

방사선 조사한 근육식품 (쇠고기, 돼지고기, 토끼고기)의 DNA Comet 특성 연구

서정은*, 조영준·서명희·김영호·이남혁·홍상필·김윤지

한국식품연구원

서 론

세계적으로 식품의 방사선 조사는 허용국가 및 허용품목이 증가 추세에 있으며, 이로 인해 방사선 조사 식품의 국제교역 물량도 증가할 것으로 예상되고 있다. 식량 수입국인 우리나라의 입장에서 볼 때 제외국의 무분별한 방사선 조사 식품의 국내 유입을 억제함과 동시에 수입 방사선 조사 식품에 대한 정확한 정보를 소비자에게 제공하여 소비자 선택의 폭을 넓힐 수 있도록 방사선 조사 식품의 검지 기술 개발 및 보급이 필요하다.

본 연구에서는 DNA comet assay를 활용하여 방사선 조사 식품을 신속하게 검지할 수 있는 연구의 일환으로 현재 제외국에서 방사선 조사를 실시하고 있는 쇠고기, 돼지고기, 토끼고기를 대상으로 DNA comet 특성을 살펴보았다.

재료 및 방법

1. 방사선 조사

방사선 조사는 한국원자력연구소에서 보유하고 있는 γ -ray irradiator 조사시설을 이용하여 3~12 kGy 및 1~3 kGy까지 일정한 간격의 흡수선량을 인도록 하여 냉장보관하면서 30일 및 1주일 간격으로 실험하였다.

2. 검지 방법

- Precoated agarose gel 준비 - Methanol로 세척된 슬라이드 (76*26 mm, Marienfeld, Superior, Germany)에 0.5% normal melting point (LMP) agarose 50 μ L를 고르게 퍼 실온에서 건조시켰다.
- 세포현탁액 제조 - 잘게 채를 친 시료를 (1~2 g) bial에 칭량하여 냉각된 pH 7.4 phosphate buffered saline buffer 10 mL를 주입하고 ice bath 에서 500 rpm으로 10 분간 균질화시킨 후 이 현탁액을 200 μ m nylon sieve cloth에 통과시켜 comet 분석용으로 사용하였다.
- 단백질분해 - 세포현탁액과 LMP agarose의 1:1 혼합액 150 μ L를 precoated 슬라이드에 취

하여 커버글라스 (24*50 mm)로 고르게 퍼주고 ice-bath 상에서 세포 겔을 형성시켰다. 겔이 형성된 슬라이드는 lysis buffer (2.5% SDS in 50 mM Tris-borate, 1 mM EDTA, pH 8.4)에 5분간 침지시켜 세포의 핵막과 단백질을 용해시키고 pH 8.4 tris-borate electrophoresis (TBE) buffer에 5 분 동안 담근 후 전기영동을 했다.

· 전기영동 - TBE buffer를 채운 전기영동 수조 (AE-6133 ATTO corporation, Japan)에서 27 V/cm, 2 분간 실시하였다 (at 4°C). 전기영동 후 슬라이드는 증류수에 침전시켜 1 분간 세척하여 건조시키고 냉장상태의 fixing solution에 10 분간 침지하여 세포 겔을 고정시켜 다시 건조하였다. 슬라이드의 염색은 silver staining으로 하였으며 현미경 (BH-2 OLYMPUS, Japan)으로 100배의 비율로 DNA comet을 관찰하였다.

3. 통계처리

실험 결과의 통계분석은 SAS program을 이용하여 ANOVA 분석을 하였으며, Duncan's multiple range test에 의해 처리구간 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

방사선 조사한 쇠고기의 comet tail은 대조구 62.0 μm 보다 증가하는 것으로 나타났지만 선량에 따른 유의차는 없는 것으로 나타났다 (Fig. 1). 이는 0.5 kGy 이상에서 유의적 차이가 없었다고⁽²⁾ 발표된 기존의 내용과는 그 범위가 다소 차이가 있지만 그 유형은 어느 정도 일치하는 것으로 보인다. 쇠고기는 30일간의 저장에 따라 comet tail도 증가하는 것으로 나타났으며 그 길어도 2~3배 이상 늘어난 것으로 나타났다 (Fig. 2). 이 때의 comet은 tail이 머리부분에 살짝 붙은 채 길게 늘어져 있으며 저장을 하면서 tail이 떨어져나오는 것을 볼 수 있었다. 돼지고기 또한 comet tail이 대조구 51.0 μm 보다 증가하는 하였지만 1 kGy와 2 kGy에는 유의적 차이를 나타내지 않았다 (Fig. 3).

각 조사선량에 해당되는 comet tail의 길이는 본 연구 뿐만 아니라 기존에 발표된 결과들 마

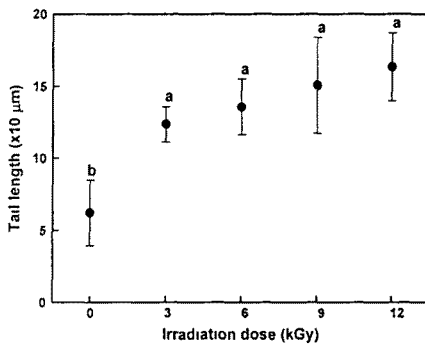


Fig. 1. Tail length of the comet from irradiation beef at different doses.

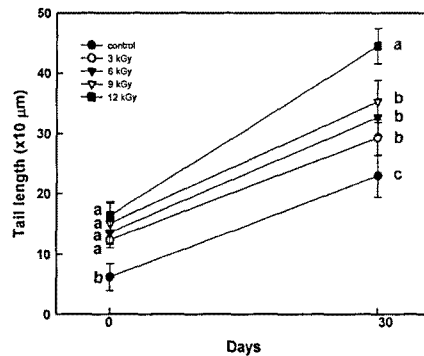


Fig. 2. Tail length of the comet from irradiation beef according to days.

다 다소 차이를 보이고 있는데 이는 세포현탁액의 제조시 발생하는 DNA 손상이나 lysis buffer의 농도 또는 전기영동의 세기 등에 나타나는 차이라고 판단된다^{1,3}. 방사선 조사 선량별로 저장기간에 따른 돼지고기의 comet tail은 3 kGy를 제외하고는 모두 증가하였으며 (Fig. 4), 이러한 결과는 방사선 조사한 토끼고기의 comet tail이 대조구를 제외하고는 변화가 없는 것과 다르게 나타났다 (Fig. 6). 또한 방사선 조사한 토끼고기는 방사선 조사한 돼지고기와 달리 조사선량에 따라 comet tail이 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다 (Fig. 5). 돼지고기의 comet size은 토끼고기보다 작으며 tail이 없는 하나의 점으로 나타나는 comet은 0 kGy에서만 확인되는 반면에 토끼고기는 comet의 size는 대체로 돼지고기보다 크고 tail이 없는 comet이 3 kGy에서도 확인할 수 있는 차이를 나타내었다.

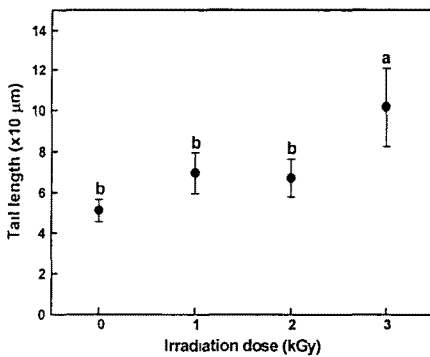


Fig. 3. Tail length of the comet from irradiation pork at different doses.

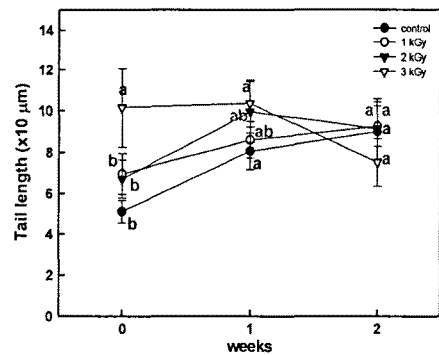


Fig. 4. Tail length of the comet from irradiation pork according to week.

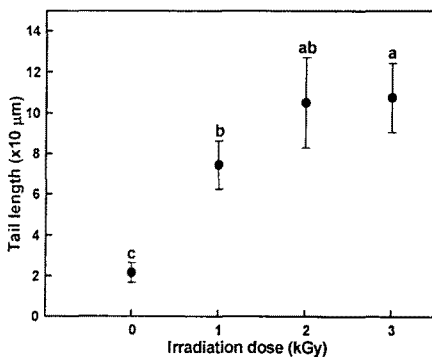


Fig. 5. Tail length of the comet from irradiation rabbit meat at different doses.

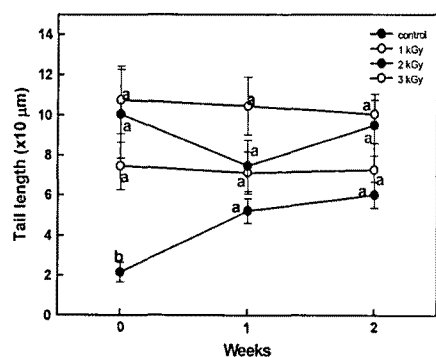


Fig. 6. Tail length of the comet from irradiation rabbit meat according to weeks.

요 약

방사선 조사한 쇠고기와 돼지고기는 방사선 조사 선량이 증가함에 따라 comet tail이 증가하나 유의적으로 증가하지는 않는다. 그러나 방사선 조사한 돼지고기에서 3 kGy를 제외한 다른 조사선량과 대조구는 저장기간이 지남에 따라 comet tail이 유의적으로 증가하였다. 반면에 방사선 조사한 토끼고기는 방사선 조사 선량이 증가함에 따라 comet tail이 유의적으로 증가하나 저장기간에 대해서는 대조구를 제외하고 유의차가 없었다.

참고문헌

1. Fairbairn D. W. et al. (1997) *Mutation Research*, 339, 452-457.
2. Park J. Y. et al. (2000) *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 29(6), 1025-1029.
3. Woon J. H. et al. (2003) *Kor. J. Vet. Publ. Hlth*, 27(4), 219-225.