

유전자 이입에 따른 GM쌀 섭취 마우스의 Housekeeping Gene 발현 패턴 비교

이동엽 · 허진철¹ · 이규현 · 김동호 · 우상욱 · 조현석² · 이상한[†]

경북대학교 생명식품공학부, ¹경북대학교 식품생물산업연구소, ²농업생명공학연구원 생물안전성과

Comparison of Expression Pattern of Housekeeping Genes in Mice fed Genetically Modified Rice

Dong-Yeob Lee, Jin-Chul Heo¹, Kyu-Hyun Lee,
Dong-Ho Kim, Hyun-Suk Cho² and Sang-Han Lee[†]

Department of Food Science & Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

¹Food & Bio-industry Research Institute, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

²National Institute of Agricultural Biotechnology, RDA, Suwon 441-707, Korea

Abstract

To evaluate the human risk of long-term intake of genetically modified (GM) rice, we carried out RT-PCR of housekeeping genes. Housekeeping genes, which show highly uniform expression in living organisms during various stages of development and under different environmental conditions, were normalized by RT-PCR. We assessed the expression of 10 common housekeeping genes (18s rRNA, 25S rRNA, UBC, UBQ5, UBQ10, ACT11, GAPDH, eEF-1 α , β -TUB, GAPDH, β -actin, B2m, G6pd2, Gyk, Gus, Hprt, Cyclophilin A, Tfic, α -tubulin and RPL13A) in the liver, stomach, small intestine, large intestine, kidney and spleen of mice fed GM or non-GM rice. We found no significant differences in the expression of housekeeping genes between the two groups of mice.

Key words : Genetically modified, housekeeping gene, rice, gene transfer

서 론

기술의 발달은 많은 부분에서 발전적으로 성장을 해왔다. 생명공학기술(biotechnology)의 발달은 새로운 품종의 개발이라는 관점에서 볼 때 그 발전 정도는 과히 대단할 만하다. 과거 비슷한 종을 교배하여 품종개량을 통해 작물의 성장 촉진, 생산량 증대를 이루어 내었다면, 현재는 다른 종에서의 필요한 유전자만을 가져와서 이를 다른 종에 적용하는 연구가 이루어지고 있다. 즉 자연적인 현상인 수분을 통해 유전물질을 얻는 과정이 생명공학 기술의 발달로 인위적으로 유전자의 도입이 가능하게 되었고, 이 과정을 통해 얻어진 식물을 유전자 변형 식물 (GM, genetically modified) 식물이라고 한다(1,2).

많은 경우 GM 식물은 작물로서 생산량 증대를 목표로

한다. 작물의 생산 증대는 식량 생산 증대를 목적으로 하는데 과거에는 과실의 크기를 증대하여 단순히 생산량을 늘리는 연구가 이루어졌으나, 최근에 들어 각종 제초제, 해충 등으로 부터 방어가작을 가지는 유전자의 도입이 이루어지고 있으며, 이를 이용한 생산량의 증대 및 관리비용의 절감 등을 기대하고 있다. 콩, 카놀라, 목화, 옥수수 등 다수의 종에 있어 제초제 저항성유전자의 도입을 완료하였으며, 이러한 작물의 생산물들이 현재 시판되고 있다(3,4). GM 작물은 생산량 증대라는 목적을 달성하면서 미래 식량문제를 해결할 수 있는 가장 유력한 대안 중의 하나로 알려져 있지만 한편으로는 안전성 문제에 있어 많은 부분에서 취약함을 보이고 있다. 첫째, 기본적으로 원래 없던 유전자의 도입으로 유전적 패턴의 변화가 일어난다. 이는 유전자에서 발현하는 단백질 발현의 변화를 가져 오는데 원하지 않는 유전자의 발현을 그 예로 들 수 있다. 둘째, 도입된 유전자가 다른 종으로의 이입이 발생할 경우이다. 특정 유

[†]Corresponding author. E-mail : sang@knu.ac.kr,
Phone : 82-53-950-7754, Fax : 82-53-950-6772

전자를 특정 작물에 대량 발현시킬 목적으로 생산된 GM 작물의 유전자가 다른 종으로 옮겨 갈 경우 자연계의 교란이 일어날 수 있다(5,6). GM 작물은 적은 생산비용으로 높은 수확량을 얻을 수 있는 반면 이에 대한 안전성의 여지는 여전히 남아있다. 또한 이는 현재의 과학수준으로는 확실하게 보장 할 수 없으며, 인체와 환경에 대한 잠재적 위험성은 많은 시간이 지나봐야 알 수 있다.

GM 작물은 1994년 칼젠(Calgene)의 무르지 않는 토마토(상품명: Flavr Savr)를 시작으로 1995년 미국 몬산토(Monsanto)가 개발한 자사 제초제에 내성이 있는 콩인 Round-up Ready Soybean, 스위스의 노바티스(Novartis)의 병충해에 내성을 가진 'Bt maize' 라는 상표의 옥수수가 등이 미 식품의약품청(FDA) 및 EU의 안전성 검사를 통과하여 판매가 허용되고 EU에 수출하면서부터 시작 되었다. 이후 제초제 내성, 병해충 저항성 등 여러 가지 GM작물이 개발되었으며, 몬산토(Monsanto), 노바티스(Novartis), 칼젠(Calgene), 아그레보(Agrevo) 등이 GM작물의 개발에 적극적이다. 이외에도 세계 굴지의 식품회사들은 이미 GMO를 식품 제조 및 판매에 사용하고 있으며, 전 세계적으로는 80여 종이 넘는 것으로 알려져 있다. GM 작물의 안전성에 관한 문제를 해결하기 위해서는 다음의 몇 가지를 해결해야만 한다. 인체·가축에 대한 식품안전성이 검증, GM 농작물에 의한 생태계의 교란 대비, 생물다양성 파괴에 대한 방어, 유전자 조작 기술을 이용한 다국적 기업의 식량 지배방지 등을 해결 해야만 한다(7,8).

본 연구에서는 곤충 저항성 유전자를 이입한 벼에서의 housekeeping gene의 변화를 알아보았으며, 이를 섭취한 마우스에서 주요 장기를 중심으로 housekeeping gene의 발현을 알아보았다.

재료 및 방법

GM과 non-GM 벼의 획득

실험에 사용된 형질전환 된 벼는 곤충저항성 유전자인 cry1A가 형질전환 되어 있는 낙동벼와 이 유전자가 삽입되지 않은 벼를 농촌진흥청 생물안전성센터에서 분양받아 사용하였다.

non-GM/GM 작물을 이용한 사료 제작 및 마우스 사육

수확된 쌀은 분쇄기를 이용하여 곱게 갈은 다음 마우스 사료와 1:1의 비율로 배합하여 물과 섞어 사료와 동일한 모양을 만들었다. 마우스 (3 mouse/cage)는 BALB/c 5-6주령을 사용 하였으며, 경북대학교 농과대학 마우스 사육시설에서 사육을 하였다. 쌀을 이용하여 만든 사료는 일반사료와 구별하여 마우스에 섭취도록 하였으며, 30일간 사육하며 2일 간격으로 사료의 섭취량을 측정 하였고, 4일 간격으로 체중 변화를 측정 하였다.

Gene expression 측정

유전자 이입한 벼와 그렇지 않은 낙동벼를 각각 3개체를 실험실 운반 해 와서 이들의 잎을 각각 액체질소를 이용하여 냉동상태에서 분쇄 하였다. 이후 Tri-Reagent를 이용하여 RNA 추출 과정을 거쳤다. 각 장기별로 housekeeping gene의 변화정도를 알기 위하여 마우스에서 장기를 적출하였다. 장기 적출은 마취 후 복강을 절개 후 간, 위, 소장, 대장, 신장, 비장의 순으로 적출 하였다. 적출된 장기는 액체질소를 이용하여 급속 동결을 하였으며, 동결 후 -70 °C에 보관 후 실험 하였다. 동결된 조직을 막자사발을 이용하여 미세하게 분쇄 후 Tri-Reagent (MRC, USA)를 이용하여 RNA를 획득 하였다. 획득된 RNA는 RT kit (Intron, Korea)을 이용하여 reverse transcription 반응을 실시하였으며, PCR 반응 조건은 94°C (30 sec), 55°C (30 sec), 72°C (30 sec)의 조건으로 32 cycle을 실시하였다. PCR primer로는 housekeeping gene으로 벼의 경우 18S rRNA, 25S rRNA, eEF-1 α , GAPDH, UBQ 5, β -TUB, eIF-4 α , UBQ10, UBQ5, ACT 11 등 10 종이며(Table 1), 마우스의 경우는 Beta-actin, B2m, G6pd2, GAPDH, Gyl, Gus, Hprt, Cyclophilin A, Tbp, Tfric, Tubulin alpha, RPL13A 등 11 종을 이용하였다(Table 2). 유전자 발현 정도의 차이는 gel-doc program (Bio-rad, Italy)을 이용하여 band density를 측정하였으며, 이를 엑셀 프로그램을 이용하여 분석 하였다.

결과 및 고찰

혹명나방은 벼의 잎을 말고 그 속에서 가해하며 벼의 잎을 말라 죽게 하는 것으로 알려져 있으며, 크게 발생할 때는 논 전체에 피해를 주는 것으로 알려져 있다. 이는 벼의 품질 저하로 이어지는데 현재는 농약을 이용한 방제에 의존하고 있다. 최근 생명공학 기술을 이용하여 곤충에 대한 저항성을 가지는 단백질인 *Bacillus thuringiensis* toxin 단백질을 과발현 시켜 곤충에 대한 저항성을 가지는 유전자변형 (genetically modified) 작물을 개발하고 있다. *Bacillus thuringiensis* toxin의 일종인 Cry1A는 곤충저항성을 가지는 단백질로서 GM 작물에 많이 이용되어지고 있다. 작용기작으로는 곤충류의 중장상피에 대한 삼투압의 변화를 일으켜 결국에는 세포를 녹여 죽게 만드는 역할을 한다(9). 이의 발현 유전자로 cry1A(b)와 cry1A(c)를 GM 작물용으로 많이 이용되어 지고 있다. Cry1A 유전자의 경우 이미 많은 경우 GM 작물에 이용이 되어 지고 있는데 면화(3), 옥수수 (4) 등에 이용이 되어 지고 있다.

본 연구는 곤충에 대한 저항성을 가지는 유전자로 cry1A(c)를 이용하여 낙동벼에 형질전환을 유도, 혹명나방에 대한 저항성을 가지는 낙동벼를 이용하여 안전성 GM작물과 non-GM 작물간의 housekeeping gene에 대한 발현을

Table 1. Housekeeping genes in NackDong rice and their primer sequences used for RT-PCR analysis

No	Gene Name	Expected size (bp)	Gene Symbol	Primer F/R	GenBank Accession #
1	Actin 11	452	ACT 11	AGA TCA CTG CCT TGG CTC CT TCT GGT ACC CTC ATC AGG CA	AK100267
2	Ubiquitin-conjugating enzyme E2	436	UBS	GTG CAG CGA GAA AAG TCA GC GCA TGG CAG CCA ACC TAG TA	AK059694
3	Eukaryotic elongation factor 1-alpha	349	eEF-1a	AAG ATG ATT CCC ACC AAG CC AAC AGC CGA AGG GCA ATA AT	AK061464
4	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	315	GAPDH	GAG ATC CCA TGG GGT GAG AC TGC AGT GAT TGC ATG GAC AG	AK064960
5	Beta-tubulin	330	β -TUB	CAT CGA CCT TCA TTG GCA AC GAC GGA AAC ACC AAG CAC AC	AK072502
6	Eukaryotic initiation factor 4a	459	eIF-4a	AAG GCT CCC AGT TTG ATG CT GGT CCT CAC GGA CAG AGG TT	AK073620
7	Ubiquitin 10	451	UBQ10	ATC ACC CTC GAG GTG GAG TC CTG CAT ACC ACC ACG GAG AC	AK101547
8	Ubiquitin 5	426	UBQ5	AGG CGA AGA TCC AGG ACA AG AAA GAA CAG GAG CCT ACG CC	AK061988
9	18S ribosomal RNA	440	18S rRNA	GGG GAA ACT TAC CAG GTC CA GTC AAC GCG AGC TGA TGA CT	AK059783
10	25S ribosomal RNA	401	25S rRNA	ACA ACT CAC CTG CCG AAT CA GCG TCT CCG GAC TTC CTA AC	AK119809

Table 2. Housekeeping genes in mice and their primer sequences used for RT-PCR analysis

No	Gene Name	Expected size (bp)	Gene Symbol	Primer F/R	GenBank Accession #
1	Beta-actin	384	β -act	ACT GGG ACG ACA TGG AGA AG TCT CAG CTG TGG TGG TGA AG	NM_007393
2	Beta-2-microglobulin	330	B2m	TGG TGC TTG TCT CAC TGA CC ACA TGT CTC GAT CCC AGT AGA C	NM_009735
3	Glucose-6-phosphate dehydrogenase-2	274	G6pd2	CAC CAG AAG TGC AAG CGT AA CAA TCT TGT GCA GCA GTG GT	NM_019468
4	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	370	GAPDH	ACT CCA CTC ACG GCA AAT TC CCT TCC ACA ATG CCA AAG TT	NM_008084
5	Glycerol kinase	392	Gyk	AAT CCG CTG GCT AAG AGA CA CGC CTA GTG CAG TTG TTT CA	NM_008194
6	Beta-glucuronidase	387	Gus	TCA GCT CTG TGA CCG ATA CG TTC AGC TGT GGC TGA ATC AC	NM_010368
7	Hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase 1	361	Hprt	TGC TCG AGA TGT CAT GAA GG GAG AGG TCC TTT TCA CCA GCA	NM_013556
8	Peptidyl-prolyl isomerase A	312	Cyclophilin A	GTC TCC TTC GAG CTG TTT GC ATC CAG CCA TTC AGT CTT GG	NM_008907
9	Transferrin receptor	315	Tfrc	GTT TCC GCC ATC TCA GTC AT CCT GTT CCC ACA CTG GAC TT	NM_011638
10	Tubulin alpha	315	Tuba2	TGG TTG AGC CCT ACA ATT CC GCT GCT CAT GGT AGG CTT TC	NM_011654
11	Ribosomal protein 113 A	371	Rpl13a	GTA CGC TGT GAA GGC ATC AA TTC TCC TCC AGA GTG GCT GTC	NM_009438

알아보고자 하였다. 흑명나방에 대한 저항성 유전자를 이입한 벼의 GM 작물에 대한 안전성 평가의 일환으로 GM 작물과 non-GM작물간의 housekeeping gene의 발현 패턴을 RT-PCR을 이용하여 확인 해 보았다. GM 작물과 non-GM 작물은 동일한 지역 및 동일한 조건 하에서 재배하였으며, 각기 다른 개체 3종을 무작위로 선별하여 실시하였다. housekeeping gene은 외부 세포내에서 항상 발현을 하는 유전자로 외부 환경에 크게 영향을 받지 않는 것으로 알려져 있으며, 많은 경우 특이유전자의 발현 등에 대조군으로 쓰이는 유전자이다.

세포는 환경에 대해 적응하는 과정에서 유전자의 발현을 통하여 스스로를 조절하게 되는데 이때 유전자의 발현 정도에 차이가 있게 된다. 세포내에서 유전자 발현 패턴을 확인할 때 확인 가능한 internal control을 이용하게 되는데 많은 경우 housekeeping gene를 사용하게 된다. 세포내에서 항상 발현을 하고 있는 유전자이기 때문에 상대적으로 다른 유전자에 비해 안정적인 발현 패턴을 보여주기 때문이다. 하지만 환경의 변화는 housekeeping gene라고 알려진 유전자의 발현에 또한 많은 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 각종 호르몬의 영향이라든지(10), 성장 정도(11) 등에 의해 차이

가 나는 만큼 보다 적절한 조직에 적절한 마커의 housekeeping gene을 찾고자 하고 있다(12). GM작물과 non-GM 작물 간에 house keeping gene인 18S rRNA, 25S rRNA, eEF-1 α , GAPDH, UBQ 5, β -TUB, eIF-4a, UBQ10, UBQ5, ACT 11 등의 발현차이를 RT-PCR을 통하여 확인 해 본 결과 눈에 띄는 큰 차이는 보이지 않았다(Fig. 1). 벼의 housekeeping gene의 발현은 성장에 따른 차이를 보여 주는데 10종의 housekeeping gene의 발현 양상을 비교한 결과 성장과 각 개체간의 차이에 따른 가장 안정적인 housekeeping gene은 UBQ5와 eEF-1 α 로 알려져 있는데(11) 본 실험 결과에서는 GM 작물에서 다소 증가하는 것으로 나타났다.

GM 작물과 non-GM 작물에서 나온 수확물인 쌀을 이용하여 일반 마우스 사료와 1:1로 섞어 Balb/c (5~6 주령)에 30일간 먹인 다음 2일마다 사료 섭취량을 조사한 결과 일반 사료와 비교하여 볼 때 큰 차이를 나타내지 않았다. 마리당 약 2 ~ 3 g 정도를 매일 섭취하는 것으로 나타났으며, 쌀을 이용하여 만든 사료의 처음 2일 동안 섭취량이 다소 줄어든 것을 알 수 있었는데, 이는 사료의 변화로 인한 적응기간으로 판단된다. 이후 사료 섭취량의 변화는 일반사료와 비교하여 볼 때 큰 차이를 보이지 않았다. 체중변화 또한 매

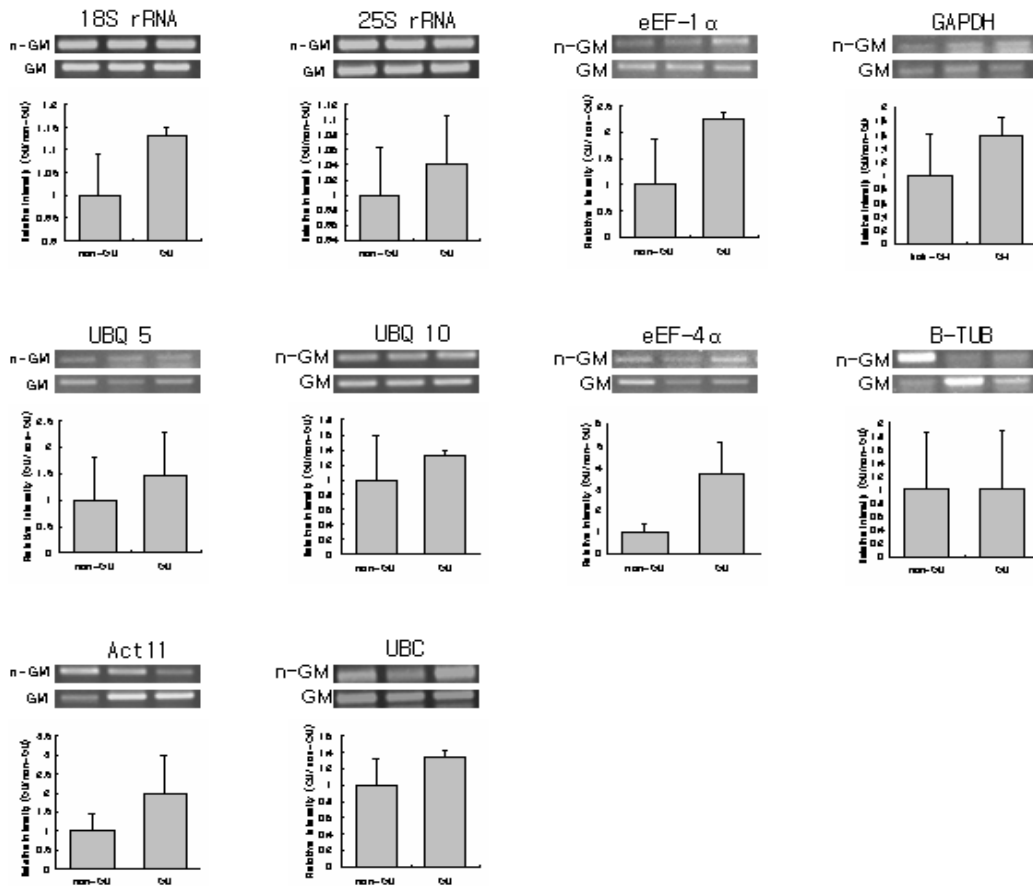


Fig. 1. Housekeeping gene expression in GM and non-GM rice, and densitometric analysis by RT-PCR.

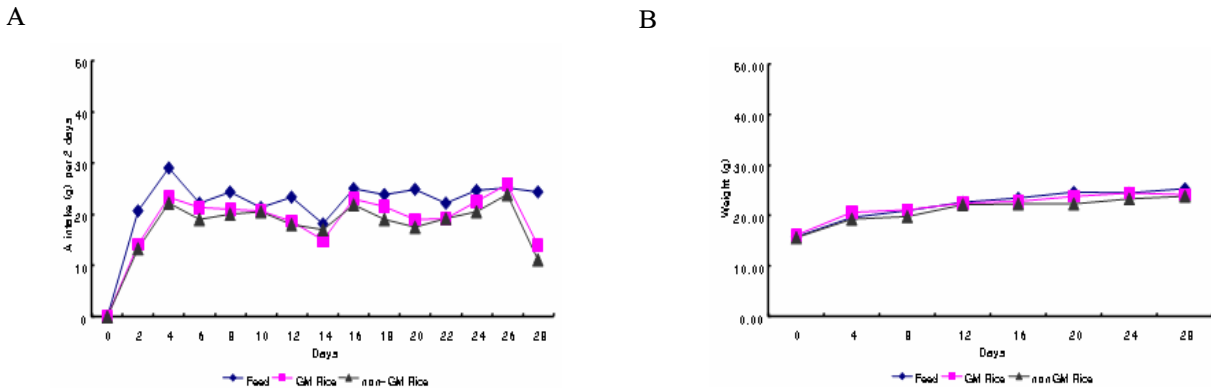


Fig. 2. Comparison of food intake and weight gain.

The mice were administered to GM and non-GM rice every 2days/cage (A), or every 4 days/body for 30 days.

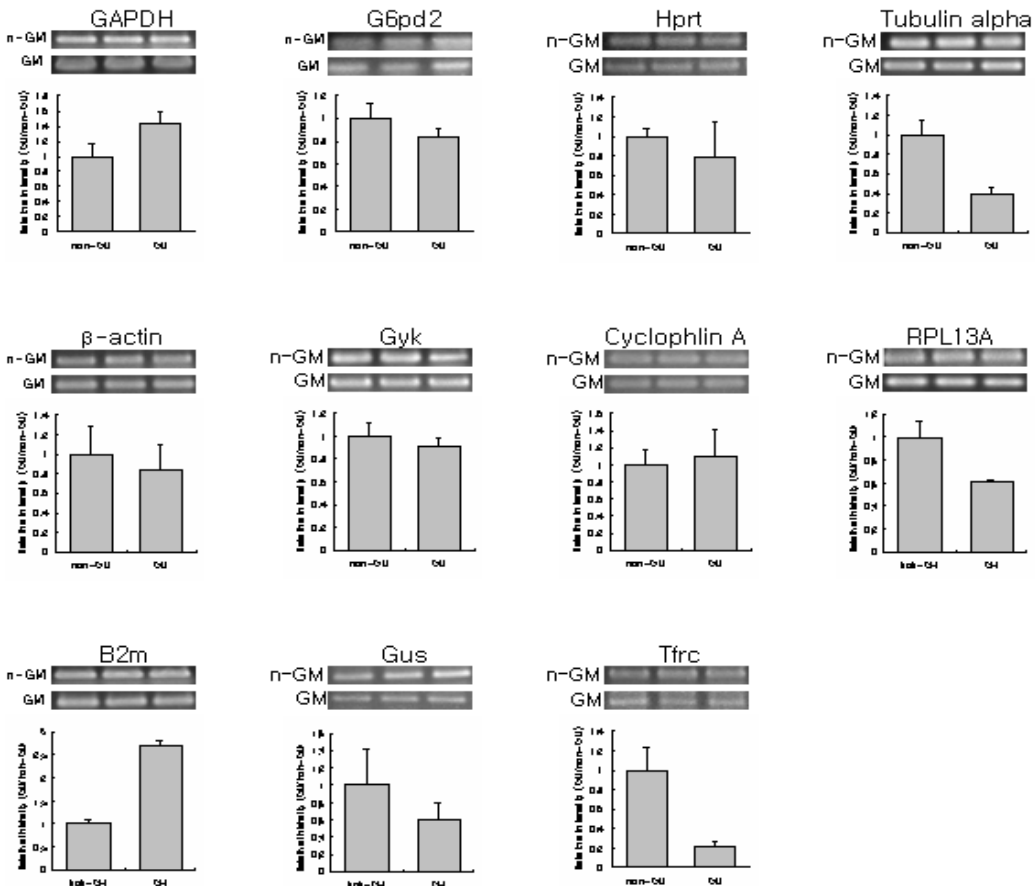


Fig. 3. Profile of housekeeping gene expression in mice.

The mice liver was checked to administration of GM and non-GM rice by densitometric analysis of RT-PCR.

4일 마다 관찰 하였는데 사료에 따른 차이는 보이지 않았다 (Fig. 2).

GM작물과 non-GM 작물을 30일간 먹인 마우스에서 위, 소장, 대장, 신장, 간 등을 절취하여 housekeeping gene의 발현을 확인 해 보았다. 간에서의 housekeeping gene의 발현 패턴은 10 종의 유전자 중 6종에서 큰 차이를 보이지 않았

다. 다만 α -tubulin, RPL13A, Tfrc, Gus의 경우 non-GM 작물을 섭취한 마우스가 GM 작물을 섭취한 마우스 보다 발현의 정도가 다소 높게 나타났으며, B2m의 경우 GM 작물을 섭취한 마우스에서 높게 나타났다. 위에서의 경우 GAPDH, G6pd2, Hprt, Cyclophilin A, B2m, Gus, Tfrc 등에서 GM 작물을 섭취한 마우스에서 발현 패턴이 높게 나타나는 것을

알 수 있었다. 소장에서는 α -tubulin의 경우 non-GM 작물을 섭취한 마우스에서 다소 높은 발현을 보이며 다른 유전자에 대해서는 큰 차이를 보이지 않았다. 대장에서는 Gus와 Trfc의 발현 패턴이 상대적으로 크게 차이가 나는 것으로 나타났으며, 신장과 비장에서는 G6pd2, B2m, Gus gene에서 non-GM 작물을 섭취한 마우스에서 발현이 높게 나타나는 것을 알 수 있었다(Fig. 3).

RT-PCR을 통하여 10종의 housekeeping gene의 발현정도를 non-GM작물과 GM작물 간에 비교하여 보았으며, 안전성 검사의 한 측면에서 이를 30일간 섭취한 마우스의 간, 위, 소장, 대장, 신장, 비장에서 유전자의 발현을 비교하여 보았다. 많은 경우 유전자의 발현은 비슷한 경향을 나타내었다. 하지만 몇몇 장기에서 몇 종의 housekeeping gene의 발현이 차이가 나는 것을 알 수 있었는데 이에 대한 연구는 보다 장기적인 관점에서 실시되어야 할 것으로 사료된다. GM 작물을 먹었을 경우 혹은 이를 이용하는 사료를 먹은 가축들의 경우 이입된 유전자에 의하여 다른 유전자의 발현을 유도 혹은 감소시키는 등의 영향을 주게 되면 세포나 조직에 많은 영향을 주게 된다. 또한 이를 섭취한 동물 등에서 형질전환이 된 유전자의 발현이 일어날 수 있는데 돼지 사료로 GM 작물을 사용한 경우 이들의 혈액 및 각종 장기 등에서 형질전환에 이용된 유전자의 단편들이 확인이 되는 것으로 나타났는데, GM 작물이 그렇지 않은 작물에 비해 유전적 전이현상이 더 클 것이라는 것을 추측하게 한다(13).

Cry1Aa toxin에 대한 마우스를 이용한 사이토카인의 profile을 확인한 결과 mouse spleen cell에서 매우 낮은 레벨의 Th1 (IFN- γ , IL-12p70)과 Th2 (IL-10, IL-4)의 발현 양상을 나타내었다. 반면 Cry1Aa에 immunization된 마우스에서 이들의 spleen cell을 다시 Cry1Aa로 자극하면 IL-12p70의 활성이 증가하는 것으로 나타났다(14). 이는 단백질로서 일차적으로 사이토카인에 영향은 주지 않지만 2차적으로 혹은 지속적으로 노출 될 경우 사이토카인 등에 영향을 줄 수 있음을 시사하는 결과이다.

GM 작물은 생산량 증대와 고품질의 작물을 수확할 수 있다는 것이 가장 큰 매력 중의 하나이다. 하지만 원래 가지고 있지 않은 새로운 유전자가 이입된다는 관점에서 볼 때 이와 같은 작물을 섭취하는 생물의 안전성 측면은 아직 밝혀지지 않은 부분이 많이 있는 것으로 판단된다(15). GM 작물에 대한 안전성을 확보하기 위한 연구의 한 방법으로 RNA의 발현 패턴을 작물과 마우스를 이용하여 확인해 본 결과, housekeeping gene의 발현에 있어서 많은 부분이 큰 차이를 보이지 않으나, 일부 유전자의 발현에 차이가 있는 것을 확인할 수 있었다. 이에 대한 생물개체의 안전성 연구는 보다 장기적으로 접근하는 것이 유전자변형생물체의 안전성을 이해하는데 도움이 되리라 판단된다.

감사의 글

본 연구는 바이오그린21사업(20050601-034-857)의 지원에 의하여 이루어진 것입니다.

참고문헌

- Jank, B., Rath, J. and Gaugitsch, H. (2006) Co-existence of agricultural production systems. Trends Biotechnol., 24, 198-200.
- Monastra, G. and Rossi, L. (2003) Transgenic foods as a tool for malnutrition elimination and their impact on agricultural systems. Riv. Biol., 96, 363-84.
- Gujar, G.T., Kalia, V., Kumari, A., Singh, B.P., Mittal, A., Nair, R. and Mohan, M. (2007) Helicoverpa armigera baseline susceptibility to Bacillus thuringiensis Cry toxins and resistance management for Bt cotton in India. J. Invertebr. Pathol., 95, 214-219.
- Deaville, E.R. and Maddison, B.C. (2005) Detection of transgenic and endogenous plant DNA fragments in the blood, tissues, and digesta of broilers. J. Agr. Food Chem., 53, 10268-10275.
- Margulis, C. (2006) The hazards of genetically engineered foods. Environ. Health Perspect., 114, A146-A147.
- Kinney, A.J. (2006) Metabolic engineering in plants for human health and nutrition. Curr. Opin. Biotechnol., 17, 130-138.
- Paparini, A. and Romano-Spica, V. (2004) Public health issues related with the consumption of food obtained from genetically modified organisms. Biotechnol. Ann. 10, 85-122.
- Moseley, B.E. (2002) Safety assessment and public concern for genetically modified food products: the European view. Toxicol. Pathol., 30, 129-131.
- Budatha, M., Meur, G. and Dutta-Gupta, A. (2007) A novel aminopeptidase in the fat body of the moth Achaea janata as a receptor for Bacillus thuringiensis Cry toxins and its comparison with midgut aminopeptidase. Biochem. J., 405, 287-297.
- Filby, A.L. and Tyler, C.R. (2007) Appropriate 'housekeeping' genes for use in expression profiling the effects of environmental estrogens in fish. BMC Mol Biol., 8, 8-10.
- Jain, M., Nijhawan, A., Tyagi, A.K. and Khurana, J.P. (2006) Validation of housekeeping genes as internal

- control for studying gene expression in rice by quantitative real-time PCR. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 345, 646-551.
12. Rodriguez-Mulero, S. and Montanya, E. (2005) Selection of a suitable internal control gene for expression studies in pancreatic islet grafts. *Transplantation*, 80, 650-552.
 13. Mazza, R., Soave, M., Morlacchini, M., Piva, G. and Marocco, A. (2005) Assessing the transfer of genetically modified DNA from feed to animal tissues. *Transgenic Res.*, 14, 775-784.
 14. Guerrero, G.G., Russell, W.M. and Moreno-Fierros, L. (2007) Analysis of the cellular immune response induced by *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxins in mice: effect of the hydrophobic motif from diphtheria toxin. *Mol. Immunol.*, 44, 1209-1217.
 15. Reis, L.F., Van Sluys, M.A., Garratt, R.C., Pereira, H.M. and Teixeira, M.M. (2006) GMOs: building the future on the basis of past experience. *Ann. Acad. Bras. Cienc.*, 78, 667-686.

(접수 2007년 9월 28일, 채택 2007년 11월 16일)