

유전자 재조합 콩과 순수 콩의 단백질화학적 특성의 비교

포천중문의과대학 소아과학교실, 연세대학교 의과대학 소아과학교실*

염혜영 · 이경은* · 손명현* · 김철홍* · 김규언*

=Abstract=

Comparison of Genetically Modified Soybean and Wild Soybean in Physicochemical Aspects

Hye-Yung Yum, M.D., Kyung-Eun Lee*, Myung-Hyun Shon, M.D.*
Chul-Hong Kim, M.D.* and Kyu-Earn Kim, M.D.*

Department of Pediatrics, College of Medicine, Pochon CHA University,
College of Medicine, Yonsei University*, Seoul, Korea

Purpose : The list of genetically engineered crops is growing. Traits introduced into these crops include insect protection, delayed ripening, virus resistance, modified nutritional composition, herbicide tolerance etc. Most traits introduced into crops result from the expression of new proteins. FAO/WHO organised joint expert consultations had recommended that substantial equivalence be an important component in the safety assessment of GMO plants for human consumption. As the first step to assess the allergenic potential of GMO food, the immunological and physicochemical characterization is needed.

Methods : We made crude extract from GMO soybean, wild soybean, curd and soy milk and performed SDS-PAGE. After acidification with HCl, the samples were divided to globulin and whey. To evaluate the changes of protein composition, the samples were heated or added with pepsin. PCR with primer coding 35S-promotor, NOS-terminator, and EPSPS gene were performed respectively for detection of GMO component

Results : Although there was difference in protein composition in SDS-PAGE of GMO and wild soybean, the same protein bands are observed in globulin fraction after acidification. The heating made difficult to see the protein distribution exactly. After adding of pepsin the same bands-20 kD, 37 kD, and 68 kD-were preserved in GMO and wild soybeans. The 3 PCR procedures showed same results that GMO soybean and some curd included GMO component.

Conclusion : There were no definite differences between GMO and wild soybeans in respect to immunologic and physicochemical characteristics. To assess the allergenicity of GMO food, the more researches including in vitro and in vivo immunoassay are needed.

Key Words : Allergenicity, Genetically modified organism, Soybean

* 본 연구는 2000년 보건 의료기술연구개발사업 연구과제로 수행되었음.

책임저자 : 김규언 서울시 강남구 도곡동 146-92
영동세브란스병원 소아과
Tel : 02)3497-3353 Fax : 02)3461-9473
E-mail : kekim@yumc.yonsei.ac.kr

서 론

분자 유전학의 발달로 식용식물의 형질을 변

화시킬 수 있게 되어 그 생산성과 저장성을 높이고 영양을 강화하는 새로운 유전 형질을 도입한 유전자 재조합 식품(Genetically Modified Organisms: 이하 GMO로 표시)이 개발되어 60여종에 이른다.¹⁾ 미국의 경우 유통되는 콩과 옥수수의 30-50%는 GMO이고 이를 이용한 가공식품의 시판도 증가하고 있다. 세계적인 무역의 증대로 국내에도 이러한 GMO의 유입이 빠르게 증가하는 추세이며 이에 따라 GMO의 안전성에 관한 많은 논란이 제기되어 왔다.

GMO의 인체 및 환경에 미치는 영향과 안전성에 관한 논의는 1990년 FAO와 WHO의 주관하에 미국, 일본, 영국을 포함한 9개국의 정책협의로 시작되었으며, 분자 생물학적 특성, 발현 형태학적 특성 및 독성 물질과 영양 조성성분의 관점에서 기존의 식품과의 실질적 동등성을 규명하는 것을 기본 원칙으로 하였다.²⁾ 이후 GMO의 연구와 개발이 활발한 선진 각국을 주축으로 GMO의 안전성을 규제하는 장치들이 고안되고 있다. 미국의 경우 FDA 산하의 생명과학 평가 팀이 발족되어 개발된 GMO의 관련법규에 따른 안전성 평가 과정을 전담하고 있다. 일본에서는 보건 후생성에 유전학, 식품학, 면역학, 독성학 등의 각 분야의 전문가와 행정가가 포함된 특별위원회가 이러한 역할을 담당하며 이는 유럽 연합에서도 유사하다. 이들 안전성 검증에는 독성 및 알레르기 유발성, 항생제 내성에 대한 항목이 포함되어 있다.

국내에도 GMO의 유입이 증가함에 따라 식품의약품 안전청 고시 제 1999-46에 명시된 '유전자 재조합 식품, 식품첨가물 안전성 평가자료 심사지침'에 실질적 동등성 규명을 위한 안전성 평가 자료의 항목으로 알레르기 유발성분에 대한 항목이 포함되어 있으며 규명된 주요 알레르겐 및 구조 유사성이 확인된 알레르겐에 대한 환자의 혈청 IgE 항체와 유전자 재조합 산물과의 결합력에 관한 자료를 요구하고 있다.³⁾ 그러나 현

재 국내에서 GMO는 물론 기존의 식품에 대한 과학적이고 체계적으로 알레르겐에 대한 검증을 실시했다는 보고는 없다.

GMO에 새로운 알레르겐이 발현될 가능성을 수치상으로 나타내기는 불가능하나 이를 위해서는 2가지 요소를 고려해 볼 수 있다. 우선 임상적으로 그 식품의 알레르기 유발률을 고려해 보아야 하는데, 콩의 경우 여러 조리 형태의 콩 음식을 즐기는 우리나라를 포함한 아시아 지역에서는 그 비중이 높다고 하겠다. 또한 알레르겐으로 이미 확인된 단백을 GMO에 도입할 때 그 항원성이 강한 경우 비록 그 빈도가 낮더라도 극소량의 알레르겐에 의해 치명적인 증상을 유발할 수 있다고 알려져 있다. 그러나 현재까지 규명된 알레르겐은 제한되어 있으며, 보다 다양한 식품에서 주 알레르겐을 확인하는 것은 향후 연구의 과제라 할 수 있다. 이러한 알레르기 유발성의 검증에는 임상적으로 식품 알레르기가 의심되는 환자의 수집과 이들에 대한 혈청내 특이 IgE의 검출 및 알레르기 피부검사가 선행되어야 하며 궁극적으로는 GMO가 포함되었다고 확인된 식품을 이용한 이중맹검 식품유발시험이 시행되어야 한다.

본 연구에서는 GMO 중 가장 먼저 개발되고 국내 유입과 소비가 많은 콩의 알레르기 유발성에 대한 기초 연구로서 GMO 콩과 국내산 순수 콩의 단백질 조성을 비교하고 열과 효소 처리에 대한 변화를 관찰하며 시판 중인 콩 가공 식품 내 GMO의 포함 여부를 규명해 보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 조항원의 제조

국내산 순수 콩은 국립 종자 관리소 종자 유통과에서 얻었으며 GMO 콩은 미국 Cargil사로부터 얻었다. 시중에서 유통되는 콩 가공식품으로 두부 및 두유를 구입하였다. 이들을 액체 질

소를 이용하여 곱게 분쇄하고 phosphate buffer saline(137 mM NaCl, 1.8 mM KH_2PO_4 , 10 mM Na_2HPO_4 , 27 mM KCl, pH7.4: PBS)을 첨가하여 18시간 동안 교반시킨다. 15,000 rpm에서 30분간 원심분리 하여 상층액을 분리한 후 3,500 mw의 투석막을 이용하여 3일 동안 투석한 후 동결건조하여 사용할 때까지 -20°C 에서 보관하였다.

2. SDS-PAGE

Laemmli의 방법⁴⁾에 따라 각각의 sample들은 loading buffer(60 mM Tris-HCl, 25% glycerol, 2% SDS, 14.4 mM 2-mercaptoethanol, 0.1% bromophenol blue)에 녹인 후, 끓는 물에서 5분간 반응시켰다. 5%, 13.5% SDS-polyacrylamide gel에 sample들을 loading 한 후 50/180 V로 전기영동(Small mighty, Hoeffer, San Francisco, CA, USA)을 실시하여 coomassie blue로 염색한 다음 시간대별 단백질 항원들의 분포를 비교분석 하였다.

3. 열처리

GMO 콩과 국내산 순수 콩 20 g씩을 각각 100°C 에서 30분 동안 끓인 후 PBS buffer와 1:10 비율로 섞은 후 homogenizer를 사용하여 균질액을 만든 후 15,000 rpm에서 20분간 원심분리 하였다. 상층액을 따로 모아 투석막을 이용하여 불순물을 제거한 후 동결건조시켜 사용 전까지 -20°C 에서 보관하였다. 제작한 조항원은 증류수에 1 mg/mL이 되게 희석한 후 loading buffer를 첨가하여 끓는 물에서 5분 동안 반응시킨 후 5%, 13.5% SDS-polyacrylamide gel에 loading 한 후 전기영동을 실시하였다. 단백질항원이 분리된 gel은 coomassie blue로 염색한 후 gel reader상에서 분석하였다.

4. 효소처리

GMO 콩과 국내산 순수 콩 50 g씩을 액체질을 사용하여 분쇄한 후 PBS buffer를 첨가한 다음, homogenizer를 이용하여 균질액을 만든 후 15,000 rpm에서 20분간 원심분리 하였다. 상층액을 따로 모아 투석막을 이용하여 불순물을 제거한 후 동결건조시켜 사용 전까지 -20°C 에 보관하였다. 위의 방법으로 제작한 조항원은 증류수에 3 mg/mL이 되게 희석하여 10,000 unit의 pepsin 용액(Sigma, St. Louis, Mo, USA)과 1:18의 비율로 섞은 후 37°C 에서 각각 시간별로 0, 5, 15, 60, 120분 digestion 시켰다. 각 시간대별 소화반응은 Na_2CO_3 를 첨가하여 정지시켰으며 SDS-PAGE를 시행하였다.

5. PCR

분쇄한 시료 0.5 g에 extraction buffer(700 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 10 mM EDTA, 1% 2-mercaptoethanol, 1% hexadecyltrimethylammonium bromide)(Sigma, St. Louis, Mo, USA)를 사용하여 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA sample은 spectrophotometer (SHIMAZU, UV-1601PC, Japan)를 사용하여 260/280 nm에서 흡광도를 측정하여 purity를 조사한 후 가장 순수한 DNA sample 만을 선택하여 실험에 사용하였다. Promotor 35S와 NOS region를 증폭하기 위하여 제작한 primer pro-3s1, pro-3s2, primer nos-1, nos-2와 추출한 DNA를 template로 하여 PCR 증폭하였다. PCR 조건은 94°C 에서 3분간 pre-denaturation 후에 94°C 에서 30초간 denaturation, 57°C 에서 30초간 annealing, 72°C 에서 30초간 synthesis 과정을 40 cycle 반복한 후 72°C 에서 5분간 extension 시켰다. 그리고 GMO 유전인자인 제초제 내성인자(3-enolpyruvyl-shikimate-5-phosphate-synthase : 이하 EPSPS로 표시) gene 검

출확인 시에는 PCR kit(TaKaRa, Japan)내에 template DNA를 각각 분주한 후 PCR을 시행하였다. 이렇게 얻은 결과들은 1.5% agarose gel에서 전기영동한 후 UV 상에서 관찰하였다.

결 과

1. 조항원 제조 및 콩과 콩 관련식품 내 단백질의 SDS-PAGE

PBS buffer(pH 7.4)를 이용해 얻은 각 시료들의 단백질농도는 Bradford assay 방법을 통해 확인하였으며 그 결과, GMO 콩, 국내산 순수콩, 두부(P, H 회사), 두유(S, D 회사)의 단백질농도는 각각 530, 620, 260, 230, 120, 100 µg/mL이었다. GMO 콩과 국내산 순수 콩의 SDS-PAGE 결과, 공통적으로 gel 상에서 모두 10여개의 단백질이 관찰되었으며 그 분포는 10-80 kD 범위에 존재하였다. GMO 콩의 경우 68 kD, 국내산 순수 콩의 경우 50 kD의 단백질이 현저하게 관찰되었으며 분자량 40 kD 단백질 이하로는 두 시료가 서로 비슷한 단백질 분포를 보였다.(Fig. 1) 콩 관련식품들의 경우 가공 처리과정에서 구성 단백질이 변형되거나 파괴되어 정확한 단백질분포 관찰이 어려웠다.(Fig. 2)

Fig. 1. SDS-PAGE of soybean crude extract. Lane 1:GMO soybean crude extract, lane 2: wild soybean crude extract, M:molecular weight marker.

2. 열 처리를 한 GMO 콩과 국내산 순수 콩 비교

물리적 치료로 30분 동안 콩 시료들을 끓여 우리가 섭취하는 상태와 비슷하게 만든 후 여기서 단백질을 추출하여 열처리를 하지 않은 시료와 비교하였을 때, 열처리 한 경우는 국내산 순수 콩과 GMO 콩의 단백질분포가 거의 동일하였으며 특징적으로 열처리 안 한 시료에서 뚜렷하게 나타났던 50, 68 kD의 단백질은 관찰이 되지 않았

Fig. 2. SDS-PAGE of soybeans and soybean products. Lane 1:GMO soybean crude extract, lane 2:wild soybean crude extract, lane 3: curd(P company), lane 4: curd(H company), lane 5: skin test extract(T company), lane 6: soy milk(S company), lane 7: soy milk(D company).

Fig. 3. SDS-PAGE of soybeans treated with heating. Lane 1:GMO soybean crude extract, lane 2:GMO soybean heated for 30 min, lane 3:wild soybean crude extract, lane 4:wild soybean heated for 30 min, M:molecular weight marker.

다.(Fig. 3)

3. 화학적 처리를 한 GMO 콩과 순수 콩 비교

0.5 N HCl을 이용하여 단백용액을 pH 4.6까지 산화시킨 후 여기에서 분리된 whey 분획과 globulin 분획을 각각 비교하였을 때 GMO 콩과 국내산 순수 콩 모두 20, 37, 68 kD의 단백질이 globulin 분획에서 관찰되었다. 20-37 kD

사이의 단백질들은 거의 모두 whey 분획에서만 관찰되었다. Globulin 분획의 경우 적은 수의 단백질만을 포함하고 있으나 whey 분획의 경우는 여러 크기의 다양한 단백질분포를 나타내었다. (Fig. 4) 콩 시료의 단백질 용액에 펩신 처리한 결과 GMO 및 국내산 순수 콩에서 20 kD 및 68 kD의 단백질이 유지되었으며 전반적으로 다른 단백질들은 점차 그 농도가 약해지는 것을 관찰할 수 있었다.(Fig. 5)

4. 콩 식품 내 GMO 유전인자 혼입 여부 확인

유전자 재조합 식품들이 공통적으로 가지고 있는 35S promotor부분을 PCR 증폭하기 위한 primer들을 제조한 후 GMO 콩, 국내산 순수 콩, 그리고 콩 가공 식품들의 DNA를 사용하여 그 증폭여부를 비교 분석한 결과, GMO 콩으로 알려진 샘플의 경우 35S promotor에 해당되는 195 bp가 증폭되었으며, 시판되는 일부 두부 샘플의 경우도 증폭이 되었다.(Fig. 6)

NOS-1 terminator 부분을 PCR 증폭하기 위한 primer들을 제조한 후 순수 콩, GMO 콩 그리고 콩 가공 식품들의 DNA를 사용하여 그 증폭여부를 비교 분석한 결과, GMO 콩으로 알려

Fig. 4. SDS-PAGE of fractions of soybean treated with HCl. Lane 1 : GMO soybean crude extract, lane 2 : globulin fraction of GMO soybean, lane 3 : whey fraction of GMO soybean, lane 4 : wild soybean crude extract, lane 5 : globulin fraction of wild soybean, lane 6 : whey fraction of wild soybean, M : molecular weight marker.

Fig. 5. SDS-PAGE of wild and GMO soybeans treated with pepsin. Lane 1-6 : digestion for 0.5, 30, 60, 120, 180 min, M : molecular weight marker.

Fig. 6. The detection of promotor 35s amplified by PCR in soybean and processed soybean products. Lane 1:soybean without CP4, lane 2:soybean inserted CP4 gene, lane 3:wild soybean, lane 4:bean curd A, lane 5:bean curd B, lane 6:bean curd C, lane 7:bean curd D, lane 8:bean curd E, M:100 bp DNA ladder.

Fig. 7. The detection of NOS-1 terminator amplified by PCR in soybean and processed soybean products. Lane 1:soybean without CP4, lane 2:soybean inserted CP4 gene, lane 3:wild soybean, lane 4:bean curd A, lane 5:bean curd B, lane 6:bean curd C, lane 7:bean curd D, lane 8:bean curd E, M:100 bp DNA ladder.

진 샘플의 경우 NOS-1 terminator에 해당되는 180 bp가 증폭되었으며, 시판되는 일부 두부 샘플의 경우도 증폭이 되었다.(Fig. 7)

보다 확실한 샘플들의 GMO 혼입여부를 검사하기 위하여 콩의 재조합 유전인자로 알려져 있는 EPSPS gene을 증폭시키는 primer를 이용하여 그 증폭 유무를 통해 각 식품들의 GMO 혼입여부를 분석한 결과, GMO 콩의 경우 EPSPS gene에 해당하는 570 bp가 증폭되었으며 시판되는 일부 두부 샘플의 경우 EPSPS gene이 증폭되었다.(Fig. 8) 두가지의 실험방법을 통해 GMO 콩과 시판되는 일부 두부 샘플 모두 GMO가 혼입 되었음을 확인할 수 있었다.

고 찰

유전 형질을 변화시키는 유전학적 기술이 도입된 1980년대 이후 현재까지 60여종에 이르는 식용 식물에서 유전자 재조합이 이루어 졌으며 도입된 형질은 제초제 내성과 해충, 바이러스 및 진균에 대한 내성, 숙성 지연, 영양 요소의 증강 등으로 요약할 수 있다.¹⁾ 본 연구의 재료인 콩의 경우 20개 이상의 GMO가 개발되었다.

GMO의 개발로 우수한 식량자원이 생산될 수

Fig. 8. The detection of CP4 gene amplified by PCR in soybean and processed soybean products. Lane 1: soybean without CP4, lane 2:soybean inserted CP4 gene, lane 3:wild soybean, lane 4:bean curd A, lane 5:bean curd B, lane 6:bean curd C, lane 7:bean curd D, lane 8:bean curd E, M:100 bp DNA ladder.

있으나 이전에 없던 새로운 단백질의 식품으로서의 안전성 역시 확보되어야 한다. 식품 안전성의 평가 항목의 하나인 식품 알레르기는 특정 단백질에 대한 이상 면역 반응의 결과로 유발된 일련의 임상증상을 말하며 그 기전은 즉각적인 증상이 나타나는 IgE 매개 반응과 수 시간에서 며칠 후까지도 증상이 나타나는 비 IgE 매개 반응으로 나누어 생각할 수 있다. 식품 알레르기의 경우 지역에 따른 식생활 문화나 종족간의 차이 등에 따라 질환의 빈도나 원인 음식에 차이가 있을 수 있다. 그 빈도는 성인에서는 1.5%, 3세 미만에서는 5-6%로 알려져 있으나 아토피 질환이 있는 소아의 경우 질환에 따라서 10-30%의 높은 빈도를 나타내고 원인이 되는 식품은 계란, 우유, 땅콩, 콩, 밀, 생선 등이다.⁵⁾ 국내에서는 소아 천식환자 3,320명을 대상으로 한 연구 결과 11.4%에서 식품 알레르기를 동반하고 있었으며 흔한 원인 식품은 계란, 돼지고기, 복숭아, 고등어, 닭고기, 우유, 메밀, 계의 순서였다.⁶⁾ 국내외 연구 결과 아직까지 콩 알레르기의 빈도는 정확히 알려진 바 없다.

식품 알레르겐의 대부분은 5-60 kD의 수용성 당단백질로 열, 산, protease에 안정적이어야 한다.⁷⁾ 항원 결정기는 선상이거나 삼차구조를 가질 수 있으며 T cell 항원 결정기는 선상인 반면 B cell 항원 결정기는 삼차구조를 갖는 것으로 일반적으로 생각된다.⁸⁾ 콩의 주알레르겐은 30 kD의 *Gly m 1*으로 7s globulin 분획의 보조적 분획이다. *Gly m 1*은 콩의 vacuolar protein p34와 동일한 염기배열을 갖는 것으로 알려져 있다. 그 외의 알레르겐으로 68 kD의 β -conglycinin의 α -subunit, 20 kD의 Kunitz trypsin inhibitor(SKTI) 등이 있다.⁹⁾ 전자현미경을 이용한 면역화학적 방법으로 콩의 주알레르겐의 B cell 항원 결정기를 10개 부위에서 찾아낸 결과도 있었다.¹⁰⁾ 본 연구에서 SDS-PAGE상 GMO 콩에서는 68 kD, 순수 콩에서는

50 kD의 단백질이 현저하게 관찰되었다. 콩 가공식품인 두부와 두유의 경우 SDS-PAGE상에서 가공 이전의 GMO와 국내산 순수 콩에서 보이던 단백질 중 많은 부분이 소실된 것으로 보이며 두유의 경우 그 정도가 더 심하였다. 따라서 단순히 SDS-PAGE로써 가공식품에 포함된 콩의 기원을 짐작하기는 어려웠다. HCl을 이용한 산화 과정을 거쳐 globulin과 whey 분획으로 분리하였으며 GMO와 국내산 순수 콩 모두 20, 30, 68 kD의 단백질이 globulin 분획에서 관찰되었다. 분리이전에 관찰되었던 두 콩 사이의 단백질의 차이는 관찰되지 않았다.

식품이 위에서의 소화과정을 지나 장점막에서 알레르겐으로 작용하기 위해서는 위에서 단백질 분해 작용에도 그 안정성이 유지되어야 한다. 활성화된 위액에 대한 안정성을 실험한 연구에서 콩의 알레르겐인 β -conglycinin, SKTI는 60분 이상, *Gly m 1*은 30분 이상의 안정성이 입증된 바 있다.¹¹⁾ 따라서 GMO 식품의 알레르기 유발성을 검증하는 기초 자료로 활성화된 위액에서의 안정성 입증은 중요하다. 본 연구에서는 pepsin으로 처리한 GMO 및 국내산 순수 콩에서 20 kD 및 68 kD의 단백질이 유지되었으며 전반적으로 다른 단백질들은 점차 그 농도가 약해지는 것을 관찰할 수 있었다.

GMO의 검증에는 삽입 유전자의 특정부위를 PCR을 이용하여 증폭하거나 발현 단백질을 확인하기 위해 ELISA, 효소활성 측정법, 전기영동을 사용할 수 있다. 발현 단백질을 검출하는 방법은 전자에 비해 검출감도가 떨어지는 단점이 있다.¹²⁾ 본 연구에서는 35S-promoter와 NOS-terminator에 대한 PCR을 시행한 결과 GMO 콩과 시판되는 일부 두부에서 GMO 성분이 확인되었으며 콩에 삽입된 EPSPS 유전자를 증폭하는 primer를 이용하여 동일한 결과를 얻을 수 있었다. 그러나 이러한 PCR을 이용한 검증에도 예민도와 특이도의 한계를 고려해야 하며 순수

식품과 혼합된 경우와 가공식품에 대한 적용의 어려움이 있고 유통 단계에서의 혼입 등의 변수를 염두에 두어야 한다.¹³⁾ 비의도적인 혼입의 한계는 나라마다 상이하나 대체적으로 1-5% 정도로 규정하고 있다.

2001년 FAO/WHO 주관의 국제 협의의 결과에 따르면 GMO의 알레르기 유발성에 관한 안전성 검증에는 삽입 유전자의 기존 알레르겐과의 염기 서열 비교, 면역학적 검사, 물리화학적 안정성 및 임상적인 증상 유발 검사 등의 과정을 거쳐야 한다.¹⁴⁾ 그러나 GMO의 안전성은 앞으로 여러 세대에 걸쳐 섭취되면서 그 추이를 관찰해야 할 것으로 생각되며 특히 그 발생 기전이 복합적인 알레르기의 경우 상당 기간이 필요할 것으로 생각된다.

요 약

목적 : 유전자 재조합 식품(Genetically Modified Organisms : GMO)은 인류의 식량난의 해결책이 될 수 있으나 도입된 새로운 단백질에 대한 알레르기 반응의 가능성도 배제할 수 없다. 이에 점차 그 개발과 생산이 증가되어 가는 GMO 중 가장 널리 보급된 콩에 대한 알레르겐의 분석과 효소와 열 처리 등을 통한 구성 단백질의 변화를 관찰하고자 하였다.

방법 : GMO 콩과 국내산 순수 콩, 시판되는 다양한 콩 가공식품을 이용하여 조항원을 제조하였다. 각각의 조항원을 이용하여 SDS-PAGE를 시행하여 각각의 단백질 분포를 비교하였다. GMO 콩과 국내산 콩을 각각 열처리 및 효소처리를 한 후 비교분석 하였다. 각각의 시료에서 DNA를 추출하여 GMO 유래 유전자를 증폭시킬 수 있는 primer를 사용하여 PCR을 시행하여 각 시료들의 GMO 혼합여부를 확인하였다.

결과 : 각각의 조항원들의 단백질농도는 GMO 콩, 국내산 순수 콩, 시판되는 두부와 두유 각각

2종에서 각각 530, 620, 260, 230, 120, 100 µg/mL이었다. GMO 콩과 국내산 순수 콩의 SDS-PAGE 결과, GMO 콩의 경우 68 kD, 국내산 순수 콩의 경우 50 kD의 단백질이 현저하게 관찰되었으며 분자량 40 kD 단백질 이하로는 두 시료가 서로 비슷한 단백질 분포를 보였다. 콩 가공식품들의 경우 가공 처리과정에서 단백질이 변형되거나 파괴되어 정확한 단백질 분포 관찰이 어려웠다. 열처리 결과 GMO 콩과 국내산 순수 콩의 단백질 분포가 거의 동일하였으며 열처리 이전 각각의 시료에서 뚜렷하게 나타났던 68, 50 kD의 단백질은 관찰되지 않았다. 0.5 N HCl을 이용하여 콩 조항원을 pH 4.6까지 산화시킨 후 분리된 whey 분획과 globulin 분획은 GMO와 국내산 순수 콩 모두 68, 37, 20 kD의 단백질이 globulin 분획에서 관찰되었다. GMO 콩과 국내산 순수 콩의 단백질 용액에 펩신 처리한 결과 20 kD 및 68 kD의 단백질이 유지되었으며 다른 단백질들은 점차 그 농도가 약해지는 것을 관찰할 수 있었다. GMO 콩에 삽입된 35S promoter와 NOS terminator 부분을 증폭하는 primer를 이용하여 PCR을 시행한 결과, GMO 콩으로 알려진 샘플의 경우 증폭되었으며, 시판되는 일부 두부 샘플의 경우도 증폭이 되었다. GMO 콩에 삽입된 유전자인 제초제 내성인자(3-enolpyruvyl-shikimate-5-phosphate-synthase : EPSPS) gene을 증폭시키는 primer를 이용하여 PCR을 시행한 결과, GMO 콩과 시판되는 일부 두부 샘플의 경우에서 EPSPS gene에 해당하는 570 bp가 증폭되었다.

결론 : GMO 콩을 기존의 국내산 순수 콩과 비교한 결과 전기영동에서 보이는 단백질의 분포의 차이는 HCl을 이용한 분리 후 소실되었고 열처리 및 pepsin 처리 후 결과도 동일하였다. PCR 방법을 이용하여 각종 콩 제품의 GMO 성분 함유 여부를 검사한 결과 GMO 콩과 일부 시판되는 두부에서 그 성분이 검출되었다.

참 고 문 헌

- 1) Day PR. Genetic modification of proteins in food. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1996;36(Suppl): 165-86.
- 2) Whitehead AJ. Strategies for assessing of food produced by biotechnology. FAO/WHO expert consultations; 1990 Nov 5-10; Geneva, Switzerland.
- 3) 유전자 재조합식품, 식품 첨가물 안전성 평가자료 심사지침. 1999 식품의약품안전청고시 제 1999-46호.
- 4) Laemmli UK. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970;227:680-5.
- 5) Sampson HA. Food allergy. *JAMA* 1997;278: 1888-94.
- 6) 김규언, 정병주, 이기영. 소아 천식환자에서 식품 알레르기의 빈도 및 원인 식품. *소아알레르기 및 호흡기* 1995;5:96-106.
- 7) Sampson HA. Epidemiology of food allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 1996;7:42-50.
- 8) Tylor SL, Lehrer SB. Principles and characteristic of food allergens. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1996;36 Suppl:91-118.
- 9) Bush RK, Hefle SL. Food allergens. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1996;36 Suppl:119-163.
- 10) Helm RM, Cockrell G, Herman E, Burks AW, Sampson HA, Bannon GA. Cellular and molecular characterization of a major soybean allergen. *Int Arch Allergy Immunol* 1998;117: 29-37.
- 11) Astwood JD, Leach JN, Fuchs RL. Stability of food allergens to digestion in vitro. *Nature Biotechnol* 1996;14:1269-73.
- 12) 김해영. 유전자 변형식품의 검증방법. *대한의사협회지* 1999;43:148-52.
- 13) Meyer R. Development and application of DNA analytical methods for the detection of GMOs in food. *Food Control* 1999;10:391-9.
- 14) Evaluation of allergenicity of genetically modified foods. FAO/WHO expert consultation on allergenicity of foods derived from biotechnology; 2001 Jan 22-25; Rome, Italy.