

효소면역측정법을 이용한 유전자재조합 콩과 콩나물의 분석

곽보연 · 고승희 · 신원선 · 손동화*
 한국식품개발연구원 식품기능연구본부

Analysis of Genetically-Modified Soybean and Soybean Sprout by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Bo-Yeon Kwak, Seung-Hee Ko, Won-Sun Shin and Dong-Hwa Shon*
 Food Function Research Division, Korea Food Research Institute

It was determined whether the sandwich ELISA using specific anti-CP4 EPSPS polyclonal and monoclonal antibodies, developed in the previous study, could be applied to detect GM soybean or not. The soybeans (47 imported and 20 domestic soybeans) were analyzed by a sandwich ELISA. The results of imported soybeans were divided into two groups which were high contents ($39.1 \pm 13.5 \mu\text{g/g}$, $n = 33$) and low contents of CP4 EPSPS ($2.6 \pm 1.2 \mu\text{g/g}$, $n = 14$). The ratio of GM in imported soybeans was about 70.2%. On the other hand, the contents of CP4 EPSPS in domestic soybeans was very low ($0.9 \pm 0.5 \mu\text{g/g}$, $n = 20$) which determined to be non-GM soybeans. In case of soybean sprouts, the contents of CP4 EPSPS in soybean sprouts were different between GM and non-GM soybean sprout. The CP4 EPSPS in cotyledon of GM soybean sprout was higher than that in root hair. The contents of CP4 EPSPS in soybeans sprout of domestic soybeans were very low. Thus, it was possible to determine that the soybeans sprout was made of GM or non-GM soybeans. Also, PCR experiment showed that the sandwich ELISA was accurate to distinguish the soybeans to be GM or non-GM. These results showed the sandwich ELISA could determine the soybeans were GM or non-GM, rapidly and simply.

Key words: GM soybeans, sandwich ELISA, CP4 EPSPS

서 론

미국 몬산토사가 1995년 제초제 저항성 유전자재조합 콩을 상품화하면서 genetically modified organism(GMO)이 일반에 알려지기 시작했다. 제초제 저항성 유전자 재조합 콩은 토양 미생물인 *Agrobacterium* sp. strain CP4의 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase(CP4 EPSPS) 유전자를 콩의 게놈에 유전공학적으로 삽입하여 제초제인 glyphosate에 내성을 가지게 한 식물이다. CP4 EPSPS는 다른 작물 예를 들면 목화, 옥수수 등에 도입되어 제초제 저항성 목화 및 옥수수를 생산하는 데 이용되었을 뿐만 아니라 다른 농산물에도 도입되었다⁽¹⁻⁶⁾. 제초제 저항성 농작물은 그 생산성의 향상과 생산의 편리성으로 점차 생산이 늘어나고 있는 실정이다.

이와 같이 GM 농산물의 생산이 증대되고 있고 또한 이의 수입이 증가되면서 우리 나라에서 소비되는 GM 농산물의

증가가 뒤따르고 있다. 특히 GM 콩은 직접 우리 국민들의 먹거리로 제공되면서 allergy와 같은 국민 건강에 밀접한 문제점들이 대두될 가능성이 있다. 따라서 GM 콩 여부의 검사를 경제적이고 빠르고 효율적으로 수행할 수 있는 검사 방법의 필요성이 점차 늘어나고 있다. 현재 이들 GM 콩의 검사는 크게 두 가지로 하나는 삽입된 유전자를 polymerase chain reaction(PCR) 방법으로 판별해 내는 방식과 CP4 EPSPS에 대한 특이 항체를 이용한 효소면역측정법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 방식이 있다⁽⁷⁻⁹⁾. 일반적으로 ELISA 방식은 시료 중 검출감도가 높고 시료분석 시간이 짧으며 많은 시료를 동시에 분석할 수 있는 장점을 가지고 있다. 제초제 저항성 콩의 경우 외국에서 ELISA에 의해 검출한 연구 보고가 있으나 우리 나라에서는 아직 ELISA에 의한 검출 보고가 없었다⁽¹⁰⁾. 그래서 앞선 연구에서 CP4 EPSPS의 신속하고 효율적인 검출을 위해 CP4 EPSPS에 대한 특이 다클론 및 단클론항체를 생산하였고 이들을 조합하여 CP4 EPSPS의 검출한계가 0.02 $\mu\text{g/mL}$ 의 좋은 검출 감도를 가지는 sandwich ELISA를 개발하였다⁽¹¹⁾.

본 연구에서는 앞선 연구에서 개발한 sandwich ELISA를 이용하여 실제 시료인 수입산 콩 및 국산 콩에 대하여 CP4 EPSPS의 함량을 측정함으로써 경제적이고 간편하게 또한 효

*Corresponding author: Dong-Hwa Shon, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Songnam-si, Kyonggi-do 463-420, Korea
 Tel: 82-31-780-9133
 Fax: 82-31-780-9876
 E-mail: dhs95@kfri.re.kr

과적으로 GM 콩의 여부를 판단 하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

Thimerosal(mercury[(carboxyphenyl) thio]ethyl sodium salt), 코팅 완충액으로 TRIZMA[®] PRE-SET CRYSTALS [tris (hydroxymethyl)-aminomethane, 0.05 M, pH 9.0], 수세 완충액으로 phosphate buffered saline with Tween 20(PBST: 0.01 M phosphate buffer, 0.138 M NaCl, 0.0027 M KCl, 0.05% Tween 20), 기질 완충액으로 phosphate-citrate buffer tablets (0.05 M phosphate-citrate buffer, pH 5.0, 1 tablet/100 mL), 3,3',5,5'-tetramethyl benzidine dihydrochloride(TMB) 등을 Sigma사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였고, 96 well plate는 Nunc사(Roskilde, Denmark)의 것을 사용하였고, 흡광도 측정은 THERMOmax[™](Molecular Devices사, Sunnyvale, CA, USA)을 사용하였다. 국산 콩은 2001년산으로 경기도에서 생산된 것을 시중 할인 매장에서 구입하였고, 수입산 콩은 2001년산으로 미국에서 수입된 것을 Purina Korea(펄택)에서 입수하였다. GM 및 non-GM 콩은 2000년산으로 미국 New York의 시중 market에서 구입하여 가루로 만들어 100 mesh이하의 것을 사용하였다.

Sandwich 효소면역측정법(ELISA)

Sandwich ELISA는 앞선 연구와 같은 방법으로 수행하였다⁽¹¹⁾. 간략하면, 정제된 CP4 EPSPS 특이 단클론항체 Mab2를 코팅 완충액에 2 µg/mL로 희석하여 microplate well에 100 µL 씩 분주하여 4°C에서 하룻밤 정치하여 코팅하였다. 수세 완충액으로 3회 세척 후 CP4 EPSPS 또는 시료 용액 100 µL 씩 첨가한 후 상온에서 1시간 동안 반응 시켰다. 다시 수세 완충액으로 3회 세척한 후 CP4 EPSPS 특이 다클론항체-HRP conjugate를 각 well 당 100 µL 씩 첨가하여 상온에서 1시간 동안 반응시켰다. 수세 완충액으로 3회 세척한 후 기질용액 (0.01% TMB in phosphate-citrate buffer, pH 5.0, 0.05% H₂O₂ 사용직전에 준비)을 각각의 well에 100 µL씩 넣고 30분간 방치한 뒤 2 M H₂SO₄ 반응정지액 50 µL 씩을 첨가한 후 파장 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료 중 CP4 EPSPS의 양은 CP4 EPSPS를 표준물질로 처리하여 구한 sandwich ELISA의 표준곡선 상에서 구하고 희석배수를 곱하여 구하였다.

GM 및 non-GM 콩의 처리

GM 및 non-GM 콩가루를 10 mg/mL로 되게 PBS, PBST, 0.05 M Tris-HCl buffer(pH 8.5)를 각각에 첨가하였다. ULTRA TURRAX[®] T25(IKA Labortechnik사, 일본)를 이용하여 11,000 rpm에서 1분간 균질화 한 후 10,000×g에서 5분간 원심분리하였다. 분리된 상정액을 PBST로 10배, 100배 희석하여 sandwich ELISA의 시료용액으로 사용하였다.

콩 시료의 처리

국산 콩 47점과 수입산 콩 20점을 반으로 잘라 한 쪽을 잘게 분쇄한 다음 추출용매로 2 mL의 PBS를 첨가하였다. 다

른 한쪽은 PCR 용으로 사용하였다. ULTRA TURRAX[®] T25를 이용하여 11,000 rpm에서 1분간 균질화 한 후 10,000×g에서 5분간 원심분리하였다. 분리된 상정액을 PBST로 10배 희석하여 sandwich ELISA의 시료용액으로 사용하였다. 콩 혼합물의 경우 약 10 g의 콩(약 50개)을 잘 분쇄한 다음 200 mL의 PBS를 첨가한 후 이후의 처리는 전술한 방법과 같이 수행하였다.

콩나물 시료의 처리

수입산 콩 20점 및 국산 콩 10점을 일주일 간 콩나물로 재배하여 자엽부와 뿌리 두 부분으로 나눈 후 추출용매로 2 mL의 PBS를 첨가하였다. 이후 과정은 콩 시료의 처리과정과 동일하게 수행하였다.

Polymerase chain reaction (PCR)

시료 콩을 액체질소로 동결시켜 막자사발에서 균질하게 마쇄한 후 genomic DNA를 PowerPrep[™] DNA 추출 kit (Kogen Biotech., Korea)를 이용하여 추출하였으며, 분광광도계를 이용하여 추출된 DNA를 정량하였다. 콩의 도입유전자의 확인을 위하여 상용화되어있는 GMO screening kit(Kogen Biotech., Korea)를 이용하였으며 검출kit에 포함되어있는 내인성 유전자 검출용 프라이머, CaMV 35S promoter 유래의 프라이머 및 NOS terminator 유래의 프라이머를 각각 5 pmol 씩 첨가하여 PCR 용액을 조제하였다. PCR 운전 조건은 94°C에서 2분간 pre-denaturation하고 94°C에서 30초간 denaturation, 60°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 30초간 polymerization 과정을 40회 반복하여 증폭시키고 다시 72°C에서 2분간 elongation 한 후, 4°C에 보관하였다. 증폭산물의 결과를 판정하기 위하여 2% agarose gel 전기영동상에 전개시킨 후 ethidium bromide로 염색하여 증폭산물의 밴드검출 여부를 확인하였다.

통계분석

실험결과와 통계처리는 SAS 통계 프로그램(SAS Institute, 1990)을 이용하여 분석하였으며, 그 결과는 평균값과 표준편차로 표시하였다. 군간의 유의성은 Duncans's multiple test를 이용하여 p<0.05에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

GM과 non-GM 콩가루로부터 CP4 EPSPS의 추출

GM 또는 non-GM 콩가루 시료에 대해 추출 완충용액별로 sandwich ELISA를 수행한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 그 결과 추출 완충 용액 중 PBS로 추출한 GM 콩가루의 원액 (10 mg/mL)에서 0.25의 발색치를 보였고 다른 추출용매는 이보다 약간 낮은 발색치를 보이고 있어 CP4 EPSPS를 콩에서 추출할 때 PBS가 가장 최적의 추출 용매임을 보여주고 있다. 따라서 이 후 실험은 추출용매로서 PBS를 사용하여 추출하고 희석은 PBST로 희석하여 ELISA를 수행하였다. 원액에서 GM과 non-GM 콩가루의 구별은 확실하게 될 수 있음을 알 수 있었고 또한, GM 콩을 sandwich ELISA로 분석 시 10X 희석한 시료(1 mg/mL)에서 GM과 non-GM 콩과의

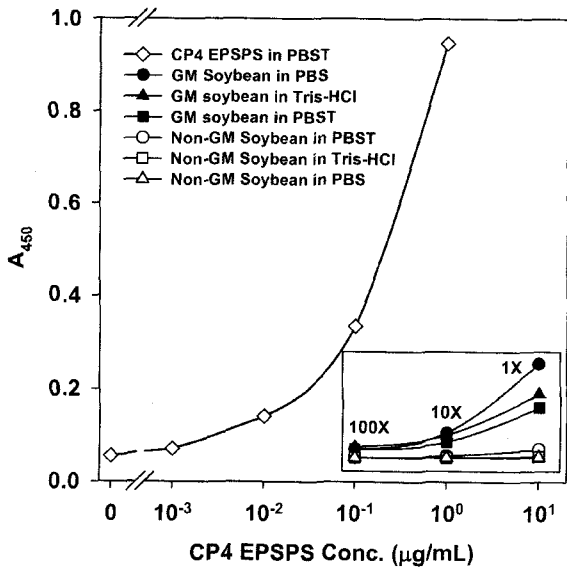


Fig. 1. Detection of CP4 EPSPS in genetically modified and non-genetically modified soybeans by sandwich ELISA which was performed according to the same procedure as in the Table 1. Supernatant of each soybean extract (10 mg/mL) and their diluents were applied to sandwich ELISA. The result were shown in the right down box.

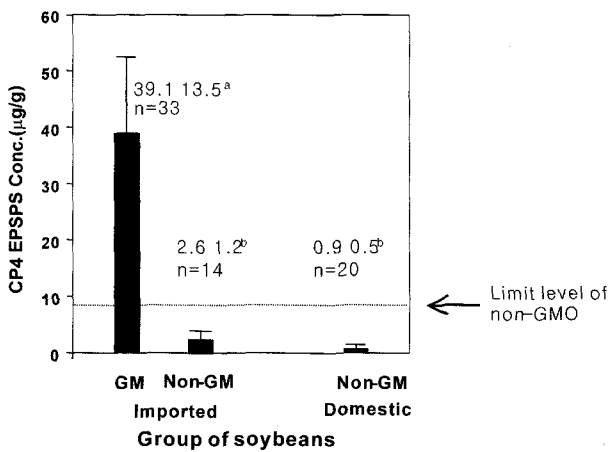


Fig. 2. Comparison of the CP4 EPSPS contents in imported and domestic soybeans determined by sandwich ELISA (when detected on the basis of a grain).

^{ab}Values of the CP4 EPSPS with different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$).

구분이 가능하다는 것을 알 수 있다.

수입산 및 국산 콩으로부터 CP4 EPSPS 검출

수입산 콩 47점과 국산 콩 20점을 sandwich ELISA로 분석하여 CP4 EPSPS의 양을 확인하였어 그 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 수입산 콩 시료의 경우 크게 두 가지 군으로 나뉘었는데, CP4 EPSPS의 함량이 높은 군($39.1 \pm 13.5 \mu\text{g/g}$, $n = 33$)과 낮은 군($2.6 \pm 1.2 \mu\text{g/g}$, $n = 14$)으로 나뉘었고 이들간에는 유의성이 있는 차이를 보이고 있다. 한편 국산 콩의 경우 모두 낮은 함량($0.9 \pm 0.5 \mu\text{g/g}$, $n = 20$)을 보이고 있다. 이들 결과는 크게 두 군으로 나뉠 수 있는데 두 군간의 구분

Table 1. CP4 EPSPS contents of imported and domestic soybeans determined by sandwich ELISA when detected on the basis of grain mixture¹⁾

Soybean ²⁾	CP4 EPSPS ($\mu\text{g/g}$)
Imported	38.9 ± 3.1^a ($n=3$)
Domestic	2.7 ± 0.7^b ($n=3$)

¹⁾Sandwich ELISA was performed as follows: Monoclonal antibody (Mab2) was coated onto microplate and serial diluted CP4 EPSPS or sample was reacted for 1 hr. And polyclonal antibody-HRP conjugate were reacted. After 1 hr, the plate was washed with PBST, the substrate solution (H₂O₂/TMB) was added, developed for 30 min, and finally the absorbance in 450 nm was measured.

²⁾Ten grams of soybeans (about 50 grains) were ground and tested for the detection of CP4 EPSPS.

^{ab}Values of the CP4 EPSPS with different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$).

은 낮은 군에서 나타나는 표준편차의 5배를 더하여 이를 기준($8.6 \mu\text{g/g}$)으로 양 군간을 구분하는 기준으로 삼았는데, 5배를 더해 준 것은 안전한 범위를 주기 위해서였다. 따라서 콩에 대하여 sandwich ELISA를 이용하여 이의 기준을 토대로 GM과 non-GM 콩의 구분이 가능함을 알 수 있다. 이러한 기준을 토대로 분석한 수입산 콩 중의 GM 콩 비율은 70.2%로 나타났다. 또 다른 한편, 수입산 콩과 국산 콩 각각을 10g씩 취하고 이를 분쇄하여 sandwich ELISA 분석한 후 CP4 EPSPS의 검출치를 비교하였을 때의 결과를 Table 1에 나타내었다. 수입산 콩의 CP4 EPSPS의 함량은 $38.9 \pm 3.1 \mu\text{g/g}$ ($n = 3$), 국산 콩은 $2.7 \pm 0.7 \mu\text{g/g}$ ($n = 3$)으로 나타나서 콩 낱개로 분석한 것과 비슷한 결과를 나타내었다.

PCR에 의한 콩의 CP4 EPSPS 유전자의 확인

위의 수입산 콩 중 GM 콩 군으로 분류된 것 중 가장 낮은 CP4 EPSPS함량을 보인 시료 2개(20.2 , $19.2 \mu\text{g/g}$)와 non-GM 콩 시료 중 가장 높은 함량을 보이는 시료 2개(4.0 , $5.2 \mu\text{g/g}$), 그리고 국산 콩 중 가장 높은 함량을 보이는 시료($2.7 \mu\text{g/g}$)에 대해 sandwich ELISA의 정확성을 판단하기 위해 PCR 분석을 함께 수행하였다. PCR분석을 위하여 이들로부터 DNA를 추출하여 이를 각각의 primer로 PCR 증폭한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 콩에 내재되어 있는 actin을 증폭하였을 때 모든 시료에서 정상적으로 증폭되어 콩 시료로부터 DNA 추출이 정상적으로 이루어졌고(Fig. 3. (A)) 시료1과 시료3번은 CP4 EPSPS 발현조절 부위와 종결부위가 잘 증폭되어 GM 콩임을 알 수 있었다(Fig. 3 (B), (C)). 다른 콩 시료는 이들의 증폭이 이루어지지 않아 non-GM 콩으로 밝혀졌다. 따라서 sandwich ELISA에 의해 GM 콩 중 가장 낮은 수치를 보인 콩들이 PCR에 의해 GM 콩으로 확인되었고 non-GM 콩과 국산 콩 중 가장 높은 수치를 보인 것들은 PCR에 의해 non-GM 인 것으로 확인되었다. PCR 결과는 앞서 sandwich ELISA에 의한 GM 콩 여부를 판단 한 것이 정확하다는 것을 확인하여 주었다. 이는 원료 콩의 GM 여부를 분석함에 있어서 sandwich ELISA만으로 비교적 신속하고 정확하며 경제적으로 이를 판단할 수 있다는 것을 보여 주었다.

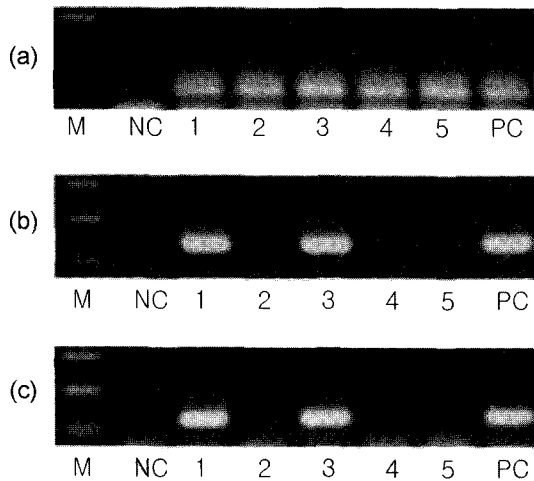


Fig. 3. Polymerase chain reaction results of soybeans.

(a) PCR result of soybeans for actin, (b) PCR result of soybeans for 35S promoter of CP4 EPSPS gene, (c) PCR result of soybeans for Nos terminator of CP4 EPSPS gene. M: Size marker, NC: Negative control, 1: Imported soybean No.1, 2: Imported soybean No.2, 3: Imported soybean No.3, 4: Imported soybean No.4, 5: Domestic soybean No.5, PC: Positive control

Table 2. CP4 EPSPS contents of imported and domestic bean sprouts determined by sandwich ELISA¹⁾

Soybean	Part	GM	Non-GM
Imported	Cotyledon	15.5 ± 3.9 ^a (n=14)	1.6 ± 1.0 (n=6)
	Root hair	3.8 ± 0.9 ^b (n=14)	1.5 ± 0.5 (n=6)
Domestic	Cotyledon	N.D. ²⁾	1.2 ± 0.8 (n=10)
	Root hair	N.D.	0.6 ± 0.3 (n=10)

¹⁾Sandwich ELISA was performed according to the same procedure as in the Table 1.

²⁾Non-detectable.

^{ab}Values of the CP4 EPSPS with different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$).

콩나물에서의 CP4 EPSPS의 검출

수입산 20점 및 국산 콩 10점을 일주일 간 콩나물로 재배하여 자엽부와 뿌리부분으로 나누어 sandwich ELISA를 수행하여 그 결과를 Table 2에 나타내었다. 그 결과 수입산은 자엽부에 대하여 높은 CP4 EPSPS 함량과 낮은 CP4 EPSPS 함량 두 그룹으로 구분되었다. 자엽부에서 전자는 15.5 ± 3.9 µg/g(n = 14)이었으며, 후자는 1.6 ± 1.0 µg/g(n = 6)으로 나타났다. 이는 약 70% 정도가 GM 콩인 것으로 밝혀져 앞선 수입산 콩을 대상으로 한 sandwich ELISA와 같은 결과를 보여주고 있다. 또한 뿌리부분에서는 전자는 3.8 ± 0.9 µg/g(n = 14), 후자는 1.5 ± 0.6 µg/g(n = 6)으로 나타나 뿌리부분에서 CP4 EPSPS의 발현이 자엽부보다 떨어지는 결과는 나타내었다. 이는 자엽부는 약 70%, 뿌리부분에서는 약 90%의 수분을 포함하고 있기 때문에 수분의 차이에 의한 것으로 판단된다. 그리고 국산의 경우는 자엽부 및 뿌리에서 각각 1.2 ± 0.8 µg/g(n = 10), 0.6 ± 0.2 µg/g(n = 10)의 낮은 CP4 EPSPS 함량을 보여주고 있다. 전체적으로 볼 때, 콩나물의 자엽부 CP4 EPSPS 함량이 GM 콩 낱알에서 보다 약 반으로 감소하였음을 알 수 있다. 이는 콩나물의 재배 시 자엽부에서 수

분을 섭취하여 낱알 콩보다 2 배 이상 무게가 증가하였기 때문에 CP4 EPSPS의 함량이 차이가 난다고 생각된다. 이상의 결과로 볼 때 콩나물의 경우 자엽부에 대한 CP4 EPSPS의 함량을 sandwich ELISA에 의해 결정함으로써 원래 콩이 GM 인지 non-GM인지 여부를 판가름 할 수 있었다.

다른 한편 GM 콩 및 non-GM 콩으로 두유 및 두부를 실험실적으로 제조하여 콩가공 식품에 대해 sandwich ELISA를 수행하였는데, 이들에 대한 CP4 EPSPS의 함량은 아주 낮게 나타나 non-GM과의 구분이 어려웠다(data 생략). 즉, sandwich ELISA에 의해 CP4 EPSPS가 거의 검출되지 않았는데, 이는 두유 및 두부를 제조할 때 꼭 필요한 열처리 과정 중 CP4 EPSPS가 열에 의해 불활성화되어 ELISA에 반응하지 않았으리라 생각된다. 이것은 항원의 포획 단계에서 단클론항체를 사용하였는데, CP4 EPSPS 아미노산 서열 중 단클론항체에 결합하는 epitope에 변화가 일어나 포획이 되지 않은 것으로 생각된다. 따라서 열처리를 받은 가공 식품에의 적용은 변성된 CP4 EPSPS의 renaturation등을 통하여 ELISA로 검출하는 등의 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다. 그리고 가공식품에서 CP4 EPSPS의 변성 여부와 상관없이 PCR방식으로 검출하는 것은 가능하리라 생각된다.

이상의 결과에서 앞선 연구에서 개발된 sandwich ELISA를 실제 시료인 콩과 콩나물에 대해 적용하였을 때, 콩과 콩나물 자엽부에 대해서 CP4 EPSPS를 검출함으로써 이의 GMO 여부를 판단할 수 있었다⁽¹¹⁾.

요 약

CP4 EPSPS에 대한 특이항체(다클론 및 단클론)를 이용하여 확립한 전보의 sandwich ELISA 분석법을 원료 콩의 GMO 분석에 적용가능한 가를 검토하였다. 원료 콩은 수입산 47점, 국산 20점을 분석하였다. 그 결과, 수입산 콩의 CP4 EPSPS 분석치는 크게 두 군으로 나뉘어 높은 군(39.1 ± 13.5 µg/g, n = 33)과 낮은 군(2.6 ± 1.2 µg/g, n = 14)으로 나타났다. 수입산 콩의 GMO 비율은 약 70.2%로 나타났다. 한편, 국산 콩의 CP4 EPSPS의 함량 (0.9 ± 0.5 µg/g, n = 20)은 아주 낮은 것으로 나타났고 이는 non-GMO인 것으로 판단되었다. 콩나물의 경우에 GM과 non-GM 간 CP4 EPSPS의 차이를 보이고 있었고 GM 콩나물의 자엽부에서 뿌리보다 높은 CP4 EPSPS의 함량을 보여주고 있다. 국산 콩으로 만든 콩나물의 경우 CP4 EPSPS의 함량은 아주 낮은 것으로 나타나 GM과 non-GM 콩간의 구분이 가능하였다. 또한 PCR에 의해 sandwich ELISA가 정확하다는 것을 보여주었다. 이상과 같이 sandwich ELISA 방법은 신속, 간편하게 많은 콩 시료의 GMO 여부를 판단할 수 있음을 보여주었다.

문 헌

1. Fraley, R.T., Rogers, S.G., Horsch, R.B., Sanders, P.R., Flick, J.S., Adams, S.P., Bittner, M.L., Brand, L.A., Fink, C.L., Fry, J.S., Galluppi, G.R., Goldberg, S.B., Hoffmann, N.L. and Woo, S.C. Expression of bacterial genes in plant cells. Proc. Natl Acad. Sci. USA 80: 4803-4807 (1983)
2. Eella-Cioppa, G., Bauer, S.C., Klein, B.K., Shah, D.M., Fraley

- R.T. and Kishore, G.M. Translocation of the precursor of the 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate into chloroplasts of higher plants *in vitro*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 6873-6877 (1986)
3. Nida, D.L., Kolacz, K.H., Buehler, R.E., Deaton, W.R., Schuler, W.R., Armstrong, T.A., Taylor, M.L., Ebert, C.C. and Rogan, G.J. Glyphosate-tolerant cotton: Genetic characterization and protein expression. J. Agric. Food Chem. 44: 1960-1966 (1996)
 4. Barry, G., Kishore, G., Padgett, S., Taylor, M., Kolacz, K., Weldon, M., Re, D., Eichholtz, D., Fincher, K. and Hallas, L. Strategies for imparting glyphosate-tolerance to crop plants, pp. 139-145. In: Biosynthesis and Molecular Regulation of Amino Acids in Plants. Singh, B.K., Flores, H.E. and Shannon, J.C. (eds.). American Society of Plant Physiologists, Madison, Wisconsin, USA (1992)
 5. Padgett, S.R., Kolacz, K.H., Delannay, X., Re, D.B., Lavalley, B.J., Tinius, C.N., Rhodes, W.K., Otero, Y.I., Barry, G.F., Eichholtz, D.A., Peschke, V.M., Nida, D.L., Taylor, N.B. and Kishore, G.M. Development, identification and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. Crop Sci. 35: 1451-1461 (1996)
 6. Padgett, S.R., Taylor, N.B., Nida, D., Bailey, M.R., MacDonald, J., Holden, L.R. and Fuchs, R.L. Safety assessment of glyphosate-tolerant soybeans: The composition of the seeds is equivalent to conventional soybeans. J. Nutr. 126: 702-716 (1996)
 7. Wurz, A., Bluth, A., Zeltz, P., Pfeifer, C. and Willmund, R. Quantitative analysis of genetically modified organisms (GMO) in processed food by PCR-based methods. Food Control 10: 385-389 (1999)
 8. Meyer, R. Development and application of DNA analytical methods for the detection of GMOs in foods. Food Control 10: 391-399 (1999)
 9. Brett, G.M., Chambers, S.J., Huang, L. and Morgan, M.R.A. Design and development of immunoassays for detection of proteins. Food Control 10: 401-406 (1999)
 10. Rogan, G.J., Dudin, Y.A., Lee, T.C., Magin, K.M., Astwood, J.D., Bhakta, N.S., Leach, J.N., Sanders, P.R. and Fuchs R.L. Immunodiagnostic methods for detection of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase in Roundup Ready[®] soybeans. Food Control 10: 407-414 (1999)
 11. Kwak, B.Y., Ko, S.H., Park, C.W., Son, D.Y. and Shon, D.H. Development of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for glyphosate-tolerant soybeans. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 366-372(2003)

(2003년 3월 3일 접수; 2003년 7월 23일 채택)