

DHPLC와 중합효소연쇄반응에 의한 유전자재조합 콩의 검출

이경혜[†] · 박수민¹

동남보건대학 식품생명과학과, ¹제넷바이오

The Detection of Genetically Modified Organisms in Soybean by DHPLC and Polymerase Chain Reaction

Kyoung-Hae Lee and Su-Min Park¹

Department of Food Science & Biotechnology, Dongnam Health College, Suwon 440-714, Korea

¹GenetBio, Chungnam Animal Science Center, Konyang Univ, Nonsan 320-711, Korea

Abstract

This paper focused on the detection of the genetically modified soybean (*Glycine max* L. MERRILL) samples to search for the speedy analysis methods. We have identified the PCR (polymerase chain reaction) assay with a newly developed technique called DHPLC (denaturing high performance liquid chromatography) to screen the GMO in soybean. The DHPLC is its ability to directly detection specific sequences of DNA by using column. With these characteristics, the DHPLC assay had the advantage of simplicity, rapidly could obtain result within 20 minutes. Whereas 15×10^{-4} ng/ μ L concentration could be detected with the PCR analysis, 15×10^{-5} ng/ μ L concentration could be detected with the DHPLC method. Therefore, DHPLC method was considered to be a simple, fast and sensitivity screening method rather than PCR analysis for GMO detection in soybean.

Key words : Soybean, GMO, PCR, DHPLC

서 론

유전자재조합 농작물(genetically modified Organism, GMO)은 생산량 증대 또는 유통 가공상의 편의를 위하여 유전공학기술을 이용, 기존의 번식방법으로는 나타날 수 없는 형질이나 유전자를 지니도록 개발된 것으로 식량증산, 고부가가치의 치료용식품 등의 목적으로 개발되어 GMO 농작물의 재배면적은 매년 증가하고 있다(1-3). 최근, 유전공학의 발달로 새로운 고부가가치 GMO 농작물의 개발과 이용이 점차 증가하고 있으며, 새로운 GMO 농작물의 개발과 상품화가 해마다 급속도로 확산되고 있는 실정이다. 현재 대두, 면화, 감자, 옥수수, 담배, 호박, 메론 및 토마토 등 주요 작물에서 이미 GMO 농작물이 개발되었고, 이중 상당수의 제품이 시판되고 있다(4-7).

GMO 농작물의 이해부족과 일부 소비자 단체의 과잉반

발로 많은 식품 회사들이 GMO를 사용하지 않겠다는 움직임도 높아지고 있으나, 대기업들은 표면적으로는 GM 식품 불사용을 선언하면서도 GMO 농작물 개발에 투자를 늘리고 있는 실정이다(8-10). 한편 국내 수요량의 91% 정도를 거의 전량 미국에서 수입하고 있는 가운데 수입대두의 GM 대두 혼입률이 30%를 훨씬 넘는 것으로 추정되며, 이는 콩 뿐만 아니라 많은 곡물을 미국에서 수입하고 있는 우리나라도 GMO 표시문제는 커다란 문제가 아닐 수 없다(11). 국내에서는 농림부가 2001년 3월부터 콩, 콩나물 및 옥수수에 대하여 비의도적 혼합치가 3%를 넘는 경우 유전자재조합 표시를 의무화하였으며, 그 해 7월부터는 이를 원료로 한 27개 가공식품에 대하여 식품의약품안전청에서 표시제도를 시행하도록 의무화하였다(12,13).

GMO 농작물의 편리성과 경제성으로 재배면적이 크게 증가되고, 다국적 식품회사를 중심으로 GMO에 대한 수요가 빠르게 증가하고 있어 관련 시장규모도 급속하게 성장할 것으로 전망되며, GMO 농작물의 유해 여부에 관해서 논란이 계속되고 있다(14-16). 이 같은 이유는 GMO를 오랜 기간

[†]Corresponding author. E-mail : khlee@dongnam.ac.kr,
Phone : 82-31-249-6433, Fax : 82-31-249-6430

섭취했을 경우 발생할 수 있는 여러 가지 문제점을 많은 과학자들이 지적하고 있기 때문이다. 그러나 이러한 유해 여부를 떠나서 현재 국내에는 GMO의 가부를 가릴 수 있는 실험법의 확립이 미비한 실정이다(17,18).

다양한 원료와 가공식품에 유전자재조합 콩의 혼입 여부를 확인하기 위하여 현재 이용 가능한 검사 방법에는 삽입된 유전자를 검출하는 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)법과 항체 특이성을 이용한 단백질을 분석하는 효소면역측정(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)법이 있다. 일반적으로 단백질을 대상으로 하는 효소면역측정(ELISA)법은 검출감도에 있어서 중합효소연쇄반응(PCR)법에 비해 떨어지며, 열처리 등으로 인한 단백질 변성을 유발할 수 있어 식품에서는 검출에 한계를 가지고 있다(19-22). 이에 GMO 판별에 대한 신뢰를 증가시키기 위해서는 무엇보다도 먼저 판별기술의 간편성 및 판정결과의 신속성과 정확성이 요구된다. 최근 분석방법 중 DHPLC 분석법은 유전자 분석 및 돌연변이를 확인하는데 이용되고 있으나, 국내에서는 DHPLC를 이용하여 유전자재조합 농작물을 검출한 예는 보고된 바가 전무한 실정이다(23,24).

따라서 본 연구에서는 기존의 중합효소연쇄반응(PCR)법보다 효율적인 유전자재조합 콩의 판별기술의 개발을 위해서 새로운 DHPLC (denaturing high performance liquid chromatography) 방법을 적용하여 판별방법을 비교, 검토하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 원료 콩은 2006년 수확되어 2007년도 재래시장, 유명마트에서 시판되는 국내산 및 수입산 콩으로 서리태와 백태인 대두(*Glycine max* L. MERRILL)를 구입하여 공시재료로 사용하였다.

DNA 추출

DNA추출은 액체 질소를 이용하여 멸균된 막자사발에서 대두를 고운 가루로 만들고 가루로 된 조직(0.3 g)을 2 mL tube로 옮겨주고, 액체질소가 빠져나간 후 65°C의 2X CTAB buffer 600 μ L를 넣고 잘 섞어주었다. RNase 10 μ L를 넣은 후 10 분 정도 65°C의 가열수조에 보관하였다. 같은 양의 4°C의 PCI-9를 넣고 완전히 혼합한 후 10,000 rpm에서 30초간 원심분리하여 상층액을 새로운 tube에 옮기고 1/10 volume의 1X CTAB buffer를 넣고 잘 섞어 주었다. PCI-9를 넣는 과정부터 1X CATB buffer를 사용하는 과정을 1회 반복하였다. 얻어진 상층액에 같은 양 만큼의 1X CTAB를 넣고 살짝 섞어주었다. 60 초 동안 원심분리한 후에 상층에 얻어진 pellet을 1X TE buffer 100 μ L로 용해하였다.

차가운 100%의 에틸알코올 500 μ L를 넣고 섞어준 다음 10,000 rpm에서 5 분간 원심분리한 후 상층액을 버리고 70% 에틸알코올 500 μ L를 넣고 10,000 rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 상층액을 버리고 얻어진 pellet을 건조 한 후에 D.W 또는 0.1X TE에 50 μ L~100 μ L로 용해하여 전기영동으로 확인하였다(12, 13).

프라이머 제작(Primer design)

원료 콩의 알려져 있는 내재유전자(LEC)와 GMO유전자(NO)를 증폭하기 위한 프라이머 세트는 Table 1과 같이 제작하여 사용하였다.

Table 1. Primer sequence sets used to amplify soybean for PCR

	Sequence 5' → 3'	bp	Product size
NO - FP1	GAA TCC TGT TGC CGG TCT TG	20	180 bp
NO - RP1	TTA TCC TAG TTT GCG CGC TA	20	180 bp
LEC - FP1	ACC AAA TCC ACA CAT CGG AAT	21	288 bp
LEC - RP1	GAA GCA AAA GAC CAA GAA AGC A	22	288 bp

중합효소연쇄반응(PCR)

중합효소연쇄반응은 시료를 94°C에서 5 분간 주형 DNA를 완전히 변성시킨 후(hot start) 다시 94°C에서 30 초간 변성, 58°C에서 30 초간 결합(annealing), 72°C에서 45 초간 신장(extension) 단계를 30회 반복하고 마지막으로 72°C에서 3 분간 마지막 신장(last extension)을 실시하였다. PCR반응 용액은 총 20 μ L이며 10X reaction buffer (100 mM tris-HCl; pH 9.0, (NH₄)₂SO₄, 20 mM MgCl₂, PCR enhancers) 2 μ L, 10 mM dNTP mix (2.5 mM each.) 2 μ L, forward and reverse primer (10 pmole/ μ L each.) 2 μ L, *Taq.* polymerase(5 U/ μ L) 0.1 μ L, template DNA (10 ng/ μ L) 1 μ L, deionized water 12.9 μ L로 구성되어 있다. DNA 증폭은 GeneAmp[®] PCR System 2700 (Applied Biosystems, USA)를 이용해서 DNA를 증폭시켰다.

Agrose gel 전기영동에 의한 증폭산물의 확인

PCR 증폭산물의 확인을 위하여 2%(w/v) agarose gel을 이용하여 전기영동장치(Mupid-a, Advance, Japan)로 분석하였다.

Agarose 2 g과 0.5X TBE (tris boric acid EDTA) 완충용액 100 mL 섞어 2% gel을 만든 후 PCR 산물 4 μ L와 6X bromophenol blue (BPB) dye 0.8 μ L를 섞어서 gel에 loading 하고 100 V에서 25분 동안 전기영동 시켰다. 그 후에 gel을 ethidium bromide로 10분간 염색하고 다시 10 분간 증류수로 DNA와 결합하지 못한 ethidium bromide를 씻어냈으며, UV transilluminator 위에 agarose gel을 올려놓고 PCR 여부를 확인하였다.

Size based DHPLC 방법에 의한 대두의 유전자형 판별

유전자재조합 콩의 판별을 위하여 PCR 산물을 전기영동과 정제 과정을 거치지 않고, 곧바로 DHPLC (WAVE[®] SYSTEM, Transgenomic, USA)를 사용하여 검출하였다.

DHPLC에 사용되는 컬럼은 DNA Sep column, non-porous poly(styren-divinyl-benzene) particle을 사용하고, mobile phase는 buffer A와 (0.1M tryethylammonium acetate (TEAA) buffer B (0.1M TEAA, 25% acetonitrile)를 사용하였다.

컬럼의 재현성과 완충용액 이동상의 상태를 확인하기 위해 size standard (Trangenomic, USA)를 5 µL씩 3번 주입하여 분석하였다. 이 후 PCR 산물을 컬럼 오븐 온도 50°C에서 이동상의 속도를 0.75 mL/min로 하여 5 µL 주입해 WAVEMAKER[™] software (Table 2)에 의해 정해진 gradient 조건으로 분석하였고, UV 검출기로 260 nm에서 검출하였다(8).

Table 2. Gradient condition of mobile phase in WAVEMAKER[™] program

Step	Time(min)	%A	%B
Loading	0.0	65	35
step1(3.6min)	1.5	55	45
step2(3.6min)	3.0	45	55
step3(3.6min)	6.5	40	60
step4(3.6min)	10.0	35	65
step5(3.6min)	13.5	35	65
Start clean	15.0	0	100
Stop clean	16.5	0	100
Start equilibrate	17.5	65	35
Stop equilibrate	19.5	65	35

PCR 방법과 DHPLC 방법의 정량 분석

대두의 DNA(15 ng/µL)를 1/10 만큼 serial dilution 하여 PCR 방법과 DHPLC 방법을 검출 테스트를 한 결과, 각각의 실험에서 농도별 detection limit 확인하였다(Table 3, Fig. 3~Fig. 6).

Table 3. Comparison of the PCR with DHPLC

	PCR	DHPLC
Detection range	15 (ng/µL) ~ 15×10 ⁴ (ng/µL)	15 (ng/µL) ~ 15×10 ⁵ (ng/µL)
Running time	40 min (Electrophoresis)	20 min
Volume	20~25 µL	5 µL

결과 및 고찰

PCR을 통한 GM 콩의 유전자 판별

원료 콩의 GM 유무를 확인하기 위해서 Table 1의 primer sets를 사용하여 PCR을 실시하였다. Fig. 1에서 GM 콩의 경우에는 내재 유전자인 Lectin 유전자 밴드(288 bp)와 재조합 유전자인 NOS terminator 유전자 밴드(180 bp)가 확인되었고(Fig. 1. lane 2), GM 콩이 아닌 경우에는 내재 유전자인 Lectin 유전자 밴드만을 확인할 수 있었다(Fig. 1, lane 3). 그 결과 미국산 백태를 제외한 국산 서리태와 백태 그리고 러시아산 백태는 GM 콩이 아닌 것으로 판명되었다(3-5).

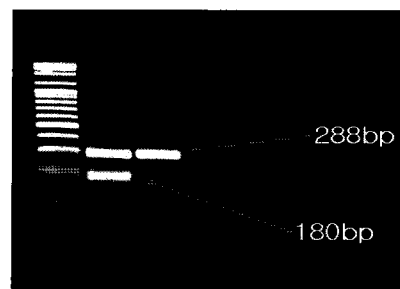


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of the GM soybean DNA PCR product.

Lane 1 : 100 bp DNA ladder (100 ng/ml).
 Lane 2 : PCR product from the GM soybean (Lectin : 288 bp, NOS terminator : 180 bp).
 Lane 3 : PCR product from the non GM soybean (Lectin : 274 bp).
 Lane 4 : negative control.

Size based DHPLC 방법에 의한 콩의 유전자 판별

DHPLC 분석법은 DNA 돌연변이를 검출하거나 정제하는 새로운 방법으로 PCR 산물을 전기영동이나 정제하지 않고 바로 분석할 수 있으며, 시료 당 10~20 분이면 분석이 가능하고 분석 과정을 실시간으로 확인할 수 있기 때문에 노동력과 시간을 절약할 수 있었다. 또한 모든 실험 과정이 자동화되어 있어 분석 결과의 재현성이 높다고 평가할 수 있었다.

정제 과정을 거치지 않은 PCR 산물을 자동 시료주입기에 장착하면 syringe에 의해 컬럼에 주입되어 적절한 이동상의 gradient로 분리하면 DNA 단편의 크기 차이에 의해 다형성을 검출할 수 있었다.

우선 컬럼의 재현성과 이동상 완충용액의 상태를 확인하기 위해서 size standard를 5 µL씩 3번 주입하여 분석하였다. 그 후 PCR 산물을 분석하여 대두의 GM 여부를 확인하였다(Fig. 2). 그 결과 PCR 방법을 통한 결과와 같은 결과를 얻을 수 있었다.

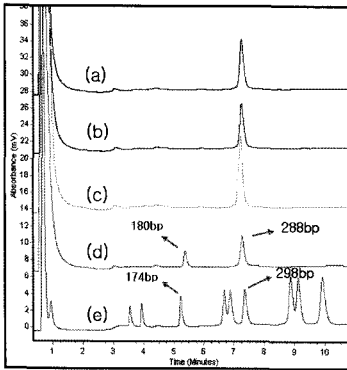


Fig. 2. Sizing of GM soybean samples by DHPLC analysis.

(a) *Glycine max* L. MERRILL-black soybean (Korea).
 (b) *Glycine max* L. MERRILL-yellow soybean (Korea).
 (c) *Glycine max* L. MERRILL-yellow soybean (Russia).
 (d) *Glycine max* L. MERRILL-yellow soybean (USA).
 (e) Sizing control*.
 *Fragment sizes: basepairs (bp) 80, 102, 174, 257, 267, 298, 434, 458, 587.

PCR 방법과 DHPLC 방법의 정량 분석

원료 콩의 DNA(15 ng/μL)를 1/10 만큼 serial dilution 하여 PCR 방법과 DHPLC 방법을 검출 테스트를 한 결과, PCR 방법에서는 15 ng/μL 의 10⁻⁴의 DNA 농도까지 분석되었으며 DHPLC의 경우는 15 ng/μL 의 10⁻⁵ 농도도 분석할 수 있었다 (Table 3, Fig. 3~Fig. 6).

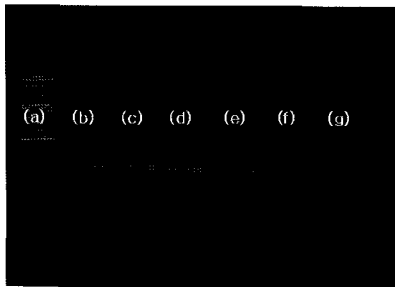


Fig. 3. Concentration detection of GM soybean samples by PCR analysis.

(a) : Marker, (b) : 15 (ng/μL), (c) : 15×10¹(ng/μL), (d) : 15×10²(ng/μL), (e) : 15×10³(ng/μL), (f) : 15×10⁴(ng/μL), (g) : 15×10⁵(ng/μL).

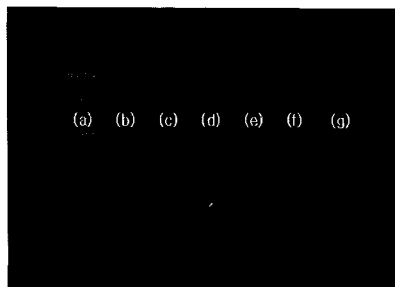


Fig. 4. Concentration detection of non GM soybean samples by PCR analysis.

(a) : Marker, (b) : 15 (ng/μL), (c) : 15×10¹(ng/μL), (d) : 15×10²(ng/μL), (e) : 15×10³(ng/μL), (f) : 15×10⁴(ng/μL), (g) : 15×10⁵(ng/μL).

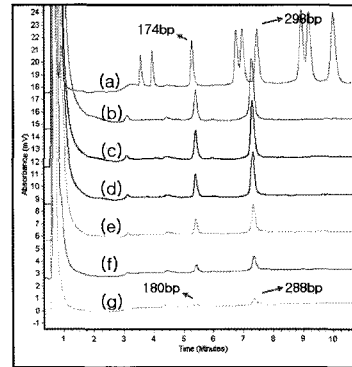


Fig. 5. Concentration detection of GM soybean samples by DHPLC analysis.

(a) : Sizing control*, (b) : 15 (ng/μL), (c) : 15×10¹(ng/μL), (d) : 15×10²(ng/μL), (e) : 15×10³(ng/μL), (f) : 15×10⁴(ng/μL), (g) : 15×10⁵(ng/μL).
 *Fragment sizes: basepairs(bp) 80, 102, 174, 257, 267, 298, 434, 458, 587.

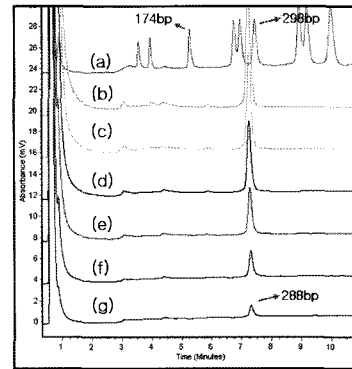


Fig. 6. Concentration detection of non GM soybean samples by DHPLC analysis.

(a) : Sizing control*, (b) : 15 (ng/μL), (c) : 15×10¹(ng/μL), (d) : 15×10²(ng/μL), (e) : 15×10³(ng/μL), (f) : 15×10⁴(ng/μL), (g) : 15×10⁵(ng/μL).
 *Fragment sizes: basepairs bp) 80, 102, 174, 257, 267, 298, 434, 458, 587.

유전자재조합 콩의 간단하고 빠른 분석을 위해 PCR 방법과 DHPLC 방법을 사용하였다. 원료 콩을 분말로 분쇄하여 DNA를 채취 후 유전자 변형 대두의 특이 유전자(180 bp, 288 bp)를 증폭하여 검출 한계를 측정하였다. 유전자재조합 농작물을 효과적으로 검출할 수 있는 방법은 ELISA와 PCR 방법이다. 하지만 ELISA는 검출 감도가 PCR에 비해 낮고 열에 의한 단백질 변성까지 나타날 수 있어 재현성과 감도에 문제가 될 수 있다(9-11).

PCR 방법은 ELISA 방법에 비해 빠르고 간편하여 많이 이용되고 있지만 전기영동으로의 검출 한계가 있어 문제가 되고 있다. 따라서 검출 한계를 높일 수 있는 DHPLC 방법을 사용하였다. 그 결과 PCR방법에서는 15 ng/μL의 10⁻⁴ 농도까지 검출할 수 있었고, DHPLC 방법으로는 15 ng/μL의 10⁻⁵ 농도까지 검출 할 수 있었다. 또한 신속성을 비교한 결과 PCR 방법은 전기영동의 결과가 60분 정도 소요되지만 DHPLC 방법은 20분 안에 결과를 확인할 수 있었다.

유전자재조합 콩의 검출 방법으로 PCR 방법과 DHPLC 방법이 모두 사용가능 하지만 신속성과 감도는 DHPLC

방법이 더 효과적인 것으로 확인되었다.

현재 유전자 변형 농산물의 수가 증가할 뿐만 아니라 더 많은 종류의 특이 유전자 변형이 이루어지고 있고 알려져 있지 않다. 앞으로 유전자 변형 농산물의 특이 유전자 부위를 DHPLC 방법을 이용하여 찾아낼 것이다.

요 약

본 연구는 유전자재조합(genetically modified, GM) 콩 (*Glycine max* L. MERRILL)의 검출에 빠르고 감도가 높은 기술을 모색하기 위하여 수행되었다. 기존의 PCR (polymerase chain reaction) 방법과 새로운 방법으로 시도된 DHPLC (denaturing high performance liquid chromatography) 방법으로 유전자재조합 콩을 확인하였다. DHPLC 방법은 기존의 PCR 방법에서의 전기영동이 방법 대신 컬럼을 이용하여 분석할 수 있다. 때문에 분석시간도 60분에서 20분으로 단축시킬 수 있다. 검출한계도 PCR 방법에서는 15 ng/μL의 10⁴ 농도까지 검출할 수 있었고, DHPLC 방법으로는 15 ng/μL의 10⁵ 농도까지 검출할 수 있었다. 따라서 유전자재조합 콩 검출법으로 DHPLC 분석법이 PCR 분석법보다 빠르고 정확한 효과적인 방법임을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 2007년도 교육인적 자원부 특성화 프로그램의 국고 재정지원 연구비에 의하여 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- James, C. (2001) Global review of commercialized transgenic crops; 2001, ISAAA briefs Ithaca, NY, No. 24, p.1-31,
- Kim, M.H., Ahn, J.M., Park, S.W., Kim, Y.S. and Kung, K.H. (2001) Survey of consumer awareness and attitudes about food biotechnology on Korean, J. Food Hyg. Saf., 16, 152-158
- Kim, M.H., Kim, J.W., Chae, K.Y., Park, S.W., Kim, Y.S. and Kyung, K.H. (2002) Consumer awareness and perception of genetically-modified foods in Korea; 2000-2001. J. Food Hyg. Saf., 17, 157-165
- Shin, W.S. and Kim, M. (2003) Optimized condition of genomic DNA extraction and PCR methods for GMO detection in potato, Korean J. Food Sci. Technol., 34, 591-597
- Shin, W.S. and Kim, M. (2003) Optimized condition of genomic DNA extraction and PCR methods for GMO detection in potato. Korean J. Food Sci. Technol., 35, 591-597
- Meyer, R., Chardonens, F. Hüber, P. and Luthy, J. (1996) Polymerase chain reaction (PCR) in the quality and safety assurance of food : detection of soya in processed meat products. Z. Lebnsn. Unters. Forsch. 203, 330-344
- Roberts, P.S., Jozwiak, S., Kwiatowski, D.J. and Dabora, S.L. (2001) Denaturing high performance liquid chromatography (DHPLC) is a highly sensitive, semi-automated method for identifying mutations in the TSCI gene. J. Biochem. Biophys. Meth., 47, 33-38
- Oefner, P.J. (2000) Allelic discrimination by denaturing high performance liquid chromatography. J. Chromatogr. Biomed. Sci., 739, 345-355
- Hubner, P., Studer, E. and Luthy, J. (1999) Quantitative competitive PCR for the detection of genetically modified organisms in food. Food Control, 10, 353-358
- Lin, H.Y., Chiang, J.W. and Shih, Y.C. (2001) Detection of genetically modified soy beans by PCR method and immunoassay kit. J. Food Drug Analysis, 9, 160-166
- Lin, H.Y., Chiueh, L.C. and Shih, Y.C. (2000) Detection of genetically modified soy beans and maize by the polymerase chain reaction method. J. Food Drug Analysis, 8, 200-207
- KFDA. (2000) Biotech labelling standards for processed foods. Kore Food and Drug Administration, No. 2000-43, Seoul, Korea
- KFDA. (2001) Biotech labelling standards for processed foods(revised). Kore Food and Drug Administration, Seoul, Korea, No. 2001-43
- Lipp, M., Anklam, E. and Stave, J.W. (2000) Validation of an immunoassay for detection and quantification of a genetically modified soybean in food and food fractions using reference materials: interlaboratory study. JAOAC., 83, 919-927
- Lipp, M., Brodmann, K., Pietsch, K., Pauwels, J. and Anklam, E. (1999) IUPAC collaborative trial study of a method to detect genetically modified soy beans and maize in dried powder. JAOAC., 82, 923-928
- Lipp, M., Bluth, A., Eyquem, F., Kruse, L., Schimmel, H., Eede, G.V., et al. (2001) : Validation of a method based on polymerase chain reaction for the detection of genetically modified organisms in various processed foodstuffs. Eur. Food Res. Technol., 212(4), 497-504

17. Mathews, C. K., & Holder, K. E. V. (1990) Part II: Molecular architecture of living matter. C. K. Mathews & K. E. V. Holder (Eds.), *Biochemistry* p.146-148
18. Matsuoka, T., Kuribara, H., Takubo, K., Akiyama, H., Muira, H., Goda, Y., et al. (2002) Detection recombinant DNA segments introduced to genetically modified maize(*Zea mays*). *J. Agri. Food Chem.*, 50, 2100-2109
19. Meyer, R. (1999) Development and application of DNA analytical methods for the detection of GMOs in food. *Food Control*, 10, 391-399
20. Tengel, C., Schußler, P., Setzkw, W., Balles, J. and Sprenger-Haußles, M. (2001) PCR-based detection of genetically modified soybean and maize in raw and highly processed foodstuffs. *Biotechniques*, 31, 426-429
21. Birch, L., Charlotte, L., Archard, Helen, C., Parkes, David, G., et al (2001) Evaluation of LabChip™ technology for GMO analysis in food. *Food Control*, 12, 535-540
22. Meyer, R., Chardonnens, F., Hubner, P. and Luthy, J. (1996) Polymerase chain reaction (PCR) in the quality and safety assurance of food: detection of soya in processed meat products. *Eur. Food Res. Technol.*, 203(4), 339-344
23. Muscarella, L.A., Piemontese, M.R., Barbano, R., Fazio, A., Guarnieri and Guarnieri, V. et al (2007) Novel mutations of dystrophin gene in DMD patients detected by rapid scanning in biplex exons DHPLC analysis. *Biomol. Eng.*, 24, 231-236
24. Goldenberg, O., Herrmann, S., Marjoram, G., Noyer-Weidner, M. and Hong, G., et al (2007) Molecular monitoring of the intestinal flora by denaturing high performance liquid chromatography. *J. Microbiol. Methods*, 68, 94-105

(접수 2007년 12월 16일, 채택 2008년 1월 14일)