS01	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
	AS02, 03, 04, 05,	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
	(AS06, 07, 09, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
CS	AS08, 12, 13	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS01, 06, 11, 12	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	(CS13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	CS02, 03	...	.C.	.G.	.T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS05, 10, 14	...	.C.	.G.	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS04, 07	...	.C.	...	.T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS08, 09	...	.C.	...	...	...	.G.	.GT.	...	...	...	.G.	.G.
	CS22	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.

(mtDNA ND3; SNPs)

		8	57	70	120	246	259	420-1	303	307	393	534	591
KS	KS01	TTC	CTT	TTG	GCT	CGG	AAT	GCCT	TCA	CAT	GCG	TAA	AAT
	KS02, 05, 10, 11	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	(KS13, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 48)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS03, 04, 07, 08	...	.C.	...	...	...	...	...	...	.C.	...	.G.	...
	(KS12, 22, 28, 33)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS20, 31	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	KS26, 32, 34, 36	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS30	.C.	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
JS	KS35	.C.	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.
	KS06, 15, 47	...	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.
	JS01	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.	...
	JS02, 06, 08, 09	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	(JS10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	JS03	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.	.G.
	JS04	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...	...
AS	JS05, 25	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...
	JS07, 19, 20, 23	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	AS01	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
	AS02, 03, 04, 05,	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
CS	(AS06, 07, 09, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	AS08, 12, 13	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS01, 06, 11, 12	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	(CS13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS02, 03	...	.C.	.G.	.T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS05, 10, 14	...	.C.	.G.	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS04, 07	...	.C.	...	.T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS08, 09	...	.C.	...	...	...	.G.	.GT.	...	...	...	.G.	.G.
	CS22	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.

(mtDNA ND3; SNPs)

		8	57	70	120	246	259	420-1	303	307	393	534	591
KS	KS01	TTC	CTT	TTG	GCT	CGG	AAT	GCC	TCA	CAT	GCG	TAA	AAT
	KS02, 05, 10, 11	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	(KS13, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 48)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS03, 04, 07, 08	...	.C.	...	...	...	...	...	...	.C.	...	.G.	...
	(KS12, 22, 28, 33)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS20, 31	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	KS26, 32, 34, 36	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS30	.C.	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
JS	KS35	.C.	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.
	KS06, 15, 47	...	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.
	JS01	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.	...
	JS02, 06, 08, 09	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	(JS10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	JS03	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.	.G.
	JS04	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...	...
	JS05, 25	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...
AS	JS07, 19, 20, 23	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	AS01	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
	AS02, 03, 04, 05,	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
	(AS06, 07, 09, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
CS	AS08, 12, 13	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS01, 06, 11, 12	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	(CS13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	CS02, 03	...	.C.	.G.	.T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS05, 10, 14	...	.C.	.G.	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS04, 07	...	.C.	...	.T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS08, 09	...	.C.	...	...	...	.G.	.GT.	...	...	...	.G.	.G.
	CS22	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.

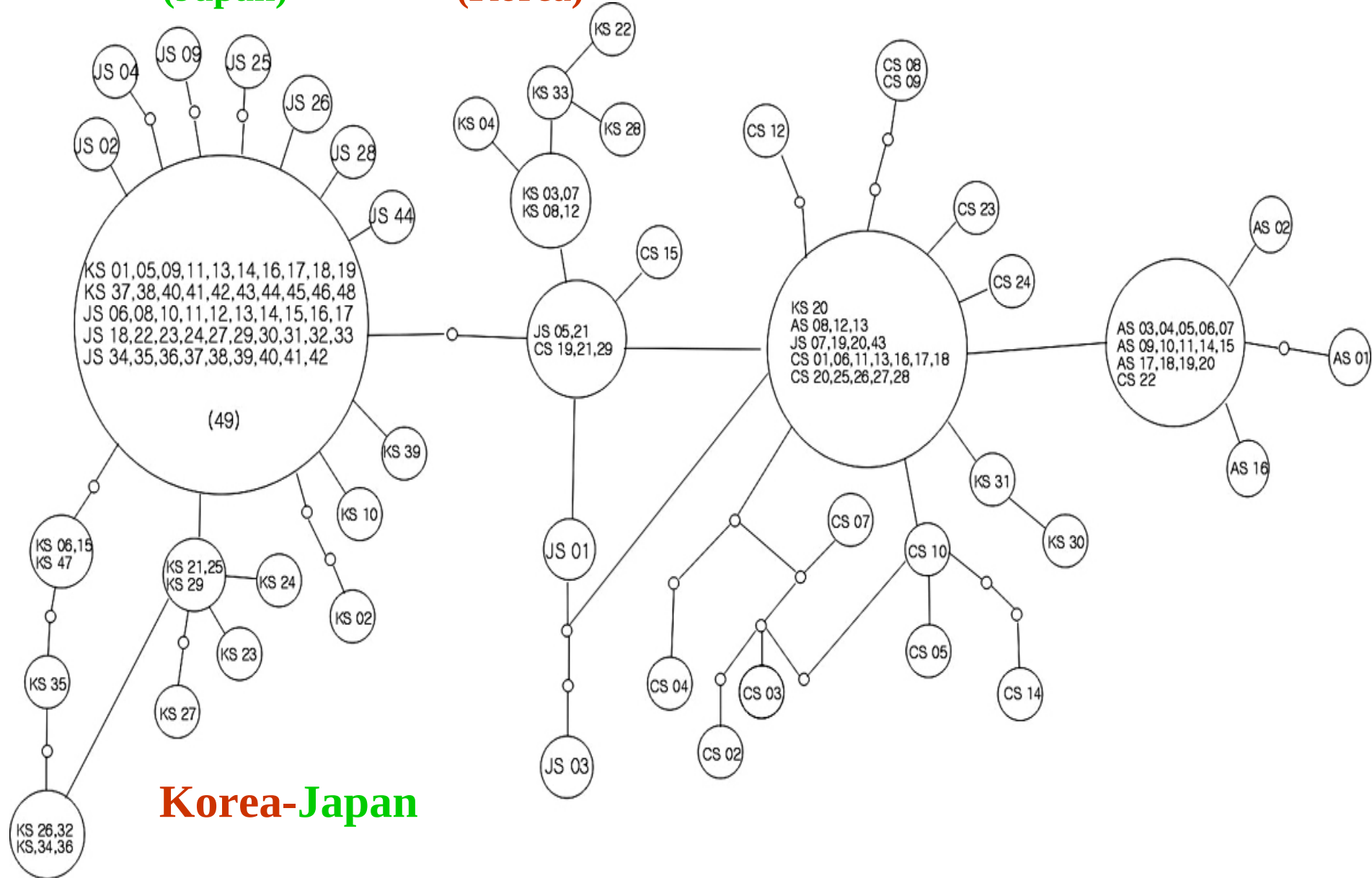
A parsimony network of haplotypes (TCS analysis)

(Japan)

(Korea)

Canada

America



(mtDNA ND3; SNPs)

KS

		8	57	70	120	246	259	420-1	303	307	393	534	591
	KS01	TTC	CTT	TTG	GCT	CGG	AAT	GCC	TCA	CAT	GCG	TAA	AAT
	KS02, 05, 10, 11	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	(KS13, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 48)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS03, 04, 07, 08	...	.C.	...	...	...	...	...	...	.C.	...	.G.	...
	(KS12, 22, 28, 33)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS20, 31	.C.	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	KS26, 32, 34, 36	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS30	.C.	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	KS35	.C.	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.
	KS06, 15, 47	...	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.

JS

	JS01	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.	...
	JS02, 06, 08, 09	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	(JS10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	JS03	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.	.G.
	JS04	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...	...
	JS05, 25	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...
	JS07, 19, 20, 23	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.

AS

	AS01	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
	AS02, 03, 04, 05,	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
	(AS06, 07, 09, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	AS08, 12, 13	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.

CS

	CS01, 06, 11, 12	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	(CS13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	CS02, 03	...	.C.	.G.	.T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS05, 10, 14	...	.C.	.G.	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS04, 07	...	.C.	...	.T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS08, 09	...	.C.	...	...	...	.G.	.GT.	...	...	...	.G.	.G.
	CS22	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.

(mtDNA ND3; SNPs)

		8	57	70	120	246	259	420-1	303	307	393	534	591
KS	KS01	TTC	CTT	TTG	GCT	CGG	AAT	GCC	TCA	CAT	GCG	TAA	AAT
	KS02, 05, 10, 11	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	(KS13, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 48)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS03, 04, 07, 08	...	.C.	...	...	...	...	...	...	.C.	...	.G.	...
	(KS12, 22, 28, 33)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS20, 31	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	KS26, 32, 34, 36	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS30	.C.	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
JS	KS35	.C.	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.
	KS06, 15, 47	...	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.
	JS01	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...	...
	JS02, 06, 08, 09	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...	...
	(JS10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...	...
	JS03	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.	.G.
	JS04	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...	...
	JS05, 25	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...
AS	JS07, 19, 20, 23	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	AS01	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
	AS02, 03, 04, 05,	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
	(AS06, 07, 09, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20)	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
CS	AS08, 12, 13	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS01, 06, 11, 12	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	(CS13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29)	...	.C.	.G.	.T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS02, 03	...	.C.	.G.	.T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS05, 10, 14	...	.C.	.G.	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS04, 07	...	.C.	...	.T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS08, 09	...	.C.	...	...	...	.G.	.GT.	...	...	...	.G.	.G.
	CS22	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.

(mtDNA ND3; SNPs)

KS

	8	57	70	120	246	259	420-1	303	307	393	534	591
KS01	TTC	CTT	TTG	GCT	CGG	AAT	GCC	TCA	CAT	GCG	TAA	AAT
KS02, 05, 10, 11	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
(KS13, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 48)												
KS03, 04, 07, 08	...	.C.	...	...	...	...	...	...	.C.	...	.G.	...
(KS12, 22, 28, 33)												
KS20, 31	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
KS26, 32, 34, 36	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
KS30	.C.	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
KS35	.C.	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.
KS06, 15, 47	...	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.

JS

JS01	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.	...
JS02, 06, 08, 09	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
(JS10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44)												
JS03	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.	.G.
JS04	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...	...
JS05, 25	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...
JS07, 19, 20, 23	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.

AS

AS01	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
AS02, 03, 04, 05,	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
(AS06, 07, 09, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20)												
AS08, 12, 13	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.

CS

CS01, 06, 11, 12	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
(CS13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29)												
CS02, 03	...	.C.	.G.	.T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
CS05, 10, 14	...	.C.	.G.	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
CS04, 07	...	.C.	...	.T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
CS08, 09	...	.C.	...	...	...	.G.	.GT.	...	...	...	.G.	.G.
CS22	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.

(mtDNA ND3; SNPs)

KS

		8	57	70	120	246	259	420-1	303	307	393	534	591
	KS01	TTC	CTT	TTG	GCT	CGG	AAT	GCC	TCA	CAT	GCG	TAA	AAT
	KS02, 05, 10, 11	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	(KS13, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 48)												
	KS03, 04, 07, 08	...	.C.	...	...	...	...	...	...	.C.	...	.G.	...
	(KS12, 22, 28, 33)												
	KS20, 31	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	KS26, 32, 34, 36	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	KS30	.C.	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	KS35	.C.	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.
	KS06, 15, 47	...	...	...	...	.A.	...	...	...	...	...	...	.G.

JS

	JS01	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.	...
	JS02, 06, 08, 09	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	(JS10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44)												
	JS03	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.	.G.
	JS04	...	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...	...
	JS05, 25	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	...
	JS07, 19, 20, 23	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.

AS

	AS01	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
	AS02, 03, 04, 05,	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.
	(AS06, 07, 09, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20)												
	AS08, 12, 13	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.

CS

	CS01, 06, 11, 12	...	.C.	...	...	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	(CS13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29)												
	CS02, 03	...	.C.	G.	T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS05, 10, 14	...	.C.	G.	T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS04, 07	...	.C.	...	T.	...	...	...	...	...	...	.G.	.G.
	CS08, 09	...	.C.	...	...	...	.G.	.GT.	...	...	...	.G.	.G.
	CS22	...	.C.	...	...	...	...	...	.T.	...	...	.G.	.G.

A PCR method utilizing the SNPs

SNP-based primer design:

e.g. SNP: - - - CTCTAC**C**TTT - - - (KS)
 - - - CTCTAC**T**TTT - - - (CS)

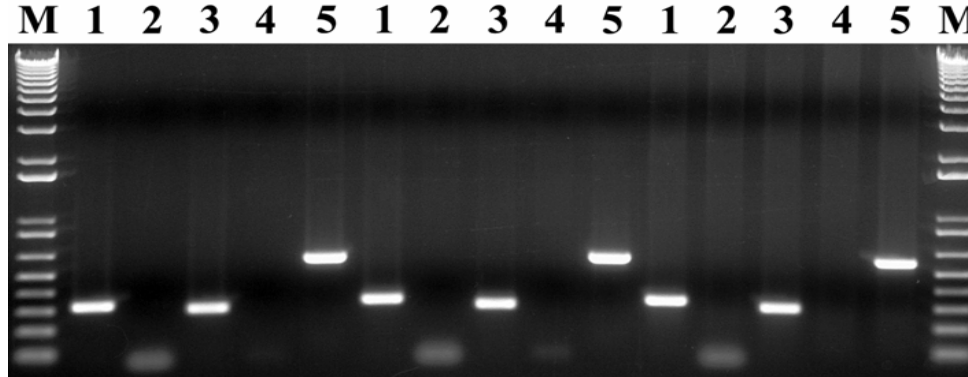
>> **KS-specific primer:** 5'- - - CTCTA**TC** 3'
 CS-specific primer: 5'- - - CTCTA**TT** 3'

Stock-specific primers for PCR amplification

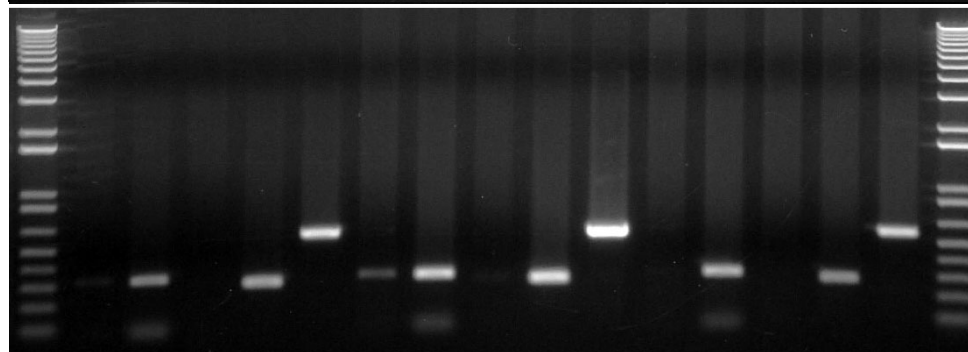
PCR primer sequences and primer pairs	3'-end/ PCR product size	Matching stocks
<i>Forward primers</i> SF0 (CTTTGTCGCCACAGGATTCCA) SF1 (CACGTAATCATCGGCTCTAAC) <i>Reverse primers</i> SR1 (TAGTACTGCGGACAATGTGCG) SR2 (ACTGCGGACAATGTGATGGAA) SR0 (CCTATTCGGCTCATTCCAAGC)	<i>3'end site</i> 29 (conserved) 57 (SNP) 307 (SNP) 303 (SNP) 605(conserved)	 all KS, AS, CS specific KS specific AS specific all
<i>PCR primer pairs</i> SF0 - SR1 SF0 - SR2 SF1 - SR1 SF1 - SR2 SF1 - SR0	<i>PCR product size</i> 320 bp 315 bp 295 bp 290 bp 590 bp	 KS specific AS specific KS specific AS specific KS, AS, CS specific

PCR of 3 replicates
(1-5 / 1-5 / 1-5)

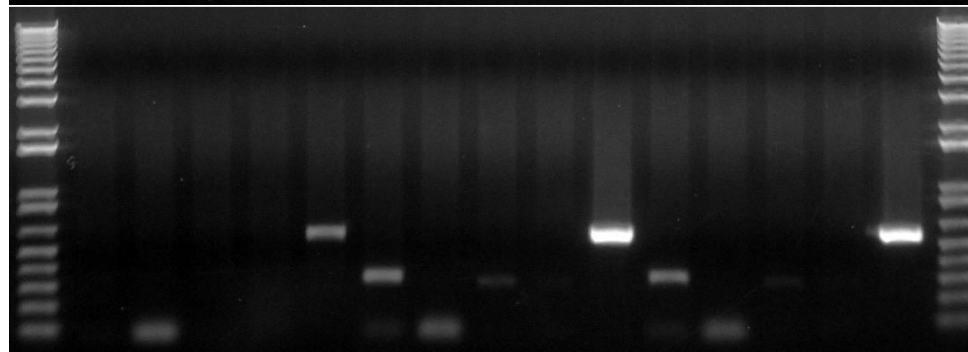
(annealing temp: 60 °C)



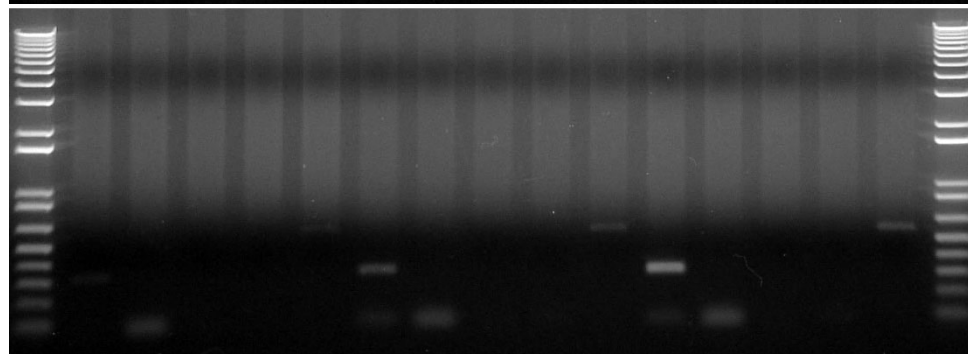
Korea
- specific
(lanes 1, 3, 5)



America
(lanes 2, 4, 5)



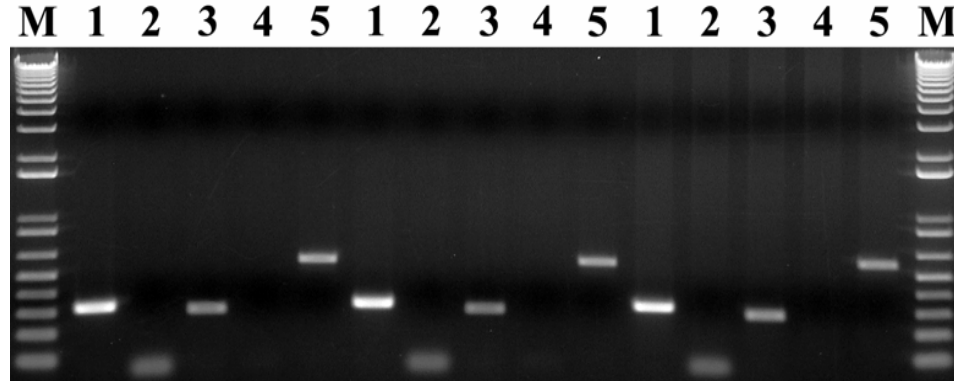
Canada
(lane 5)



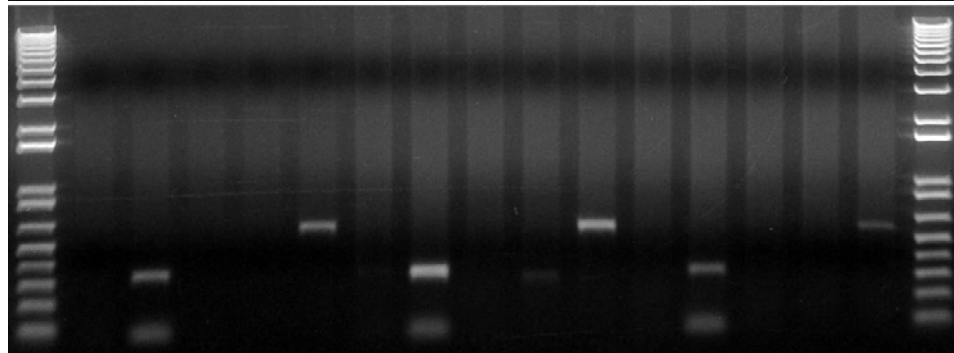
Korea
- Japan
(No lanes)

PCR of 3 replicates
(1-5 / 1-5 / 1-5)

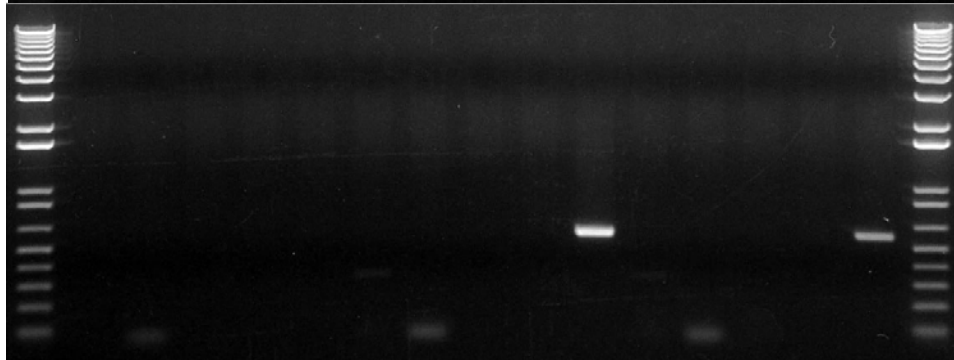
(annealing temp.: 63 °C)



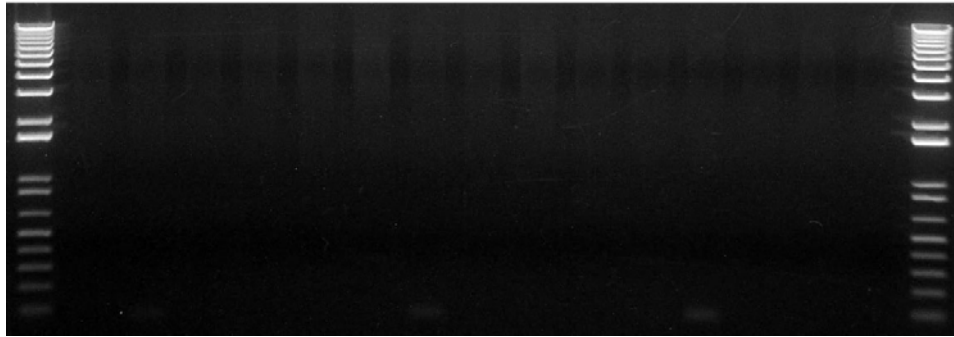
Korea
- specific
(lanes 1, 3, 5)



America
(lanes 2, 4, 5)



Canada
(lane 5)



Korea
- Japan
(No lanes)

Summary

- 1. The COIII-ND3-ND4L region sequences of the chum salmon mtDNA shows single nucleotide polymorphisms (SNPs), some of which are specific to each stock.**
- 2. An easy and simple PCR with primers designed specifically based on such SNPs amplifies DNA in a stock-specific manner.**
- 3. This method could be applicable to other organisms which aggregate in hot spots among different stocks during their migration.**

Acknowledgements

KORDI:

Mrs. S.-I. Yoon, J.-I. Kwak, M.-H. Song, H.-E. Park
Dr. D.-H. Kang

NFRDI:

Dr. S.-K. Kang

Scientists of USA, Canada, and Japan who sent us
the valuable samples

Thank you very much for
your attention