

GM 콩 DNA와 단백질의 안정성에 대한 열, 압력 및 산 처리의 영향

백인순 · 정순천 · 윤원기 · 박상규 · 육은수 · 김환목*

한국생명공학연구원 바이오평가센터 LMO평가연구실

Effect of Heat, Pressure, and Acid Treatments on DNA and Protein Stability in GM Soybean

In-Soon Pack, Soon-Chun Jeong, Won-Kee Yoon, Sangkyu Park,
Eun-Soo Youk, and Hwan-Mook Kim*

LMO Evaluation Laboratory, Bio-Evaluation Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology

Debates on safety of genetically modified (GM) crops have led to mandatory-labeling legislation of GM foods in many countries including Korea. Effects of heat, pressure, and acid treatments on degradation of DNAs or proteins in GM soybean at levels below detection limits of qualitative PCR and lateral flow strip test (LFST) methods were examined. Results showed that genomic DNAs and proteins were degraded into fragment sizes no longer possible for detection of inserted gene depending on thermal, or thermal and pressure treatment period. Detectability of LFST for toasted meal increased in weakly treated soybean. DNA and protein detection methods were barely effective for detection of GM ingredient after 121°C and 1.5 atmospheric treatment for 20 min. These results will be useful in determining GM labeling requirements of processed foods.

Key words: genetically modified soybean, DNA detection, protein detection, processed food

서 론

전통적인 육종의 한계를 극복하여 새로운 유용한 형질을 인위적으로 작물에 결합한 유전자변형(genetically modified, GM) 작물은 인구 증가에 따른 식생활 문제의 해결을 위한 대안을 제공할 것으로 간주되고 있다. GM 작물은 또한 전통적으로 지속적인 경지 면적의 축소에 대응하여 식량증산에 이용되어온 화학비료와 농약의 사용을 감소시킬 것으로 생각되고 있다. 지난 10여년 동안 GM 작물의 재배는 꾸준히 증가하여 주요 식량 수출국인 미국과 캐나다를 중심으로 재배되는 콩, 옥수수, 캐놀라의 50% 이상이 GM 작물이다(1,2). 특히 GM 콩의 재배 면적은 2003년 전체 GM 작물 재배면적의 61% 정도를 차지하였다(3). 현재 가장 널리 재배되는 GM 작물은 내병성, 내충성, 제초제저항성 등의 노동력 절감이나 다수확을 위한 특징을 주로 갖고 있으나, 최근에는 비타민A 보강 황금쌀(4)과 같은 의약 및 건강 보조 기능성을 갖는 GM 작물의 개발이 활발히 이루어지고 있다. GM 작물은 가축의 사료로 사용될 뿐만 아니라, 가공식품에 사용되어 광범위하게 소비되어지고 있다. 하지

만, 이들 GM 작물의 광범위한 재배 및 소비는 동시에 이들 작물의 잠재적인 환경 및 인체 위해성에 대한 논란을 주요 식량 수입국을 중심으로 유발시키고 있다. 소비자의 알권리를 보장하는 차원에서 유럽연합국은 0.9% 이상의 GM 작물을 포함하는 식품의 표시를 의무화하였고(5), 노르웨이와 스위스는 각각 2%와 1% 이상에 대해 표시를 의무화하였다(6,7). 우리나라도 2000년부터 비의도적 GM 작물의 혼입이 3% 이상인 경우에 표시를 의무화하였고(8), 2001년 GM-작물을 사용한 가공식품의 잠재적 위해성에 대응하기 위하여 식품의약품안전청 고시로 콩, 된장, 고추장, 옥수수가루 등을 대상으로 그 원료에 GM 콩, 옥수수, 감자가 들어간 경우 유전자재조합 유무를 제품용기나 포장에 표기하도록 하고 있다(9).

유전자재조합 농작물의 혼입을 판별하기 위해 널리 사용되는 방법은 단백질 검출법과 DNA 검출법으로 나눌 수 있다. 단백질 검출법은 도입된 유전자에 의해 발현된 단백질에 대한 항체를 이용하는 방법으로써 western blotting, enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA), immunochromatographic assay의 일종인 lateral flow strip test(LFST) 등이 있다. LFST는 정량이 불가능 하지만, 사용이 간편하여 현장에서 빠르게 GM-곡물의 혼입유무를 판별할 수 있다는 장점이 있기 때문에, 다수의 시료를 분석하는데 유리하다. DNA 검출법은 도입유전자의 발현을 위한 유전자조절부위인 Cauliflower mosaic virus의 35S promoter나 *Agrobacterium tumefaciens*의 nopaline 유전자의 NOS terminator와 같은 널리 사용되는 promoter나 terminator 또는 도입유전자를 PCR 증폭시켜 확인하므로 단백질 검출법에 비하

*Corresponding author: Hwan-Mook Kim, LMO Evaluation Laboratory, Bio-Evaluation Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, #52 Oun-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-806, Korea
Tel: 82-42-860-4660
Fax: 82-42-860-4605
E-mail: hwanmook@kribb.re.kr

여 민감도와 특이성이 높다. Quantitative competitive-PCR(QC-PCR)이나 real-time PCR 방법을 사용하면 정량까지 가능하다.

GM 작물 검출 분석을 위한 시료로 곡물을 사용하는 경우에는 위에서 언급한 모든 다양한 방법들을 적용 할 수 있지만, 가공식품의 경우에는 많은 기술적인 문제점이 도출될 수 있다. 즉, 가공 공정이 유전자재조합 DNA와 단백질을 분해하거나 분리하는 경우에는 검출이 어려운 경우가 콩기름과 열처리된 Bt 옥수수에서 보고된 바 있고(10,11), 우리나라에서도 식품의약품 안전청은 최종 제품에 DNA나 외래 단백질이 남아 있지 않는 간장, 식용유, 포도당 등은 표시를 면제하여 주고 있다(12). 또한, GM 곡물 혼입의 표시제는 정성 검출이 양성이면 정량검출을 통하여 정확히 몇 %의 GM 곡물이 혼입되어 있는지를 확인하는 과정을 거치기 때문에 올바른 정성 검출법의 확립은 필수적이다. 따라서 저자 등(13)은 최근에 시판되는 GM 작물 정성 검출용 PCR kit의 성능을 평가한 연구를 발표한 바 있다. 본 연구는 식품의 생산에 빈번히 사용되는 열처리, 열과 압력의 동시 처리, 및 산처리를 2003년 현재 가장 많이 재배되는 GM 작물이고 우리의 전통식품의 원료로 사용되는 GM 콩에 선택 적용하여 민감하며 우수하고 가장 활용범위가 넓은 정성 PCR 법과 손쉽게 사용할 수 있는 LFST 법이 실제 적용이 가능한가를 확인하고자 하였다. 그 결과 가공조건 중 160°C 이상의 고온의 열처리 또는 열과 압력 동시 처리 공정이 있는 가공식품은 정성 PCR 검출법이나 LFST 검출법을 통한 검출력을 현저히 저하시키거나 검출이 되지 않음을 확인하였다. 이는 처리과정이 DNA를 비선별적으로 파괴하여 표적 DNA가 작은 크기로 파괴되기 때문임을 확인하였다. 또한, 가공식품용 LFST의 경우에는 어느 수준까지의 가공처리에서는 검출 감도가 증가하는 사실을 관찰하였다.

재료 및 방법

시료

유전자변형 콩 HS2906은 Growmark사(Bloomington, IL, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 음성대조군으로는 non-GM 콩인 Williams82 품종을 사용하였다. HS2906은 미국 Monsanto사에서 개발한 GM 콩 event인 Roundup Ready™ Soybean (RRS)에서 유래한 품종으로 도입유전자는 *Agrobacterium tumefaciens* CP-4로부터 유래된 제초제 저항성 유전자 3-enolpyruvylshikimate-5-phosphate-synthase(EPSPS)가 Cauliflower mosaic virus(CaMV)의 35S promoter와 *Agrobacterium tumefaciens*의 nopaline synthase(NOS) 유전자의 terminator에 의해 발현되도록 도입되어 있다(Fig. 1).

시료에 물리·화학적 가공효과 처리

먼저 물리적인 가공효과 중 열에 의한 가공효과를 보기 위하여 온도별로는 100%(w/v) GM 콩과 3%(w/v) GM 콩(Non-GM 콩 : GM 콩 = 97% : 3%) 혼합물 10g을 120, 140, 160, 180°C에서 1시간 동안 dry oven을 이용하여 baking하였고, 시간별로는 160°C에서 0.5, 1, 1.5 및 2시간 동안 baking하였다. 열과 압력에 의한 가공효과는 고압멸균기를 이용하여 120°C, 1.5기압에서 10분과 20분 동안 처리하였다. 열 및 열과 압력을 동시에 처리한 시료들은 Variable Speed Rotor Mill (Fritsch, Kastl/Utzenhofen, Germany)에서 분쇄한 후 0.5 mm sieve를 통과한 콩가루를 DNA 추출을 위한 시료로 사용하였다.

화학적인 가공효과를 위한 처리는 Variable Speed Rotor Mill

Fig. 1. Schematic diagram of amplified genomic region for HS2906 soybean and limit of PCR detection using the designed primer pair.

(A) Part of the transgenic genomic region of HS2906 and positions of primers used for detection in the present study. CaMV 35S: cauliflower mosaic virus 35S promoter, CTP: Chloroplast transit peptide leader sequence, CP4-EPSPS: 5-Enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase gene from *Agrobacterium tumefaciens* strain CP4, NOS, nopaline synthase terminator. (B) Limit of detection of Roundup Ready soybean (RRS) in genomic DNAs from RRS certified reference materials obtained from Institute for Reference Materials and Methods (Geel, Belgium). DNA ladder is indicated by SM and negative control by -. Percent RRS ingredients ranging from 0% to 5% are indicated at top of each lane.

(Fritsch)에서 분쇄한 후 0.5 mm sieve를 통과한 콩가루를 pH 2에서 pH 8까지의 sodium citrate 완충용액을 사용하여 1시간 처리한 후 중성 pH의 완충용액으로 세척하여 DNA 추출을 위한 시료로 사용하였다.

시료로부터 DNA 추출

여러 가지 가공효과 조건에 따라서 100% GM 콩과 3% GM 콩 혼합물 10g을 처리한 후 분쇄된 콩가루와 Institute for Reference Materials and Methods(IRMM)(Geel, Belgium)에서 제작한 RRS의 certified reference materials(CRM) 각각 100 mg을 이용하여 DNA를 추출하였다. PCR을 위한 DNA 추출은 DNeasy plant mini prep™ system(Qiagen사, Valencia, 미국)을 이용하여 제작사의 방법에 따라서 DNA를 추출하였다. Genomic DNA(gDNA) 상태의 확인은 파괴된 DNA 절편들을 회수하기 위하여 size exclusion 단계가 없이 전통적으로 널리 사용되는 Saghai Maroof 등(14)의 CTAB(cetyltrimethylammonium bromide) 방법을 사용하였고, 최종적으로 DNA pellet은 증류수에 녹여 RNase를 처리하였다.

GMO 검출을 위한 qualitative PCR 수행 조건

PCR 반응액은 10 ng/μL의 주형 DNA 10 μL, 10 pmol/μL의 upper 및 lower primer(35S promoter; upper, 5'-ACG AGG AGC ATC GTG GAA A-3', lower, 5'-TCT CTC CAA ATG AAA TGA ACT TCC TTA T-3': lectin; upper, 5'-TCT TGG GAT TTG GCC AAC AAT A-3', lower, 5'-TTA GAT GGC CTC ATG CAA CAC-3') 각각 2 μL, 10X 반응완충액(Bioneer사) 2 μL, 10 mM dNTPs(Bioneer사) 0.4 μL, 5 U/μL의 Taq

DNA polymerase(Bioneer사) 0.2 μ L, 그리고 증류수 3.4 μ L를 혼합하여 총 20 μ L를 만들었고, HyBaid PCR machine(Bio-Rad사, Hercules, USA)을 이용하여 PCR을 하였다. PCR 반응 조건은 95°C에서 1분간 gDNA를 denaturation시키고 94°C에서 30초, 58°C에서 30초, 72°C에서 30초를 35 cycles 실시한 후 72°C에서 5분간 더 extension하였다. PCR 반응물들은 2% agarose gel 상에서 전기영동하여 분리한 후 ethidium bromide 희석용액에서 20분간 염색하여 자외선조사로 확인하였다.

단백질 검출법

여러 가지 가공효과 조건에 따라서 100% GM 콩과 3% GM 콩 혼합물 10 g을 처리한 후 분쇄된 시료를 준비하여 LFST kit인 RRS 원료를 위한 Trait RUR Bulk Soybean 5-minute Test Kit(Strategic Diagnostics Inc., Newark, USA)와 변성된 단백질의 검출을 위해 제작된 Trait RUR Toasted Meal Test Kit(Strategic Diagnostics Inc.)를 이용하여 단백질 기초 RRS 콩 검출을 제작사가 제시하는 방법에 따라 수행하였다.

결 과

가공효과가 PCR을 이용한 DNA 검출법에 미치는 영향

본 연구에 사용한 genomic DNA의 추출 및 정성 PCR 검출법은 식품의약품안전청에서 고시한 유전자재조합식품검사지침에 바탕하여 본 연구실에서 보유한 재료 및 기기에 적합하게 최적화한 방법이다(15). 본 최적화된 방법이 본 연구에서 채택한 100% RRS 콩과 우리나라의 GM 혼합물 표시 기준인 3% RRS 혼합물을 검출할 수 있는지를 확인하기 위하여, IRMM에서 제작한 CRM을 구입하여 검출한계를 측정해 본 결과는 본 연구에서 사용한 정성 PCR법은 0.5% RRS 혼합물까지는 명백히 검출할 수 있는 것으로 판명되었다(Fig. 1). 시료 분석에 들어가는 비용은 DNA 추출 kit을 사용시 건당 4,000원 정도이고 분석 시간은 2시간반 정도 소요되었다. 열을 단독 처리한 경우 100% GM 콩의 경우는 140°C 이하에서 1시간 동안 가열한 경우는 검출능력의 변화가 없었으나, 160°C 이상에서 가열한 경우 검출이 현저하게 감소하였다. 3% GM 콩의 경우는 120°C 이상에서 1시간 동안 가열한 경우 검출이 감소하기 시작하여 160°C 이상에서는 검출이 되지 않았다(Fig. 2-A). 100% GM 콩을 160°C에서 30, 60, 90, 120분 동안 열처리한 결과를 보면 30분부터 PCR을 통한 검출능력이 감소하기 시작하며 90분 이상에서는 검출하려는 band가 아예 나타나지 않았다(Fig. 2-B). 그림 2의 A와 B를 종합하여 보면 160°C, 60분 이상의 열처리 가공과정을 거친 GM 콩의 DNA는 PCR 방법으로 검출이 적용되지 않음을 제시하였다.

열과 압력을 동시에 처리한 경우 100% GM 콩의 경우는 10분에 검출 능력이 급격히 감소하였고(Fig. 2-C), 20분에는 검출이 불가능하였다(자료제시 없음). 3% GM 콩의 경우는 10분 처리하여도 검출이 불가능하였다(Fig. 2-C). 따라서 고압멸균기를 이용하여 10분 이상의 살균과정을 거친 식품내의 GM 콩의 정성검출을 위하여 PCR 방법의 적용이 적합하지 않음을 보여준다.

산처리 가공효과를 위하여 시험하기 위하여 가루 형태로 분쇄된 시료에 pH2에서 pH8까지의 sodium citrate 완충용액을 처리하였을 때, 100%와 3% GM 콩 둘 다 pH 2에서 pH 8까지의 범위 안에서 검출이 잘 이루어졌다(Fig. 2-D). 그러므로 1시간 이내의 콩가루의 산처리 가공과정은 식품내의 GM 콩의 정성검출을 위한 PCR 방법에 전혀 영향을 미치지 않음을 보여준다.

열처리 및 열과 압력에 의한 가공 후 genomic DNA의 상태 확인

Fig. 2에서 제시한 바와 같이 물리적인 가공이 PCR을 이용한 GM 콩 검출에 영향을 미치는 한계를 확인할 수 있었다. 그러므로 PCR 검출법에 영향을 미치는 요인 중 genomic DNA(gDNA)의 상태를 확인하고자 하였다. 우선 여러 가지 온도에서 1시간 동안 열처리를 하여 추출한 gDNA를 4% agarose gel상에서 전기영동을 하여 gDNA의 파괴 여부를 관찰하였다. 대조군과 비교하여 100%와 3% GM 콩 모두 120°C부터 gDNA가 파괴되어 끌리는 현상을 보이기 시작하여, 140°C에서 그 현상이 심화되고 100 bp 이하로 파괴된 gDNA가 증가하였다. 160°C 이상에서는 100 bp보다 큰 gDNA는 거의 관찰되지 않았고, 모두 그보다 작은 크기로 조각난 상태가 되었다. 또한 120°C부터 급격히 감소하기 시작한 온전한 gDNA는 160°C 이상의 열처리 가공효과 후에는 존재하지 못함을 확인할 수 있었다(Fig. 3-A). 열과 압력을 동시에 처리하였을 경우는 10분부터 gDNA가 파괴되어 끌리는 현상이 보였으며, 온전한 gDNA는 관찰되지 않았다. 20분에서는 100 bp 크기 이하로 파괴됨을 볼 수 있었다(Fig. 3-B).

결론적으로, agarose gel상의 gDNA의 분해된 양상이 보여주는 바와 같이 정성 PCR에 의하여 검출이 감소하거나 불가능한 시료는 100 bp 이하의 조각으로 gDNA가 분해된 것이 검출 한계에 영향을 미친 것으로 사료된다. Fig. 2과 Fig. 3에서 도입 유전자의 확인을 위하여 디자인된 PCR product의 증폭크기가 35S promoter 부위와 내재유전자 lectin 부위의 증폭크기가 156 bp와 315 bp로 차이가 있는데, 동일 시료에서 35S promoter의 검출이 더 잘 되었다. 이 결과는 DNA의 PCR 검출법에서 표적 DNA의 크기가 검출 한계와 관련이 있음을 제시한다.

열처리 및 열과 압력에 의한 가공효과가 단백질 검출법에 미치는 영향

가공효과가 단백질 검출법에 미치는 영향은 유전자변형 콩 HS2906의 도입 유전자인 EPSPS의 단백질에 대한 항체를 이용하여 만들어진 LFST 법을 사용하였다. 제작사가 제시하는 Trait RUR Bulk Soybean 5-minute Test Kit(Strategic Diagnostics Inc., Newark, DE, USA)의 test sensitivity는 1000개 종자 중 1개의 GM 종자가 있더라도 검출이 가능한 수준이고, Trait RUR Toasted Meal Test Kit(가공식품을 위한 lateral flow strip)의 threshold level은 1% GM 혼합물에 대한 검출이 가능하며, 본 연구에서 사용된 3% GM 콩 혼합물을 검출하기에는 문제가 없다. 시료 분석에 들어가는 비용은 Test Kit를 사용시 시료 건당 4,000원 정도이고, 최소 분석 시간은 5분 소요되었다.

온도별 열처리에 의한 시료는 Trait RUR Bulk Soybean 5-minute Test Kit를 사용하였을 경우에 100% GM 콩의 경우는 140°C 이상부터 검출능력이 감소하기 시작하였고, 160°C 이상부터는 test line이 나타나지 않았다. 3% GM 콩의 경우는 120°C 이상부터 검출이 불가능하였다(Fig. 4-A). 열과 압력을 동시에 처리하였을 경우에는 100%와 3% GM 콩 모두 10분부터 검출이 되지 않았다(Fig. 4-A).

Trait RUR Toasted Meal Test Kit를 사용하였을 경우(Fig. 4-B)에, 온도별 열처리에 의한 시료와 열과 압력을 동시에 처리한 시료 100% GM 콩의 경우는 140°C까지의 처리는 오히려 test line의 세기가 양성 대조군보다 선명하였고, 160°C 이상부터는 test line의 세기가 현저히 감소하였다. 3% GM 콩의 경우도 유사한 양상을 보여주었다. 열과 압력을 동시에 처리한 100%

Fig. 2. Effects of heat, heat and pressure, and acid treatments on detection of RRS soybean.

(A) Effect of 1 hr-heat treatment on detection of RRS soybean. 35S promoter- PCR from 100% and 3% soybean ingredients; Lectin PCR from 100% and 3% GM soybean ingredients. DNA ladder (100 bp) (Bioneer, Daejon) is indicated by M and negative control by -, and untreated positive control by +. Treated temperature (°C) is indicated at top of each lane. (B) Effect of heat treatment at 160°C on detection of RRS soybean. 35S promoter- PCR from 100% GM soybean ingredient; Lectin PCR from 100% GM soybean ingredient. DNA ladder (100 bp) (Bioneer, Daejon) is indicated by M and negative control by -. Duration of heat treatment (min) is indicated at top of each lane. (C) Effect of 1.5 atmosphere pressure treatment at 120°C on detection of RRS soybean. 35S promoter- PCR; Lectin PCR; EPSPS-PCR. DNA ladder (100 bp) (Bioneer, Daejon) is indicated by M, negative control by -, and untreated positive control by +. Percent GM ingredient and duration of pressure treatment (min) are indicated at top of each lane. (D) Effect of 1 hr acid treatment on detection of RRS soybean. 35S promoter- PCR from 100% and 3% soybean ingredient; Lectin PCR from 100% and 3% GM soybean ingredient. DNA ladder (100 bp) (Bioneer, Daejon) is indicated by M and untreated positive control by +. Treated pH is indicated at top of each lane.

GM 콩의 경우 10분에서 test line의 세기가 더 선명하여졌고, 20분부터는 test line의 세기가 감소하였다. 3% GM 콩의 경우에도 유사한 양상을 보여주었다.

고 찰

식품 내 3% 이상의 GM 곡물의 혼입에 대한 표시제의 시행은 시중 가공식품에서 GM 곡물의 혼입을 검출할 수 있어야 하고, 검출이 되지 않는 가공식품은 전통식품과 동일한 것으로 간주될 수 있음을 전제로 하고 있다. 실험실 조건에서 소규모로 시행한 가공처리가 GM 콩의 DNA 및 도입 단백질의 분해에 어떻게 영향을 주는지에 대한 본 연구는 기존에 널리 사용되는 검출법인 정성 PCR법과 LFST는 가공처리의 강도가 어느 정도를 초과하면 DNA나 단백질이 파괴되어 검출력이 현저히 감소하거나 검출력을 상실함을 제시하였다.

정성 PCR법을 사용한 본 연구의 결과는 160°C에서 90분 이상의 처리와 같은 열처리는 검출하고자 하는 시료의 DNA를

표적 DNA의 크기 이하로 파괴하여 검출력을 상실하게 함을 시사하였다. 또한 일반적인 실험실에서 통상적으로 시행되고 있는 고압멸균 처리 조건과 동일한 열과 압력을 동시에 처리하는 과정을 거치면 그 파괴 효과가 상승 작용하여 121°C에서 20분 이상의 처리에서 PCR을 통해 DNA의 존재를 검출할 수 없었다. 하지만 산처리는 본 실험 조건에서는 DNA 검출에 영향을 주지 않았다.

단백질 검출법은 곡물용과 가공식품용 LFST를 사용하였다. 곡물용 LFST는 PCR법과 유사하게 가공처리가 검출력을 감소시키나, 가공식품용 LFST는 120°C에서 1시간 열처리와 같은 약한 가공처리에서 오히려 검출력이 증가하였다. 이는 단백질 검출법이 사용하는 항체가 곡물용의 경우에는 3차구조를 유지한 비변성 상태의 단백질을 항원으로 인식하나, 가공식품용의 경우에는 변성된 단백질을 항원으로 인식하도록 제작되었기 때문으로 사료된다. 하지만 180°C에서 1시간 열처리나 일반적인 실험실에서 통상적으로 시행되고 있는 고압멸균 처리 조건인 121°C, 1.5 기압에서 20분 이상의 처리는 가공식품용 LFST법

Fig. 3. Agarose gel electrophoresis profiles of genomic DNAs extracted from RRS soybeans after heat treatment or heat and pressure treatment.

(A) Genomic DNAs extracted from 100% and 3% RRS soybean ingredient after 1 hr heat treatment using the CTAB method. DNA ladder (100 bp) (Bioneer, Daejeon) is indicated by M and untreated positive control by +. Temperature (min) is indicated at top of each lane. (B) Genomic DNAs extracted from 100% and 3% RRS soybean ingredient after 1.5 atmosphere pressure treatment at 120°C using the CTAB method. DNA ladder (100 bp) (Bioneer, Daejeon) is indicated by M and untreated positive control by +. Duration of pressure treatment (min) is indicated at top of each lane.

Fig. 4. Effect of 1 hr-heat treatment (HT) or heat and pressure treatment (HPT) on protein detection of RRS soybean using lateral flow strips.

(A) Detection of EPSPS using Trait RUR Bulk Soybean 5-minute Test Kit from 100% and 3% GM soybean ingredient. (B) Detection of EPSPS using Trait RUR Toasted Meal test kit from 100% and 3% GM soybean ingredient. Untreated positive control is by +. Treated temperature (°C) or duration of 1.5 atmosphere pressure treatment at 120°C are indicated at top of each lane.

을 통한 검출력을 현저히 감소시켰다. 이는 가공식품용 kit에 사용된 항체가 매우 작은 펩타이드 epitope을 인식하는 항체이지만, 위의 처리에서는 epitope 자체를 파괴한 것으로 간주된다.

본 연구에서 사용한 DNA 검출법과 단백질 검출법은 시료당 분석 비용은 비슷하였으나, DNA 검출법이 분석 시간이 길었다. 하지만 DNA 검출법은 현재의 기술 수준에서 검출법의 개발에서부터 분석까지 일반적인 실험실에서 쉽게 수행할 수 있으나, 단백질 검출법의 개발에서 필수적인 항체의 생산은 아직도 고

도의 기술과 시설을 요구하는 단점이 있다. 그럼에도 불구하고, 단백질 검출법에 사용된 가공식품용 LFST법은 DNA의 파괴로 PCR 증폭이 되지 않은 시료에서도 도입 단백질의 존재를 검출할 수 있어, 특정 시료의 분석에 필수적이라 사료된다.

열과 압력의 처리는 우리나라의 전통 콩 식품류인 간장과 된장의 원료로 사용되는 메주의 제조과정의 초기단계인 자숙과정에서(16,17) 수반되는 과정이기 때문에, 본 연구의 결과는 메주의 제조시에 기존의 방법을 개선하면 GM 콩이 혼입되더라도

도 non-GM 식품과 동일시 될 수 있음을 시사한다. DNA의 함량이 검출 한계이하로 떨어져 표시제가 면제된 가공식품의 대표적인 예인 콩기름의 경우에는 제조과정에서 원심분리 단계가 DNA의 검출력을 결정하는 중요한 단계로 동정된 바 있다(11). Meyer(7)는 전분 유래물(glucose syrup, maltodextrin 등), 정제된 lecithin, 정제된 식물성 기름, 콩 소스 및 가루, 그리고 고열처리된 (추출되거나 멸균된) 최종 가공 산물에서는 DNA를 더 이상 검출 할 수 없다고 보고 한 바 있다. 우리나라에서도 식품의약품안전청에서 간장과 식용유 등에 대해서는 GM 곡물 혼입의 표시를 면제하여 주고 있다(12).

GM 식품의 위해성 평가시 고려되는 항목 중의 하나가 유전자전이와 새로운 알레르기의 유발이다. 유전자 전이의 문제는 GM 작물을 생산할 때 도입유전자와 같이 식물체내에 선별 표지로 전달된 항생제 저항성 유전자와 같은 유전자가 장내 세균으로 전달될 가능성에 대한 우려이다(18,19). 알레르기에 대한 우려는 GM 작물에 도입된 유전자의 산물인 단백질은 전통적인 식물에 함유되지 않은 새로운 단백질이기 때문이다. 본 연구의 결과는 가공공정을 거치면서 DNA가 분해되어, 가공식품을 섭취할 경우에 그 위험성은 크게 줄어든다고 사료된다. 그런데, 본 연구에서 가공식품용 LFST법은 PCR 검출법에서는 검출하지 못한 가공공정을 거친 시료에서 단백질 검출법으로 검출할 수 있었다. 이것은 가공식품을 위한 kit에 사용된 항체가 매우 작은 peptide epitope을 인식하는 항체이기 때문에 단백질 변성 조건 하에서 더 검출을 잘 할 수 있었으며, 이것은 도입 단백질에 의한 잠재적인 알러젠의 제거는 DNA 파괴 조건보다 강력한 가공처리를 요구함을 시사하고 있다. 이러한 측면에서 본 연구의 결과는 GM 곡물을 혼입한 식품의 잠재적 위해성에 대비하여 표시제와 더불어 유전자전이와 새로운 알레르기의 유발 인자를 완전히 제거하는 연구가 수행되어야 함을 제시하였다.

감사의 글

이 연구는 과학기술부 시행 국책 생명공학안전성평가기술개발사업 내 LMO의 유전자분석기술개발 과제 및 한국생명공학연구원의 기관고유사업률 통한 연구비 지원에 의하여 수행된 결과의 일부이며 이에 감사하는 바입니다.

요 약

유전자변형(GM)작물의 안전에 대한 논란은 우리나라를 포함한 많은 나라들이 GM 식품의 강제적 표시제를 도입하게 하였다. 본 연구의 목적은 어떤 수준의 열, 압력, 및 산 처리가 정성 PCR과 LFST 방법의 검출 한계 아래까지 GM 콩 혼합물의 DNA나 단백질을 파괴할 수 있는지를 조사하는 것이었다. 결과는 열처리나 고압열처리는 처리 시간에 따라서 도입유전자의 검출이 되지 않을 정도로 DNA와 단백질을 작은 절편들로 파괴함을 보여주었다. 흥미있는 점은, 가공식품을 위한 LFST의 검출력은 약하게 가공처리된 콩에서 증가하였다. DNA 및 단백질 검출법 모두 121°C, 1.5기압에서 20분 동안 처리한 후 GM 혼입물의 검출력을 거의 상실하였다. 본 연구의 결과는 시중에 유통되는 어떤 종류의 가공식품이 GM 작물 식품으로 표시되어야 할지를 결정하는데 유용할 것이다.

문 헌

1. Nap JP, Metz PLJ, Escaler M, Conner AJ, The release of genetically modified crops into the environment. Part I. Overview of current status and regulations. *Plant J.* 33:1-18 (2003).
2. Korea Biosafety Clearing House at Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology. 2003 Biosafety White Paper. Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon, Korea (2003)
3. Korea Biosafety Clearing House at Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology. 2004 Biosafety White Paper. Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon, Korea (2004)
4. Ye X, Al-Babili S, Klti A, Zhang J, Lucca P, Beyer P, Potrykus I. Engineering the provitamin A (β -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science* 287: 303-305 (2000)
5. Auer CA. Tracking genes from sed to supermarket: techniques and trends. *Trends Plant Sci.* 8: 591-597 (2003)
6. Ahmed FE. Detection of genetically modified organisms in foods. *Trends Biotechnol.* 5: 215-223 (2002)
7. Meyer R. Development and application of DNA analytical methods for the detection of GMOs in food. *Food Cont.* 10: 391-399 (1999)
8. MAF. Regulation concerning the compulsory labelling of genetically modified agricultural organisms. Ministry of Agriculture and Forestry, Seoul, Korea (2000)
9. KFDA. Regulation concerning the compulsory labelling of foodstuffs and food ingredients produced from genetically modified organisms. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea (2001)
10. Hupfer C, Hotzel H, Sachse K, Engel KH. Detection of the genetic modification in heat-treated products of Bt maize by polymerase chain reaction. *Z Lebensm Unters Forsch A* 206: 203-207 (1998)
11. Pauli U, Liniger M, Zimmermann A. Detection of DNA in soybean oil. *Z. Lebensm Unters Forsch A* 207: 264-267 (1998)
12. Korea Food and Drug Administration. List of foods exempt from the compulsory labelling of foodstuffs and food ingredients. Available from: <http://www.kfda.go.kr>. Accessed April 20, 2004.
13. Yun SO, Jeong SC, Yoon WK, Park S, Moon JS, Lee JH, Kim HM. Performance evaluation of PCR kits for detecting GM crop ingredients. *J. Toxicol. Pub. Health* 20: 101-108 (2004)
14. Saghai Maroof MA, Soliman MK, Jorgensen RA, Allard RW. Ribosomal DNA spacer length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 8014-8018 (1984)
15. Korea Food and Drug Administration. Guideline for GMO detection. Available from: <http://www.kfda.go.kr>. Accessed April 20, 2004.
16. Chang CH. Chemical changes during the fermentation of Korean soy-souces and in connection with its fermentative period. *Agric. Chem. Biotechnol.* 3: 8-13 (1965)
17. Im MH, Choi JD, Chung HC, Lee SH, Lee CW, Choi C, Choi HS. Improvement of Meju preparation method for the production of Korean traditional kanjang (soy sauce). *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 608-614 (1998)
18. Gruzza M, Fons M, Ouriet MF, Duval-Ifilah Y, Ducluzeau R. Study of gene transfer *in vitro* and in the digestive tract of gnotobiotic mice from *Lactococcus lactis* strains to various strains belonging to human intestinal flora. *Microbiol. Releases* 2: 183-189 (1994)
19. Nordlee JA, Taylor SL, Townsend JA, Thomas LA, Bush RK. Identification of a Brazil-nut allergen in transgenic soybeans. *New Engl. J. Med.* 334: 688-692 (1996)

(2004년 4월 29일 접수; 2004년 7월 21일 채택)