

## 효소면역측정법을 이용한 두부 중의 유전자 재조합 대두단백질 분석

정미현 · 배형기 · 김경미 · 장인숙 · 고은정 · 배동호\*  
건국대학교 응용생물화학과

### Quantification of Genetically Modified Soy Proteins in Fresh Soybean Curd by Antigen-coated Plate ELISA

Mee-Hyun Jung, Hyung-Ki Bae, Kyung-Mi Kim, In-Suk Jang, Eun-Jung Ko, and Dong-Ho Bae\*  
Department of Applied Biology and Chemistry, Konkuk University

Enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) was applied to quantify soy protein in fresh soybean curd (bean curd) produced by combination of genetically modified (GM) and genetically not modified (non-GM) soybeans. Antibodies against 113 and 24 kDa proteins, which appeared only in non-GM bean curd (specific band), and in both non-GM and GM bean curds (non-specific band) based on SDS-PAGE results, were prepared by immunization to rabbit. Through ELISA using either antibody, GM bean curd protein content was determined at dilution rates of  $10^{-1}$ - $10^{-6}$ . Standard curve showing relationship between ELISA optical density and non-GM protein content was produced using antibody against 113 kDa protein at protein dilution between  $10^{-7}$  to  $10^{-6}$ , highly antigen content-dependent dilution. Bean curd prepared by random combinations of GM and non-GM soybeans were analyzed by ELISA, and standard curve was produced. Results reveal non-GM protein content of bean curd could be quantified with higher than 93% accuracy.

**Key words:** GM soybean curd, ELISA, quantification of GMO

### 서 론

유전자 재조합 식품의 안전성 문제가 최근 크게 논란이 되고 있는 것은 기존의 육종이나 교배에서 일어날 수 없는 이종의 유전자를 삽입한 농산물 등을 직접 섭취한다는 점이다. 또한, 유전자 재조합 기술에서 주로 사용되는 것은 항생제 내성 유전자인데, 오늘날 항생제 내성균의 확산에 따른 항생제 치료의 어려움이 알려져 항생제 내성 유전자의 이용은 항생제 내성이라는 유전자 재조합(genetically modified, GM) 식품의 또 다른 안전성문제를 야기하고 있다(1).

유전자 재조합 농작물의 국제적인 개발현황을 보면 1986년부터 1997년에 이르기까지 45개국에서 10여종에 이르는 특성을 갖는 60여종의 농작물이 개발되어 있다. 제초제 내성 농작물로 1996년도에 미국에서 대두(Monsanto), 유채(ArEvo, Monsanto), 옥수수(Novartis, Dekalb, AgrEvo 등)가 개발되었고 590 종이 재배되어 전체 유전자 재조합 농작물의 27.7%를 차지하고 있다(2).

1997년 EU에서 유전자 재조합 식품에 대한 표시 문제가 제

기된 이후, 우리나라에서도 소비자 및 시민단체의 요구에 따라 GM 농산물에 대해 소비자의 알 권리와 선택의 자유를 보장하는 차원에서 GM 표시 제도를 실시하고 있다(3). 현재 국내에서 가공용으로 유통되는 대두 중 많은 양은 국외로부터 수입된 것이며, 이러한 수입대두의 대부분은 유전자 재조합된 것으로 추측되고 있다. 소비자들은 GM 식품의 위해성이 증명된 바 없으나 막연한 불안감으로 인해 GM 원료의 사용을 기피하고 있다. 그에 따라 국내의 두부 제조업체에서는 GM 대두를 사용하지 않았음을 강조하고 있으나 가공식품 내의 혼입된 GM 원료까지 분석할 수 있는 방법은 아직 정립되어 있지 않은 실정이다.

현재 사용되고 있는 대표적인 분석법은 PCR(유전자증폭반응)을 이용하여 재조합 유전자를 검출하는 방법이다. 시료로부터 추출한 주형 DNA를 증폭하는 방법인 PCR 정량법은 시료 중의 내재성 유전자와 재조합 유전자의 가공에 따른 분해율이 같다고 가정하는 경우에만 가능한 방법이다. 그러나 복수의 재조합체 가공품을 원료로 하는 일반가공식품에서는 각 원료의 분해율이 달라 PCR의 주형기능을 하는 DNA길이가 일정하지 않기 때문에 PCR 정량법으로 시료 중의 GM 농산물의 혼입율을 측정하는 데에는 어려움이 있다(4,5). 또한 다양한 종류의 GM 농산물이 개발되고 있는 이때에 PCR 검출기술의 가장 큰 문제점은 도입 유전자의 정보가 없는 것은 검출이 불가능하며 고가의 비용을 필요로 하여 제한성을 지니는 것으로 보인다(5).

현재 이러한 PCR 정량법의 대안으로 효소면역측정법(enzyme

\*Corresponding author: Dong-Ho Bae, Department of Applied Biology and Chemistry, Konkuk University, 1 Hwayang-dong, Gwangjin-gu, Seoul 143-701, Korea  
Tel: 82-2-450-3756  
Fax: 82-2-456-7011  
E-mail: donghoya@konkuk.ac.kr

linked immuno-sorbent assay, ELISA)이 제시되고 있다(6,7). ELISA는 항체의 특이성을 이용하는 방법으로 검출 감도가 높고 시료분석 시간이 짧으며 많은 시료를 동시에 분석할 수 있는 장점이 있다. Kwak 등(7)은 제조제에 대한 저항성 유전자인 CP4 EPSPS에 대한 특이항체를 이용하여 ELISA법으로 대두시료의 유전자 재조합 여부를 판단할 수 있음을 보고하였다. 또한, Seo(8)는 면역학적 방법을 이용하여 유전자 조작 콩의 정성 및 정량적 검사가 가능함을 보고하였다. 그러나 두부와 같은 가공식품에서 그 원료의 GMO 판별에 대한 연구는 보고된 바 없다. 또한, 가공식품 내에 GMO와 유전자 재조합이 이루어지지 않은 원료(non-GMO)가 혼입되어 있을 경우와 CP4 EPSPS가 아닌 다른 재조합유전자가 들어있을 때에는 이를 판단할 대책이 마련되어 있지 않다.

따라서 본 연구에서는 유전자 재조합 주요 농작물인 대두를 이용한 가공식품 중에 대표적인 제품이라고 할 수 있는 두부를 시료로 하여 ELISA를 통한 혈청검사로 유전자 재조합 여부를 검사하고자 하였으며, GM 대두와 non-GM 대두가 혼입된 경우에 그 혼입비율까지도 측정할 수 있는 가능성을 검토하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 처리

현재 두부가공용으로 가장 많이 사용되고 있는 non-GM 대두와 GM 대두를 작물시험장(수원)에서 기증받아 현재 생산·유통되는 두부와 같은 제조공정을 통하여 두부로 가공하고 동결건조시킨 후, 냉장 보관하면서 시료로 사용하였다. 가열온도와 가열시간이 항원에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 가열온도는 70-100°C, 가열시간은 10-40분으로 하였다. 항체제조에 위한 실험동물로는 토끼(New Zealand White)를 Essence Medical Inc.(Seoul, Korea)로부터 구입하여 사용하였다.

### 단백질분석

각각 시료의 조단백질의 함량은 Micro-kjeldahl법(9)으로 3회 반복 측정하여 평균값을 사용하였다. 각각의 시료에서 단백질의 분자량을 조사하고 특이 단백질 밴드를 찾기 위해 Weber 등(10)의 방법에 따라 전기영동하였다. 이때 gel은 12% polyacrylamide를 사용하였다.

### 항체제조

전기영동된 gel을 0.1 M KCl 용액에 5-15분간 침지하여 밴드에 흰색 침전이 생기면 항원밴드(specific band)만을 절취하여 PBS(phosphate-buffered saline) 완충액을 넣어 1 mL의 부피로 정량하여 균질화하였다. 균질화한 항원을 토끼의 등 3-5 부위에 2주 간격으로 3회 피하주사하였다. 마지막 주사 1주일 후, 토끼의 귀 정맥으로부터 200-300 µL 정도의 혈액을 채취하고, 이를 37°C 배양기에서 1시간 동안 방치하여 혈액응고를 발생시킨 후, 원심분리(5,000 rpm, 10 min)하여 상층액을 취하고 sodium azide를 0.02% 첨가하여 -70°C에서 냉동 보관하였다.

### ELISA

Microplate(96-well plastic plate)의 각 well에 최종 농도가 1 mg/mL이 되도록 PBS 완충액으로 희석한 항원을 90 µL씩 넣어 37°C에서 2시간 동안 배양한 후, antigen 용액을 제거하였다. Tween-20을 0.05% 포함하는 PBS완충액 200 µL를 한방울씩 떨

어뜨려 well에 넣은 후, 흡입기로 투입했던 PBS 완충액을 다시 제거하여 세척하였다. 세척을 끝낸 plate에 PBS 완충액에 녹인 1% 탈지우유를 90 µL씩 넣고 37°C에서 1시간 동안 배양하여 blocking한 후, 세척과정을 4회 반복하였다. Primary antibody solution(1 : 10,000)을 85 µL씩 각 well에 투입하고, 37°C 배양기에서 1시간 동안 배양하고, 이를 다시 4회 세척하였다. HRP-goat anti-rabbit IgG 즉, secondary antibody solution(1 : 10,000)을 80 µL씩 넣고 37°C의 배양기에 1시간 두고 4회 세척하였다. Primary antibody와 secondary antibody까지 넣은 plate에 TMB(3,3',5,5'-tetramethyl benzidine)용액을 100 µL씩 넣고 37°C에서 20분간 발색반응시킨 다음, ELISA reader(Sunrise, Tecan, Austria)로 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 단백질분석

본 실험의 non-GM 두부와 GM 두부에서 조단백질 함량은 각각 10.0% 및 8.8%인 것으로 분석되어 GM 두부보다 non-GM 두부에서 조단백질 함량이 다소 높은 것으로 나타났다.

원료 대두와 가공된 두부의 전기영동 패턴 변화는 Fig. 1과 같다. 전반적으로 대두에서 나타나는 단백질 밴드가 두부보다 선명하고 더 많았으며, 이에 비해 두부의 밴드 수가 적은 경향을 보였다. 이는 두유가공 시 열처리에 의해 생성된 불용성 단백질이 비지와 함께 제거되고, 간수를 첨가하여 두부를 응고시킬 때 수용성 단백질들이 일부 제거되었기 때문인 것으로 생각된다.

두부와 대두, 모두에서 non-GM 시료의 밴드가 GM시료보다 선명하고 많은 것을 볼 수 있다. non-GM 대두의 경우에 GM 대두에서는 보이지 않는 6 kDa의 단백질 밴드가 나타났으며, non-GM 두부의 경우에는 GM 두부에서 나타나지 않는 113 kDa의 밴드가 나타났고 24 kDa의 밴드도 선명함에 있어서 차이를 보였다. 전술한 바와 같이 Kwak 등(7)은 GM 대두의 CP4 EPSPS에 대한 특이항체를 이용하여 유전자 재조합 여부를 판단하였으나 CP4 EPSPS가 아닌 다른 재조합 유전자가 들어있을 때에는 이를 판단할 수 없는 문제점이 있다. 따라서 본 연구에서는 GM 두부에서는 나타나지 않는 non-GM 두부의

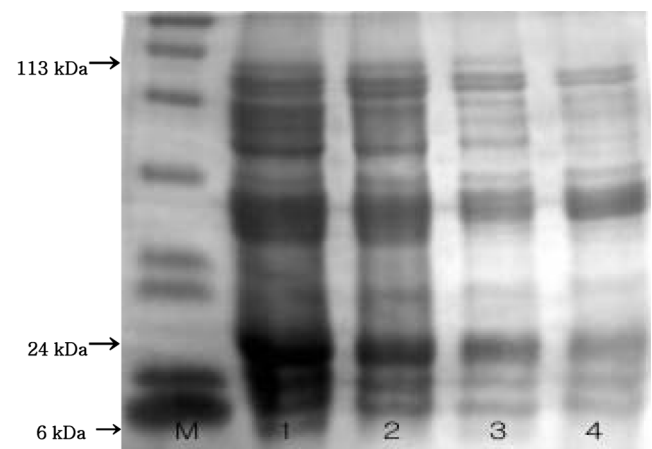
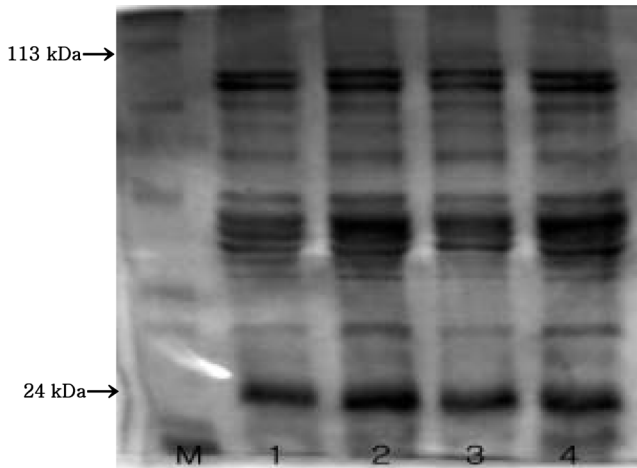


Fig. 1. Gel electrophoretic patterns of soybeans and soybean curds.

M: protein marker, 1: non-GM soybean, 2: GM soybean, 3: soybean curd produced from non-GM soybean, 4: soybean curd produced from GM soybean.



**Fig. 2.** Effect of heating time on the gel electrophoretic pattern of non-GM soybean curds.

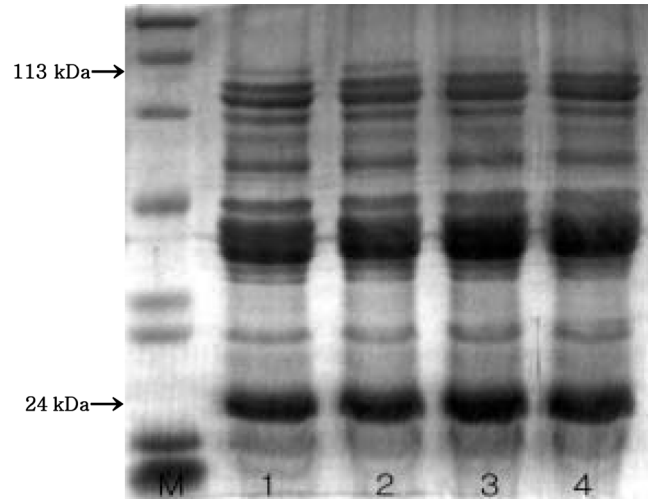
M: protein marker, 1: soybean curd produced from non-GM soybean heated at 80°C for 10 min, 2: soybean curd produced from non-GM soybean heated at 80°C for 20 min, 3: soybean curd produced from non-GM soybean heated at 80°C for 30 min, 4: soybean curd produced from non-GM soybean heated at 80°C for 40 min.

113 kDa 단백질과 선명하고 낮은 분자량을 지닌 24 kDa 단백질을 재현성 있는 특이 단백질인 항원으로 선택하여 CP4 EPSPS가 아닌 다른 재조합 유전자가 혼입된 경우에도 두부 내의 non-GM 원료의 사용량을 판단할 수 있도록 하였다.

#### 가열시간 및 온도에 따른 전기영동패턴 변화

단백질에서 열변성 온도는 대개 70-80°C이며 온도가 높아질수록 변성속도가 빨라진다. 대부분의 단백질 분자는 다양한 분자 내 공유결합과 비공유 결합의 상호작용에 의해 구형으로 존재하며 단백질 분자들은 분자 상의 특이항원 결정 부위인 epitope을 지닌다. 이들 epitope은 연속적으로 연결된 continuous amino acid 서열을 지닌 단백질 혹은 non sequential amino acid 서열을 지닌 단백질과 모두 결합한다. 그러나 변성된 단백질은 amino acid의 서열이 연속적으로 연결된 cryptotopes를 생성한다. 즉, 단백질이 변성되면 native epitopes의 부분적인 사라짐과 연속적인 cryptotopes의 생성을 이끌어 높은 온도에서 단백질이 변성되면 native epitopes는 사라지고, 연속적인 cryptotopes가 늘어나게 된다(11). 이러한 성향때문에 80°C 이상의 가열은 항원과 결합될 native epitopes가 사라짐으로 항체와의 반응 가능성도 줄어들 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 천연 단백질보다 열변성된 단백질이 항체와 더 강하게 대응하며, 오히려 이러한 현상을 이용하여 단백질의 첨가량과 열처리 온도를 판정한 보고(12,13)도 이루어져 있다. 이와 같이 열처리 식품에 대한 항원·항체반응이 명확히 구명되지 않았고, 시판두부는 각 제조회사에 따라 두부의 가열시간 및 온도에 다소간의 차이가 발생할 수 있으므로, 이러한 열처리 온도 및 시간이 전기영동패턴 나아가서는 ELISA법에 어떠한 영향을 미칠 것인지를 고찰하기 위하여, 가열시간 및 온도에 따른 전기영동패턴 변화를 Fig. 2와 3에 나타내었다.

일반적으로 두부가공 시에 두부는 80°C에서 20분 이내로 열처리되므로 두부를 80°C에서 10-40분간 열처리하여 가공된 두부의 전기영동패턴(Fig. 2)과 70-100°C의 온도에서 20분간 열처리된 두부의 전기영동패턴(Fig. 3)을 고찰하였다.



**Fig. 3.** Effect of heating temperature on the gel electrophoretic pattern of soybean curds produced from non-GM soybean heated for 20 min.

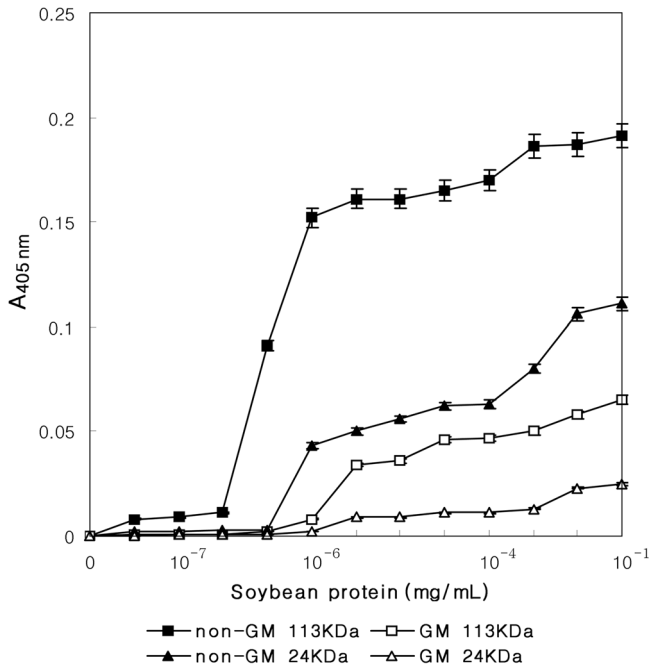
M: protein marker, 1: soybean curd produced from non-GM soybean heated at 70°C for 20 min, 2: soybean curd produced from non-GM soybean heated at 80°C for 20 min, 3: soybean curd produced from non-GM soybean heated at 90°C for 20 min, 4: soybean curd produced from non-GM soybean heated at 100°C for 20 min.

단백질 열변성에 따른 밴드 변화가 심할 것으로 예상되었으나, 가열 온도에 따른 밴드의 변화는 뚜렷하게 나타나지 않았다. 그러나 30분 이상의 가열 조건에서 113 kDa 단백질 밴드가 희박해지고 전체적인 밴드들이 붕괴되는 현상을 볼 수 있었다. 그러나 일반적인 두부제조 시의 열처리 시간은 20분 이내이므로 non-GM두부 판별을 위한 ELISA에는 큰 영향을 미치지 않을 것으로 판단되어 80°C에서 20분간 열처리된 non-GM 두부의 113 kDa와 24 kDa 단백질로 항체를 제조하였다.

#### Non-GM 113 kDa과 24 kDa 단백질의 항체 형성

선명하고 반복성이 확실하며 낮은 분자량을 나타내는 non-GM 두부의 24 kDa 밴드와 GM 두부에서는 전혀 나타나지 않아 non-GM 특이 단백질로 여겨지는 113 kDa 밴드를 항원으로 하여 토끼에 각각 2주 간격으로 3회 같은 양의 항원을 피하주사하여 면역시키고, 마지막 면역 1주일 후 113 kDa를 면역시킨 토끼와 24 kDa를 면역시킨 토끼의 귀 정맥에서 각각 채혈한 혈액으로 항혈청을 분리하였다. 이 항혈청을 이용하여 non-GM 두부와 GM 두부를 405 nm에서 ELISA에 의해 측정된 흡광도를 Fig. 4에 나타내었다. 먼저 solid phase에 결합시키는 항원 즉, non-GM 두부 추출물을  $10^{-1}$ - $10^{-8}$ 배로 희석하여 항체와 결합시켰다. 그 결과 113 kDa와 24 kDa 단백질 모두에서 항체와 반응하는 것으로 나타났다. 그러나 non-GM 113 kDa 단백질이 non-GM 24 kDa 단백질보다 높은 흡광도를 보이며 항체 생성의 차이를 나타내었다. GM 두부와 분명하게 차이를 보이는 non-GM 두부의 113 kDa 단백질이 낮은 분자량을 지닌 non-GM 두부의 24 kDa 단백질 보다 높은 흡광도를 보였고, non-GM 두부와 GM 두부 간의 차이 또한 113 kDa 단백질이 24 kDa 단백질보다 많은 차이를 보이며 항체 면역의 생성에 차이를 나타내었다.

이러한 차이는 항체와의 특이성과 친화력 즉, non-GM 두부의 113 kDa 단백질이 non-GM 두부의 24 kDa 단백질보다 항체

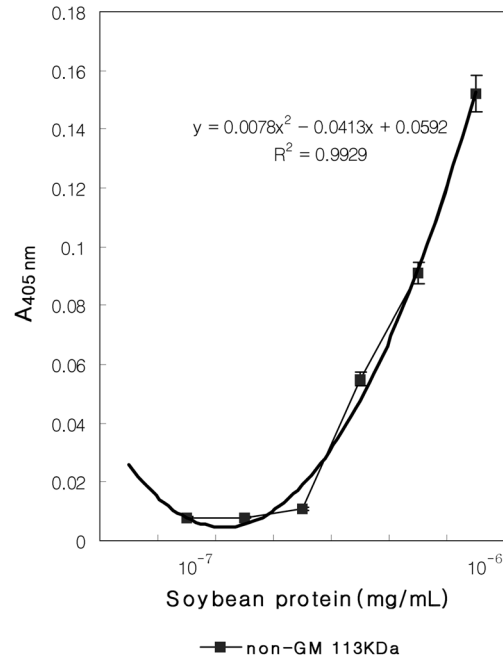


**Fig. 4.** ELISA of various dilutes of soybean curds produced from GM and non-GM soybeans against 24 kDa and 113 kDa proteins of non-GM soybean curd.

와의 결합력이 우수하기 때문인 것으로 생각된다. 따라서 항체 생성 시에 선택할 항원으로서 GM 두부와 분명하게 차이를 보이는 non-GM 두부의 113 kDa 밴드를 선택하는 것이 항체의 특이성과 친화력을 높여, 항체생성의 성공률을 높이는 데 용이하다고 생각된다. 또한 24 kDa 단백질도 113 kDa 단백질보다 낮은 흡광도를 보이기는 하나 GM 두부의 24 kDa 단백질보다는 높은 결합력을 보여주어 non-GM 두부의 24 kDa 단백질에 대해서도 항체가 형성되었음을 알 수 있게 하였다. 이와 같이, GM 단백질에서도 나타났으므로 특이 단백질이 아닌 것으로 판단되었던 non-GM 두부의 24 kDa 단백질도 면역된 것은 선명한 non-GM 두부의 24 kDa 밴드가 large peptide 면역원이 되어 항체와의 친화력을 높인 것으로 생각된다.

Large peptide 면역은 특이 항원결정부위를 조성하는 단백질을 지닌 개체군의 항체 생성작용을 성공적으로 유도하여 peptide 홀로 있을 때보다 좋은 면역원이 되는 것이다. 또한 항원이 되는 peptide의 정보는 항체와의 결합을 결정하는 중요한 요소가 되는데, sequence 56-107을 지니는 lysozyme peptides의 경우에는 S-S 결합에 의해 다른 peptide와 결합하여 항체와의 친화력이 보다 높아진다(6). 그러므로 non-GM 두부의 24 kDa 단백질은 protein marker lysozyme 위치에서 나타난 밴드로써 항체와의 친화력이 높은 lysozyme의 성질을 지닌 단백질로 추측된다. 이러한 24 kDa 단백질의 성질때문에 GM 두부와 특이성이 없는 단백질임에도 면역이 가능해진 것으로 생각된다.

Non-GM 두부의 113 kDa 단백질 항체는 희석배수가  $10^{-1}$ - $10^{-6}$  일 때에는 작은 항원량의 차이에 따른 흡광도의 차이가 거의 나타나지 않았고  $10^{-7}$  이하의 희석배수에서는 감도가 낮아 항체 생성 여부를 측정하기 어려웠다. 그러므로  $10^{-1}$ - $10^{-6}$ 의 희석배수에서 시판두부의 원료가 non-GMO인 것을 판별하는 것이 용이할 것으로 보이나,  $10^{-7}$  이하의 희석배수에서는 판별이 어려울 것으로 생각된다.



**Fig. 5.** Standard curve of ELISA against 113 kDa protein of non-GM soybean curds at the dilution range from  $10^{-7}$  to  $10^{-6}$ .

**Non-GM 대두와 GM 대두의 혼입비율 측정**

$10^{-6}$ - $10^{-7}$ 의 희석배수에서는 약간의 non-GM 두부의 113 kDa 단백질 함량 차이에도 뚜렷한 흡광도의 증감을 보이므로 이 희석배수에서 non-GMO와 GMO의 혼입비율을 판정하기 위하여 이 구간의 희석물을 보다 세분화하여 Fig. 5에 ELISA에 의한 흡광도와 non-GM 단백질 함량의 관계를 나타내는 표준곡선으로 작성하였다. Non-GM 대두:GM 대두의 비율을 100:0-0:100으로 조절한 시료로 non-GMO와 GMO가 혼입된 두부를 가공하여  $10^{-6}$ - $10^{-7}$ 의 희석배수에서 ELISA에 의한 흡광도를 측정하고 이 값을 표준곡선(Fig. 5)에 적용하여 계산된 non-GMO의 양과 실제로 두부 내에 존재하는 non-GMO의 양을 Table 1에 나타내었다.

100% non-GM 대두로 제조한 두부의 경우에 실제로는 8.40 mg/mL의 non-GM 대두단백질이 존재하는 흡광도를 나타내어야 하나 8.50 mg/mL이 존재하는 흡광도를 나타내었고, 60% non-GM 대두와 40% GM 대두가 혼입된 원료로 제조한 두부의 경우에는 실제로는 5.0 mg/mL의 non-GM 대두단백질이 존재하는 흡

**Table 1.** Comparisons of actual and estimated amounts of non-GM proteins in soybean curds

Ratio of non-GM soybean:GM soybean in soybean curd	Actual amount of non-GM protein in soybean curd (mg/mL)	Amount of non-GM protein in soybean curd estimated with ELISA and standard curve (mg/mL)
100:0	8.40	8.50
60:40	5.00	5.10
40:60	3.20	3.40
20:80	1.66	1.70
10:90	0.80	0.85
0:100	0	0

광도를 나타내어야 하나 5.1 mg/mL이 존재하는 흡광도를 나타내었다(Table 1). 7% 이내의 오차를 나타냄으로써, non-GM 대두와 GM 대두가 혼입되어 사용된 경우에도 ELISA를 이용하여 대략적인 혼입비율을 측정할 수 있음을 시사하고 있다. 그러므로 ELISA법과 표준곡선을 이용하여 실제 유통되는 두부의 GMO 및 non-GMO 혼입비율을 측정하는 것도 가능하리라 생각한다.

Table 1에서와 같이 실제 흡광도와 산출된 흡광도에 약간의 차이를 보이는 것은 항원결정기를 공유하는 단백질들의 작용 때문인 것으로 생각된다. 우리가 원하는 non-GM 두부의 113 kDa 단백질뿐만이 아니라 non-GM 단백질 중의 다른 일부분이 non-GM 113 kDa 단백질과 항원결정기를 공유하게 되어 이론 예상치보다 다소 높은 흡광도가 검출된 것으로 생각된다(6). 그러나 이러한 문제는 좀 더 정밀한 항원의 정제만으로도 충분히 개선될 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구에서 GM 가공식품과 non-GM 가공식품의 단백질 함량은 큰 차이를 보이지는 않았으나, SDS-PAGE를 이용한 분석에서는 분명한 특이 밴드를 보였으므로 SDS-PAGE의 실행만으로 GMO와 non-GMO를 판별할 수도 있을 것이다. 그러나 이러한 SDS-PAGE의 실행만으로는 가공식품에 있어서 GMO와 non-GMO 혼입비율의 판정이 불가능하여 GMO분석을 명확히 하기엔 제한이 있다고 여겨진다.

위의 결과를 토대로 하여 현재 판매되고 있는 시판 두부의 유전자 재조합 여부를 측정해본 결과, 일반 재래시장에서 판매되는 판두부의 경우 non-GM 대두단백질을 28% 정도 함유한 것으로 측정되었고, 100% 국산대두만을 사용하고 있다고 선전하고 있는 기업체 두부의 경우에는 80% 정도 non-GM 대두단백질을 함유하고 있는 것으로 나타나 non-GM 대두단백질의 함량이 비교적 높았다. 그러나 같은 기업체의 두부라 할지라도 non-GM 대두의 함량에 차이를 보여 농장에서 원료대두를 수집하는 단계에서부터 철저한 관리가 필요하며 두부판매 시에는 유전자재조합 여부를 분명하게 표시해야 할 필요가 있는 것으로 생각된다.

## 요 약

본 연구에서는 유전자 재조합 되지 않은(non-GM) 대두와 유전자 재조합된(GM) 대두가 혼입되어 제조된 두부에서 효소 면역 측정법을 이용하여 non-GM 대두의 혼입량을 추정하고자 하였다. 두부의 SDS-PAGE 실행 결과 non-GM 두부에서만 나타나는 특이 단백질 non-GM 113 kDa 밴드와 non-GM과 GM 두부에서 모두 나타나는 non-GM 24 kDa 밴드를 선별하고 이들을 토끼에 면역하여 항체생성 여부를 ELISA한 결과 non-GM 113 kDa과 non-GM 24 kDa 단백질 모두 항체가 형성됨을 확인

하였고  $10^{-1}$ - $10^{-6}$ 의 단백질 희석배수에서 두부를 이들 항체에 대하여 ELISA함으로써 원료대두의 GM여부를 확인할 수 있었다. 이들 중, 보다 감도가 높았던 non-GM 113 kDa 단백질을  $10^{-7}$ - $10^{-6}$ 의 배수로 희석하여 ELISA 흡광도와 non-GM 단백질의 관계를 나타내는 표준곡선을 작성하였고, 임의로 non-GM 대두와 GM 대두를 혼합하여 제조한 두부의 ELISA 흡광도를 이 표준곡선과 비교하여 non-GM 원료와 GM 원료 작물의 혼입율을 측정된 결과, 높은 정확도를 보였다.

## 문 헌

1. Park SH. Genetically modified food and its safety assessment. Korea Soybean Digest. 16: 21-30 (1999)
2. Park SH. Food derived from new plants varieties derived through recombinant DNA technology. Korea Soybean Digest. 16: 20-30 (1999)
3. Nordic Council of Ministry. Health Effects of Marker Genes in Genetically Engineered Food Plants. Tema Nord Copenhagen Press, Copenhagen, Denmark (1996)
4. Wurz A, Bluth A, Zeltz P, Pfeifer C, Willmund R. Quantitative analysis of genetically modified organisms in processed food by PCR-based methods. Food Cont. 10: 385-389 (1999)
5. Meyer R. Development and application of DNA analytical methods for the detection of GMOs in foods. Food Cont. 10: 391-399 (1999)
6. Kwak BY, Ko SH, Park CW, Son DY, Shon DH. Development of enzyme-linked immunosorbent assay for glyphosate-tolerant soybeans. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 366-372 (2003)
7. Kwak BY, Ko SH, Shin WS, Shon DH. Analysis of genetically modified soybean and soybean sprout by enzyme-linked immunosorbent assay. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 556-560 (2003)
8. Seo HS. The qualitative and quantitative detection of Roundup-Ready soybeans using immunological methods. PhD thesis, Seoul National University, Seoul, Korea (2002)
9. AACC. Approved Method of the AACC. 10th ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, USA (2000)
10. Weber K, Pringle JR, Osborn M. Measurement of molecular weight by electrophoresis on SDS-acrylamide gel. Meth. Enzymol. 26: 3-27 (1971)
11. Paraf A. Application of immunochemistry for protein structure control. pp. 613-620. In: Food Proteins and Their Applications. Damodaran S, Paraf A (eds). Marcel Dekker, Inc., New York, NY, USA (1997)
12. Varshney G, Paraf A. Use of specific polyclonal antibodies to detect heat treatment of ovalbumin in mushroom. J. Sci. Food Agric. 52: 261-267 (1990)
13. Wang CH, Booren AM, Abouzieid MM, Pestka JJ, Smith DM. ELISA determination of turkey roll end-point temperature: effects of formulation, storage and processing. J. Food Sci. 58: 1258-1263 (1993)

(2004년 7월 5일 접수; 2004년 10월 13일 채택)