

## 시중 음식점에서 판매되는 쇠고기의 유전자 분석을 이용한 한우육 감별

김진만<sup>1</sup>, 남용석<sup>2</sup>, 최지훈<sup>1</sup>, 이미애<sup>1</sup>, 정종연<sup>1</sup>, 김천제<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>건국대학교 축산식품생물공학 전공, <sup>2</sup>(주)코젠바이오텍 생명공학연구소

### 서 론

국내 사육되고 있는 한우와 젖소 중 한우의 비율이 점차 감소하는 추세이며 점차 해외에서 수입하는 수입우육의 양은 IMF 이후 꾸준히 증가하고 있는 실정이다<sup>1)</sup>. 많은 소비자가 고품질의 쇠고기를 선호하는 경향으로 바뀌면서 한우육의 소비가 증대되어 한우육과 젖소육의 가격차가 커지고 있어 한우육이 젖소육으로 둔갑되어 납품되는 적발빈도가 높아지고 있다<sup>2,3)</sup>. 이로 인해 국내에서는 한우육과 젖소육의 구별방법으로 유전자 수준의 염기변이에 근거를 둔 유전자 감식기법을 활용하여 개체간의 유전자 차이로 한우육과 유우육의 구별에 대한 연구가 많이 수행되었다<sup>4,5)</sup>. 한우와 젖소의 유전적 차이를 이용한 검사법으로 모색관련유전자(MC1R)는 소의 품종에 따라 조금씩 다른 DNA sequence를 가지고 있으므로 PCR-RFLP 분석방법을 이용하여 소의 모색변이에 관한 연구가 진행되어 왔다<sup>6,7)</sup>. 최근에는 PCR 방법보다 신속하고 높은 강도로 증폭이 되며 오염률을 줄일 수 있는 장점을 가진 real-time PCR이 점차 보급되고 있다<sup>8)</sup>. 이 방법은 기존의 방법과 달리 생육 이외에도 양념육까지도 품종 구별이 가능하며, 조리여부에 관계없이 한우육 및 젖소육의 구별이 가능한 장점도 있다.

따라서 본 연구는 시중 음식점에서 한우(생육 또는 양념육)로 유통되는 쇠고기의 DNA를 추출하여 real-time PCR을 통해서 모색유전자의 유전자 형(T-Type 또는 C-type; C/T-type)을 분석하여 한우육과 젖소육 및 수입육을 구분하는데 그 목적이 있다.

### 재료 및 방법

#### 공시재료

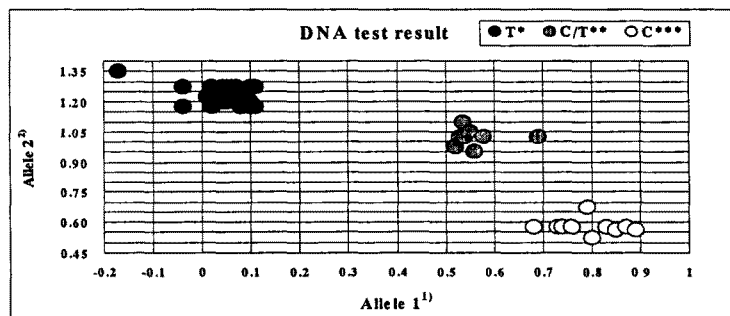
본 실험의 공시재료로는 2004년 12월 중 시중 음식점 41 개소에서 한우(생육 또는 양념육)로 판매되고 있는 쇠고기를 구입하여 이용하였다. 한우 판별 방법에 따라 표준시료(control), 젖소시료(AL I), 젖소와 한우(AL I & II) 혼합시료, 그리고 한우(AL II)시료를 각각 준비하였다.

## 실험방법

DNA 추출은 Eppendorf tube에 조직 10mg을 채취한 후 Lysis A, B buffer를 각각 400, 40 $\mu$ l를 넣고 ProK 5 $\mu$ l를 넣은 후 65 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시켰다. 동량의 Chloroform 400 $\mu$ l를 넣고 1분간 흔들어준 후, 12,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 상층액을 분리하였다. 분리한 300 $\mu$ l의 상층액에 DNA binding buffer와 iso-prophanol을 300 $\mu$ l 씩 넣고 혼합하였다. 10,000 rpm에서 1분간 원심분리하여, DNA binding column에 통과 시키고, 통과한 용액은 폐기 처리하였다. 75% ethanol 650 $\mu$ l를 DNA binding column에 넣고 10,000 rpm으로 1분간 원심분리하여 에탄올을 제거하였다. DNA binding column을 통과한 용액을 버린 후, 빈 column을 10,000 rpm으로 3분간 원심분리하여 column을 건조시켰다. 멸균 증류수 또는 TE buffer 100 $\mu$ l를 column에 넣고 상온에서 5분 이상 방치하고 10,000 rpm으로 3분간 원심분리하여 DNA를 회수하였다. PCR 반응은 분리 추출된 template DNA 10~100ng, primer mixture 2 $\mu$ l, probe mixture 1 $\mu$ l, X2 master mixture 5 $\mu$ l를 첨가하여 PCR 반응액을 총 10 $\mu$ l로 조정하였다. MC1R 유전자의 PCR 반응 조건은 GeneAmp PCR System 9600(Perkin-Elmer Cetus, USA)을 이용하였다. PCR cycle은 최초 50 $^{\circ}$ C에서 2분간 예비가열 후 초기변성(initial denaturation)을 95 $^{\circ}$ C에서 10분간 수행하였다. 그리고 변성을 위해 92 $^{\circ}$ C에서 15초간, 결합(annealing, 60 $^{\circ}$ C에서 1분)의 cycle을 총 35회 반복한 후 DNA 증폭과정을 종료하였다. PCR이 완료된 샘플을 이용하여 SNP 분석을 위하여 Real-Time PCR 7700(ABI Prism<sup>TM</sup> 7700 Sequence Detector, Applied Biosystems, Singapore)을 이용하여 Post PCR을 실행하였다.

## 결과 및 고찰

Fig. 1에서와 같이 real time-PCR을 통한 우육의 MC1R gene의 분석 결과, 한우 유전자형(T-type)은 좌측 상단에 나타나며, 젖소 또는 수입육 유전자형 중 C-type은 우측 하단부에서 나타나고 C/T-type은 중앙부에 나타났다.



\* T : MC1R Gene of Han-woo(Korean cattle) meat

\*\*C/T : MC1R Gene of Han-woo(Korean cattle), Holstein and imported cattle meat

\*\*\*C : MC1R of Holstein or imported cattle meat

<sup>1)</sup> Control sample of Holstein and imported cattle meat

<sup>2)</sup> Control sample of Han-woo(Korean cattle) meat

Fig 1. Real-time PCR analysis of MC1R gene in Han-woo(Korean cattle), Holstein or imported cattle meat.

Table 1. The summary of DNA identification by real-time PCR for beef samples of 41 restaurants

Sample No.	Type	Result	Sample No.	Type	Result	Sample No.	Type	Result
1	T <sup>1)</sup>	Korean cattle	15	T	Korean cattle	29	T	Korean cattle
2	C/T <sup>2)</sup>	Holstein	16	T	Korean cattle	30	T	Korean cattle
3	T	Korean cattle	17	T	Korean cattle	31	C/T	Holstein
4	T	Korean cattle	18	C	Holstein	32	T	Korean cattle
5	T	Korean cattle	19	C/T	Holstein	33	T	Korean cattle
6	T	Korean cattle	20	C	Holstein	34	T	Korean cattle
7	T	Korean cattle	21	T	Korean cattle	35	C	Holstein
8	T	Korean cattle	22	T	Korean cattle	36	T	Korean cattle
9	T	Korean cattle	23	T	Korean cattle	37	T	Korean cattle
10	C <sup>3)</sup>	Holstein	24	C/T	Holstein	38	T	Korean cattle
11	T	Korean cattle	25	T	Korean cattle	39	T	Korean cattle
12	T	Korean cattle	26	C/T	Holstein	40	C	Holstein
13	T	Korean cattle	27	C	Holstein	41	C	Holstein
14	T	Korean cattle	28	T	Korean cattle			

<sup>1)</sup>T : MC1R Gene of Han-woo(Korean cattle) meat

<sup>2)</sup>C/T : MC1R Gene of Han-woo(Korean cattle), Holstein and imported cattle meat

<sup>3)</sup>C : MC1R of Holstein or imported cattle meat

한우육 만을 판매한다는 시중 음식점 41개소에서 2004년 12월 중 쇠고기(생육 또는 양념육)를 수거하여 분석한 결과(Table 1), 분석된 41개의 시료 중 29개가 한우 유전자형(T-type)으로, 12개의 시료가 젖소 또는 수입육 유전자형(C/T-type or C-type)으로 판별되었다. 그러나 본 연구 결과에서도 나타났듯이 전체 조사대상 시중 음식점(41개소) 중 29개 업소(약 70%)는 ‘한우육’을 정상적으로 판매한 것으로 검사되었으며, 현재 육류의 복잡한 소비·유통 구조를 감안할 때 시중 음식점에서도 육류의 지입 시 중간 유통업체가 제공하

는 서류검사에만 그칠 것이 아니라, 공급받고 있는 육류의 정기적인 유전자(DNA)검사 등 보다 적극적이고 능동적인 방법을 통해 보다 안전하고 믿을 수 있는 '한우육'을 확보함은 물론 정부에서 적극 추진하는 '식육 원산지 표시제'의 조기 정착과 아울러 우리나라 한우산업의 발전과 소비자의 알 권리 충족 및 안전한 식탁의 확보라는 중대한 목표를 달성하기 위해 다각적인 노력을 기울여야 할 것으로 사료된다.

## 요 약

본 실험은 시중에서 한우로 유통되는 쇠고기(생육 또는 양념육)의 DNA를 추출하여 real-time PCR을 통해서 모색유전자의 유전자 형(C-type, C/T-type or T-type)으로 한우육과 젓소육 및 수입육을 구분하였다. 한우육 만을 판매한다는 시중 음식점 41개소에서 쇠고기(생육 또는 양념육)를 수거하여 분석한 결과, 분석된 41개의 시료 중 29개가 한우 유전자형으로, 12개의 시료가 젓소 또는 수입육 유전자형으로 판별되었다. 따라서 분석된 시료들의 한우육(T-type) 비율은 70.7%, 그리고 젓소육 또는 수입육 비율은 29.3%(C/T-type; 12.2%, C-type; 17.1%)이었다.

## 감사의 글

본 연구는 서울 YWCA(서울여자기독교청년회)의 시료 제공 및 연구비 지원으로 수행되었으며, 본 연구를 수행함에 있어서 분석에 도움을 주신 (주)코젠바이오텍에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

1. (사)한국육류수출입협회. (2004) 쇠고기 수입현황. <http://www.kmta.or.kr>
2. 이해원. (2004) 강원일보. 2004. 6. 26.
3. 장기우. (2005) 동아일보. 2005. 1. 13.
4. Chung, E.R. et al. (2002) *Korean J. Anim. Sci.* 44(2):181~190.
5. Han, S. H. et al. (1993) *Korean J. Anim. Sci.* 35(4):329~334.
6. Klungland, H. et al. (1995) *Mamm Genome.* 6:636~639.
7. Marklund, L. et al. (1996) *Mamm. Genome.* 7:895~899.
8. Mackay, I. M. et al. (2002) *Nucleic Acids Res.* 30(6):1292~1305