유전자변형 콩의 검정법

김영미* · 손성한 · 정순일[1] · 윤문섭[2] · 김태산 · 박용환

농업생명공학연구원 유전자제어공학과, [1]국립농산물품질관리원 시험연구소, [2]농업생명공학연구원 유전자원과

(2002년 1월 2일 접수, 2002년 10월 21일 수리)

우리나라의 유전자변형농산물 의무 표시제가 시행됨에 따라 수입 유전자변형농산물 중 유전자변형 콩의 혼입유무를 판별할 수 있는 검정기술 개발이 요구되고 있다. 근사미(glyphosate) 제초제에 저항성을 나타내는 토양미생물인 *Agrobacterium* CP4 유래의 5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate synthase(EPSPS) 유전자의 도입여부를 PCR로 진단할 수 있는 특이프라이머를 제작하여 제초제저항성 콩(Roundup Ready Soybean, RRS)을 검정할 수 있는 PCR 조건을 확립하였으며 콩의 내재유전자인 lectin 유전자와 RRS 특이 프라이머를 이용하여 duplex PCR에 의한 제초제저항성 콩의 검정법을 확립하였다. 또한 수입 콩 및 콩나물에 대하여 근사미 제초제 처리로 저항성 개체를 판별하는 생물검정법도 확립하여 저항성 개체의 잎에서 분리한 genomic DNA에 대하여 EPSPS 특이 프라이머를 이용하여 분석한 결과 RRS 특이적인 PCR 밴드를 확인하였다. 또한 수입 콩의 백립중과 종실의 제색을 고려할 때 단일품종이 아닌 여러 품종이 혼합되어 있음을 확인하였다.

Key words: 유전자변형 콩, 제초제저항성, glyphosate, 생물검정, PCR, 정성분석

서 론

최근 유전자변형 작물의 재배가 급증함에 따라 국내에도 유전자변형농산물의 수입이 급증하고 있으며 소비자의 알 권리 제공취지로 금년부터 유전자변형농산물 및 식품에 대한 표시제가 시행됨에 따라 유전자변형농산물의 검정법 확립이 요구되었다. 현재 수입 · 유통되는 유전자변형농산물 중 제초제 저항성 콩은 근사미 제초제의 주성분인 glyphosate에 대한 저항성을 갖는 것이 대부분으로 토양미생물인 *Agrobacterium* CP4 유래의 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase(EPSPS) 유전자가 도입되어 있다.

Glyphosate 제초제는 당으로부터 방향족 아미노산을 합성하는 대사과정에서 shikimate-3-phosphate가 5-enolpyruvyl-shikimate-3-phosphate(EPSP)로의 변환을 촉매하는 식물체의 EPSPS 효소의 저해제로 작용한다. 그런데 토양세균인 *Agrobacterium* CP4 균주는 glyphosate에 내성을 가지므로 이 CP4 유래의 EPSPS 효소유전자를 콩에 형질전환하여 glyphosate 저항성을 유도함으로써 제초제 저항성 콩(Roundup Ready Soybean, RRS)이 개발되었다.[1)] 이 RRS는 1996년 이후 현재에 이르기까지 다양한 품종으로 미국에서 재배되는 콩의 60% 이상을 차지하고 있으며 국내에서도 식품으로서의 안전성이 승인됨에 따라 상품화가 가능하며 이미 수입 · 유통되고 있는 실정이다[2)]. 따라서 유전자변형농산물 및 식품에 대한 검정법 확립과 동시에 실제 유전자변형농산물 및 식품의 표시에서 적용 가능한 검사법의 표준화가 요구되고 하다. 국내뿐만이 아니라 국제적으로도 유전자변형농산물 및 식품에 대한 검사법의 개발 및 표준화 연구가 활발히 이뤄지고 있으며 스위스와 독일에서는 식물의 유전자 발현조절부위인 cauliflower mosaic virus (CaMV) DNA의 35S 프로모터와 nopaline synthase(Nos) 유전자의 terminator를 검출하는 프라이머를 이용한 PCR 방법이 국가표준분석법으로 채택된 바 있으나 아직 국제적으로 표준화된 검사방법은 없는 실정이다.[3)] 본 연구에서는 우리나라의 농산물 변형농산물에 대한 표준분석법으로 채택된 polymerase chain reaction(PCR)을 이용한 유전자변형 콩의 검정법과 제초제 살포에 의한 유전자변형 콩과 콩나물의 생물검정법(bioassay)을 확립한 결과와 함께 실제 수입되고 있는 콩의 혼종 여부도 조사하여 보고한다.

*연락저자
Phone: 82-31-299-1693; Fax: 82-31-299-1692
E-mail: ymk1205@rda.go.kr

재료 및 방법

재료 및 전처리. 콩(*Glycine max*)은 미국 몬산토회사에서 제공한 제초제 저항성 콩 AG2702와 대비품종으로 비형질전환(non GM) 콩 A3244의 두 품종의 종자를 마쇄하거나 발아시켜 사용하였다. 수입 콩의 특성조사에 사용한 콩은 1997년 미국산이며 1998년 국내로 농산물유통공사를 통하여 수입된 3종을 사용하였다. 국내산 non GM 콩은 장류콩인 황금콩과 소립종으로 콩나물용 콩인 은하콩을 농업과학기술원 유전자원과 종자은행으로부터 분양받아 이용하였다. 시료조제를 위해 콩나물은 AG2702 및 A3244 종자를 각각 젖은 페이퍼타올 위에 올려 놓고 공기가 잘 통하도록 구멍을 뚫은 높이 25 cm, 두께 0.2 mm 정도의 비닐을 이용하여 잘 말아 세워 5 cm 정도 높이의 물에 잠기도록 하여 25°C 암조건에서 재배한 후, 물로 잘 세척하여 60°C에서 하룻밤동안 건조한 후 마쇄하여 DNA 분리에 사용하였다.

시료의 마쇄는 종자 또는 건조시료를 분쇄기(miller)를 이용하여 가능한 미세하게 분쇄하고 분쇄 후의 분말시료는 40 mesh

(망목 500 μm)의 체를 통과시켜 동일한 입자크기와 균질성을 확보하였다.

DNA 추출법. 콩 또는 콩나물 건조 시료 100 mg을 2 ml 튜브에 넣고 800 μl의 cetyltrimethylammoium bromide(CTAB) 완충용액과 RNase(10 mg/ml) 3 μl를 첨가하여 균질하게 섞이도록 vortex로 혼합한 후, 65℃ 수조에서 30분~1시간 항온 처리하였다. CTAB 완충용액은 DNA 추출용액(6.375%(w/v) sorbitol, 0.1 M tris, 0.05 M EDTA-Na_2)과 nuclei lysis buffer (2% CTAB, 1 M tris, 0.25 M EDTA, pH 8.0)를 동량으로 혼합한 후 1%(w/v) sarcosyl, 0.01%(w/v) sodium bisulfite 농도가 되도록 사용 직전에 첨가하여 사용직전에 65℃에서 보온하여 사용하였다. 항온처리 후 phenol : chloroform : isoamyl alcohol (25 : 24 : 1) 용액 800 μl을 넣고 실온에서 5분간 rotary shaker 등을 이용하여 혼합한 후 실온에서 10분간 12,000 × g로 원심 분리한 다음 새로운 튜브에 상징액만 옮겨 동일한 양의 chloroform : isoamyl alcohol (24 : 1) 혼합액을 넣은 후 실온에서 10분간 rotary shaker로 혼합하였다. 혼합된 시료는 실온에서 10분간 12,000 × g으로 원심 분리하여 그 상징액을 새 튜브에 옮긴 후, 동량의 isopropanol을 넣고 5분간 rotary shaker 등을 이용하여 잘 혼합한 후 가볍게 spin down한 후 상징액을 버리고 DNA pellet을 취하였다. DNA 침전물에 70% 에탄올 500 μl를 넣고 DNA 침전물을 세척한 후 4℃에서 5분간 12,000 × g로 원심분리하여 상징액을 버린 후 남아있는 에탄올을 풍건 또는 진공 건조시킨 다음 멸균증류수 50 μl를 넣어 DNA를 녹인 후 사용하였다.[5]

PCR 분석. PCR에 사용한 PCR 완충용액 및 Taq DNA polymerase는 (주)바이오니아에서 시판하는 2×PCR premix를 이용하였다. PCR은 DNA 50 ng을 주형으로 RRS 특이 프라이머인 35S2A와 CTP5A(Table 1)를 50 ng씩 첨가하여 전체 20 μl의 반응액으로 94℃에서 5분간 열변성 반응 후, 94℃에서 30초, 58℃에서 30초, 72℃에서 30초간의 반응을 30회 실시하였다. PCR 후의 산물은 2% 아가로스 젤 전기영동하고 CCD 카메라로 촬영하였다. RRS내 도입된 전체 유전자를 PCR 클로닝하기 위하여 CaMV 35S 프로모터 및 EPSPS 유전자의 3' 말단부위의 프라이머(Tabel 1)를 이용하여 94℃에서 30초, 58℃에서 2분, 72℃에서 3분간의 반응을 35회 실시하였다. Nested PCR은 1.7 kb-PCR 산물 1 μl을 주형으로 35S2A와 CTP5A를 50 ng씩 첨가하여 전체 20 μl의 반응액으로 94℃에서 5분간 열변성 반응 후, 94℃에서 30초, 58℃에서 30초, 72℃에서 30초간의 반응을 30회 실시하였다. PCR 기기는 GeneAmp® PCR system 9700(Applied Biosystems, USA)를 사용하였다.

염기서열분석. RRS내 도입된 전체 유전자를 포함한 PCR 산물과 RRS 특이 프라이머를 이용한 PCR 산물은 각각 pGEM-T easy vector(Promega, USA)에 삽입하였다. BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit(Applied Biosystems, USA)를 이용하여 염기서열분석기기 ABI PRISM 310 Genetic Analyzer(Applied Biosystems, USA)로 염기서열을 결정하였다.

생물검정. 제초제저항성 콩 및 non GM 콩 각각 500립과 제초제저항성 콩으로 만든 콩나물 및 non GM 콩나물 500 g을

Table 1. List of primers

Primer	Sequence	Reference
35S2A	5'-ATGACGCACAATCCCACTATC-3'	This study, 1
CTP5A	5'-GGCTGTAGCCACTGATGCTGA-3'	This study, 1
EPSPS 3'	5'-GGCAGCCTTCGTATCGGAGAGTTC-3'	This study, 1
Le1 n-5'	5'-GCCCTCTACTCCACCCCCATCC-3'	3, 5
Le1 n-3'	5'-GCCCATCTGCAAGCCTTTTTGTG-3'	3, 5

원예용 상토를 넣은 파종상자(가로 60 cm×세로 50 cm×높이 10 cm)에 균일하게 파종 또는 이식하여 25℃ 내외의 온실에서 재배하였다. 콩은 출현 후, 콩나물은 이식 후 10일이 되면 라운드업(glyphosate) 액제를 물로 희석하여 1%로 조제한 100 ml의 라운드업 제초제를 500개체에 엽면 살포하였다. 살포 10일 후 저항성과 감수성 여부를 확인하였다.

결과 및 고찰

RRS 도입 전체 유전자의 분리. RRS에 도입된 제초제저항성 유전자를 PCR 분리하기 위하여 RRS의 특허정보로부터 제초제저항성 유전자(EPSPS)의 발현조절부위가 꽃양배추 모자이크 바이러스(cauliflower mosaic virus, CaMV)의 35S 프로모터와 nopaline synthase(NOS)의 터미네이터로 구성되어 있음을 확인하였다.[1] Table 1에 명시한 CaMV 35S 프로모터에 특이적인 21염기로 구성된 35S2A 프라이머와 EPSPS의 open reading frame의 3' 말단에 특이적인 EPSPS 3' 프라이머(24염기)를 이용하여 PCR을 수행하였다. PCR 산물의 크기는 약 1.7 kb였으며 염기서열 분석으로 Fig. 1에서와 같이 CaMV35S 프로모터 영역일부와 페추니아 EPSPS 유전자의 엽록소 전이 펩티드

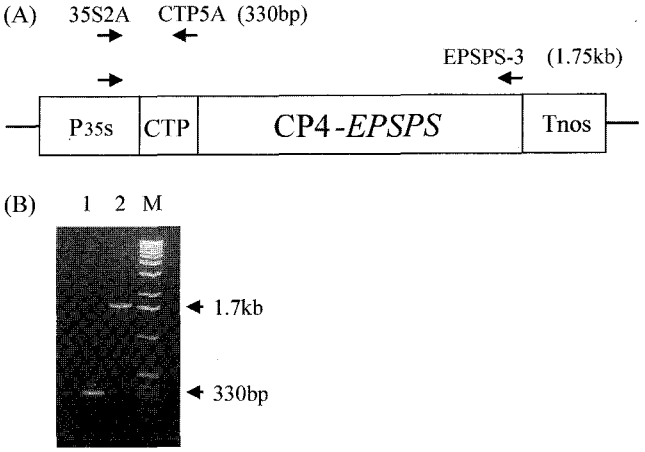

Fig. 1. Schematic diagram of transgene and designed PCR primers for RRS (A) and PCR products amplified from RRS by PCR and nested PCR technique (B). (A) Arrows indicate the position and direction of PCR primers using for detection of RRS in this study. The expected sizes of PCR products are indicated in parentheses. (B) Agarose gel electrophoresis of PCR products amplified by primers of 35S2A and EPSPS-3' primers and RRS DNA as template DNA (lane 2) and primers of 35S2A and CTP5A and 1.7 kb-PCR products as template DNA by nested PCR analysis (lane 1), respectively. PCR products (10 μl) were analyzed on a 1.5% (w/v) agarose gel containing 0.5 μg/ml of ethidium bromide. M indicates 1-kb DNA ladder (Gibco BRL).

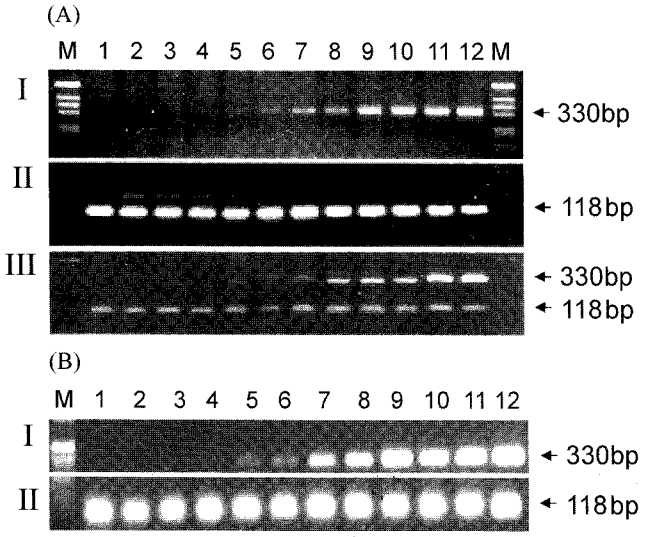

Fig. 2. Sensitivity analysis of PCR for detection of various amounts of RRS (A) and RRS sprouts (B). PCR products amplified from soybean and soybean sprout DNA containing various amounts of RRS using primer pairs of 35S2A-CTP5A (I), Le1 n-5'-Le1 n-3' (IC), and two primer pairs (III) of (I) and (IC). (A) Lane 1: non GM soybean, lanes 2-12: 0.01%, 0.05%, 0.1%, 0.5%, 1%, 2%, 5%, 10%, 20% and 100% RRS, respectively, M: 1-kb DNA ladder. (B) Lane 1: non GM soybean sprouts, lanes 2-12: 0.01%, 0.05%, 0.1%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, and 100% RRS sprouts, respectively, M: 1-kb DNA ladder.

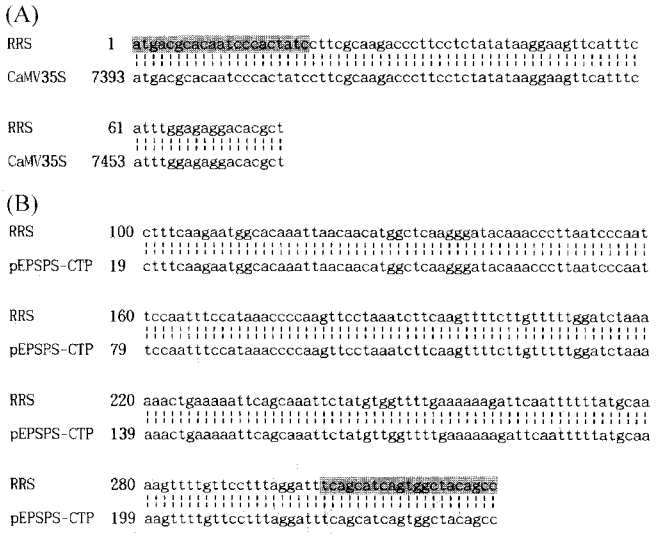

Fig. 3. Homology of nucleotide sequences of PCR products amplified from RRS. (A) and (B) show the homology of nucleotide sequences of the cauliflower mosaic virus 35S promoter (GenBank accession number AF140604) and the chloroplast transit peptide derived from the *Petunia hybrida* EPSPS (GenBank accession number M21084), respectively. Upper sequences indicate the nucleotide sequences of PCR products analyzed in this study. The shadowed boxes indicate the oligonucleotide sequences of 35S2A- and CTP5A-primers for detection of RRS.

EPSPS 유전자 전체가 분리되었음이 확인되었고 또한 RRS 특허정보의 페추니아 EPSPS-CTP 유전자와 CP4-EPSPS 유전자의 염기서열과도 일치하는 결과를 얻었다(결과 미제시).

RRS 특이 PCR 프라이머 디자인 및 특이성(specificity). RRS의 특이적인 PCR 프라이머를 제작하기 위하여 RRS에 도입된 유전자 중 두 가지 생물계 유래의 유전자에 대한 특이 프라이머를 설계함으로써 RRS에 대한 프라이머 특이성을 높이고자 하였다. 따라서 RRS에 도입된 유전자 중 CaMV 유전자와 페추니아의 EPSPS-CTP 유전자에 대하여 각각 정방향 프라이머 35S2A와 역방향 프라이머 CTP5A를 하였다(Fig. 1A). Non GM 콩과 RRS 콩으로부터 분리한 DNA를 각각 주형으로 35S2A 및 CTP5A 프라이머를 이용하여 PCR한 결과 Fig. 2에서와 같이 RRS DNA를 주형으로 한 경우에 330 bp의 밴드가 검출이 되었고 non GM 콩 DNA를 주형으로 한 경우에는 검출되지 않았다. 또한 동일 프라이머를 이용하여 1.7 kb의 PCR 산물을 주형으로 한 nested PCR 에서도 330 bp의 PCR 산물이 검출되었다(Fig. 1). 35S2A와 CTP5A 프라이머를 이용한 RRS 특이 유전자단편의 염기서열을 분석한 결과 PCR 산물의 크기는 330 bp로 RRS 특허정보의 CaMV 35S 프로모터와 EPSPS-CTP 유전자의 염기서열과 완전히 일치함을 확인하였다(Fig. 3). 또한 PCR 대조구로 콩의 내재유전자인 lectin 유전자의 특이 프라이머(Table 1)를 이용한 경우에는 RRS 및 non GM 콩 양쪽 모두에서 118 bp로 예상되는 lectin 유전자 특이 DNA 밴드가 검출되었다(Fig. 2). 이러한 결과는 35S2A와 CTP5A가 RRS에 특이적인 PCR 프라이머로서 PCR을 이용한 RRS 검정에 효과적으로 사용할 수 있음을 시사한다.

RRS 특이 프라이머의 감도(sensitivity). RRS 특이 프라이머인 35S2A와 CTP5A의 검출감도를 조사하기 위하여 non GM 콩과 RRS로 분리한 DNA를 혼합하여 RRS 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100%와 non GMO 즉, 0% RRS의 DNA를 조제하여 PCR을 하였다. Fig. 2와 같이 RRS 특이적인 330 bp의 PCR 산물은 0.1% RRS까지 검출이 가능하였고 콩 내재유전자인 lectin 특이 PCR 산물인 118 bp의 밴드는 non GM 콩 및 여러 비율로 혼합된 각각의 RRS DNA에서 모두 동일하게 검출되었다. 또한 RRS 및 lectin 특이 프라이머를 동시에 적용한 duplex PCR에서도 0.5%까지 RRS 특이 밴드의 검출되었다. 콩나물의 경우에는 RR 콩나물과 non GM 콩나물의 건조분말을 혼합하여 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 10%로 조제한 후 각각의 DNA를 추출하여 PCR을 수행하였다. 콩나물의 경우에도 0.1% RR 콩나물까지 RRS 특이 PCR 산물인 330 bp의 DNA 밴드 검출되었다. RRS 특이 프라이머의 PCR 검출감도는 DNA 추출방법에서 본 연구의 CTAB법을 다소 변형하여 실리카겔 resin 또는 membrane 등을 이용하여 고순도로 정제하여 얻은 콩 DNA에서는 0.01%까지 검출이 가능하였다(결과 미제시).[5] 이러한 PCR 검출 감도는 PCR에 사용한 DNA의 순도 및 양, 프라이머의 특이성에 따라 다르게 나타나며 고감도 검출의 경우 0.01%까지 검출이 가능함이 보고된 바 있다.[4]

제초제 처리에 의한 RRS의 생물검정. 근사미(glyphosate) 제초제의 주성분인 glyphosate 제초제를 이용하여 저항성인 콩과 콩나물을 검정하기 위하여 원예용 상토에 콩은 파종하고 콩나물은 이식하였다. 콩은 출현 후, 콩나물은 이식 후 약 10일이 지나면 초엽이 발달한 상태가 되며 3복엽의 본엽이 초기생

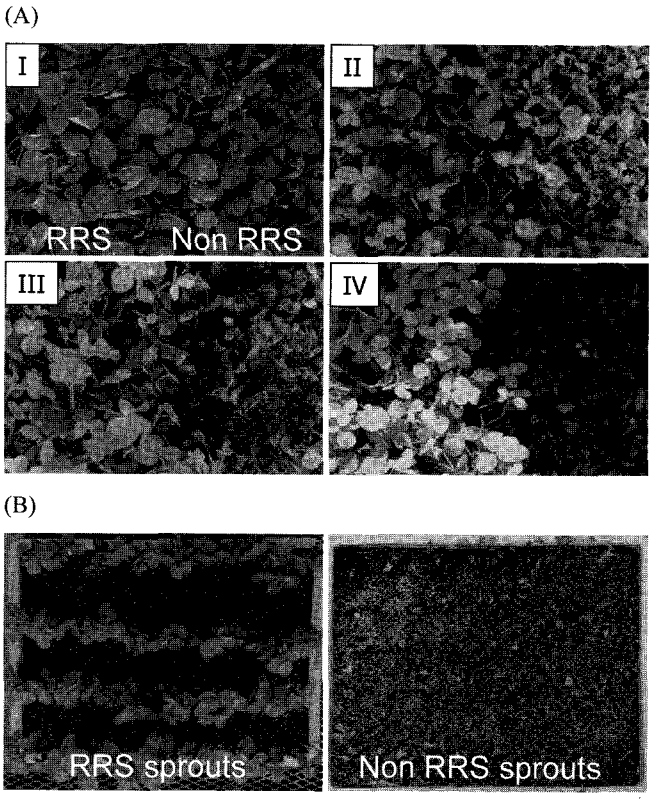

Fig. 4. Glyphosate-tolerance test. (A) The RRS and non-RRS plants were grown for 2 days (I), 5 days (II), 7 days (III), and 10 days (IV) after spray with 1% (w/v) glyphosate. (B) RRS (left) and Non-RRS (right) sprouts were grown for 10 days after transplantation to soil-pot and sprayed with 1% (w/v) glyphosate and grown for further 10 days.

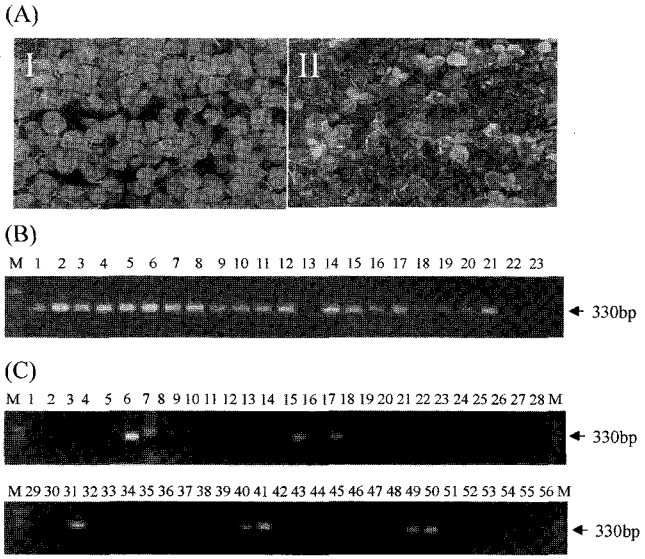

Fig. 5. Detection of RRS among soybeans imported from USA. (A) Positive control of RRS (left) and imported soybean plants (right) were monitored by glyphosate-tolerance test. (B) PCR analysis of glyphosate-tolerant plants. Lane 1-21: glyphosate-tolerant soybean plants, lane 22: Hwanggum, lane 23: Eunha. (C) PCR analysis of imported soybean from USA. DNAs were extracted from each grain of Hanjin-, Full beauty- and Nachanari-imported soybeans. Lane 1: Hwanggum, lane 2: Eunha, lane 3-20: Hadrian, lane 21-39: Full beauty, lane 40-56, M: 1-kb DNA ladder.

육단계를 나타내는 지점에서 제초제를 처리하였다. 처리결과는 1% glyphosate 제초제를 잎 전체에 골고루 살포한 후 3~4일부터 제초제의 효과가 나타나기 시작하였으며 10일이 지나면서 제초제 저항성과 감수성을 뚜렷이 확인할 수 있다(Fig. 4). 이와 같은 제초제 처리에 의한 생물검정 방법은 제초제 처리전의 전체 발아 개체수에 대하여 제초제 처리 후의 저항성 개체수의 비율로부터 GMO의 혼입율 산출이 가능하므로 저비용으로 GMO 혼입률을 확인하거나 유전자변형 콩의 모니터링에 이용이 가능할 것으로 생각되었다.

미국산 수입 콩의 특성 조사. GM 콩과 non GM 콩을 구분 유통하지 않고 미국으로부터 수입할 경우 제초제 저항성 콩이 포함될 것으로 예상된다. 본 연구에서는 구분유통하지 않고 수입된 1997년산 미국 수입 콩 일부에 대하여 PCR, 생물검정뿐만 아니라 백립중 및 제색 등의 종실 특성 조사를 통하여 제초제 저항성 콩의 혼입유무와 동시에 품종에 대한 혼종 유무를 조사하였다. 대비품종으로는 국내산 소립종의 나물용 콩인 은하콩과 장류(醬類)콩인 황금콩을 이용하여 수입 콩과 비교하였다. 1997년산 미국 수입 콩을 파종하여 정상적으로 출현한 360개체에 제초제를 처리한 결과 21개체가 저항성을 나타냈으며 이들 식물체의 잎으로부터 분리한 DNA에서도 PCR에 의해 RRS 특이 밴드를 확인하였다(Fig. 5). 또한 한진, 풀뷰티, 나차나리 3종의 수입 콩으로부터 낱알 단위로 각각의 DNA를 분리하여 RRS 특이프라이머를 이용하여 PCR 분석한 결과, 3종으로부터 모두 제초제저항성 유전자가 검출되었다(Fig. 5). Table 2는 수입 콩의 종실특성과 발아율 등을 나타낸 것으로 발아율은 78~90% 정도로 나타났고, 100립중은 대비품종으로 대립종인 황금콩은 25 g, 소립종인 은하콩은 12 g임에 비하여 수입 콩은 14.6~16.2 g으로 중 · 소립종인 경향을 나타냈다. 또한 제색

Table 2. Characteristics of soybeans imported from USA

Soybean		Normal seed percentage (%)	100-seed weight (g)	Moisture content (%)	Germination percentage (%)	Hilum color (%)		
	Variety					Black	Brown/Light brown	Yellow
Import	Hanjin	81.7	14.6	10.4	78	77	23	0
	Full Beauty	98.7	16.2	10.6	90	75	25	0
	Nachanari	94.3	15.2	11.4	82	74	26	0
Domestic	Hwanggum	100	25.0	9.7	100	0	0	100
	Eunha	100	12.0	9.2	100	0	0	100

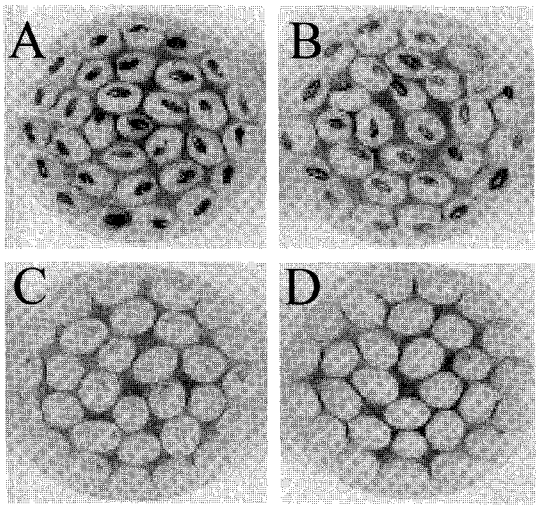

Fig. 6. Hilum color of soybean imported from USA. (A) Black. (B) Brown. (C) Light brown. (D) Yellow.

은 대비품종으로 이용된 콩은 모두 황색임에 비하여 수입 콩은 검정색, 갈색, 황색 등으로 다양하게 나타났다(Fig. 6). 이는 여러 품종이 혼종되어 수입되고 있음을 나타내는 것으로서 앞으로 국산콩의 육종방향을 유색종피이며, 극소립 및 극대립종으로 추진한다면 수입 콩과 차별화할 수 있는 하나의 방법으로서 고려될 수 있을 것이다.

참고문헌

1. Barry, G. F. (1997) Glyphosate-tolerent 5-enolpyruvyl shikimate -3-phosphate synthase. U.S. Patent 5,633,435.
2. James, C. (2000) Global status of commercialized transgenic crops: 2000. ISAAA 21-2000.
3. Koppel, E., Stadler, M., Luthy, J. and Hubner, P. (1997) Sensitive method for the detection of the genetically engineered soy bean "Roundup Ready™". Mitt. Geliete Lebensm. Hyg. **88**, 164-175.
4. Matsuoka, T., Kawashima, Y., Akiyama, H., Miura H., Goda Y, Sebata, T., Kenji, Isshiki, K., Toyoda, M. and Hino, A. (1999) A detection method for recombinant DNA from genetically modified soybeans and processed foods containing them. *J. Food Hyg. Soc. Japan* **40**, 149-157.
5. Hwang, S. K. and Kim, Y. M. (2000) A simple and reliable method for preparation of cross-contamination-free plant genomic for PCR-based detection of transgenes. *J. Biochem. Mol. Biol.* **33**, 537-546.

Detection Methods for Genetically Modified Soybeans

Young-Mi Kim*, Seong-Han Sohn, Soon-Il Jeong[1], Mun-Sup Yoon[2], Tae-San Kim and Yong-Hwan Park (*Division of plant Biotechnology, [2]Division of Genetic Resources, National Institute of Agricultural Biotechnology, Kyeonggi-do 441-100, Korea; [1]Experiment and Research Institute, National Agricultural Products Quality Management Service, Seoul 150-043, Korea*)

Abstract: Along with the worldwide rapid increase of the cultivation area and commercial production of genetically modified (GM) crops, the amount of GM grains imported to Korea has also been increasing. Roundup-Ready soybean (RRS) was introduced with 5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) gene derived from *Agrobacterium* CP4 to confer the resistance to herbicide, glyphosate. In this study, we tried to develop PCR-based analytical method to detection the presence of RRS among non-GM soybeans. In order to detect RRS specifically, oligonucleotide primers were specifically designed based on the nucleotide sequence of EPSPS transgene. Qualitative PCR method was established and its specificity and accuracy were confirmed by analysing the nucleotide sequence of PCR DNA fragments. Bioassay was also conducted by spraying glyphosate at seedling stage. Survived individuals showed obvious resistance to Roundup Ready, however all of non-GM seedlings died in two weeks after spray. Conclusively, the highly selective detection systems for RRS were successfully established by both PCR using specific primers to EPSPS transgene and bioassay using the herbicide resistance of RRS. In addition to, the imported soybean showed to be mixed to several varieties regarding to 100-seed weight and hilum color.

Key words: genetically modified soybean, herbicide-tolerance, glyphosate, bioassay, PCR, qualitative analysis
*Corresponding author