

인공위액조건과 예열처리에 따른 GM 콩 도입단백질(CP4EPSPS)의 소화성 평가 - 연구노트 -

최미희 · 김건희[†]

덕성여자대학교 식품영양학과

In vitro Digestibility Assessment of CP4EPSPS in GM Soybean under Different Conditions of Simulated Gastric Fluid and Preheating

Mi-Hee Choi and Gun-Hee Kim[†]

Dept. of Food and Nutrition, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

Abstract

Gastrointestinal digestibility of new proteins inserted in the food supply is a significant parameter for assessing the safety of GM foods based on the assumption that digestive stability is undesirable. In this study, we performed *in vitro* digestion of CP4EPSPS, a new protein, expressed in genetically modified (GM) soybean in order to evaluate its digestibility in three different ratios of simulated gastric fluid with preheating. Ratios of GM soybean to simulated gastric fluid were 2:2, 2.5:1.5, and 1.5:2 and preheating was conducted at 100°C for 5 min. Electrophoresis and Western blotting were used to confirm changes in soybean protein patterns and CP4EPSPS gene expression after *in vitro* digestion. At ratios in which the amount of gastric fluid was equal to (2:2) or relatively higher than that of soybean (1.5:2), no CP4EPSPS (47.4 kDa) protein was detected after 15 seconds of simulated gastric fluid incubation, the earliest time interval evaluated. However, when the ratio of GM soybean to gastric fluid was 2.5:1.5, CP4EPSPS was detected in 5 min and gradually decreased according to time. After preheating, no CP4EPSPS protein was detected after 15 seconds under all conditions. From these results, we concluded that the digestibility of CP4EPSPS in simulated gastric fluid increased upon preheating. Accordingly, we suggest that it is important to account for the ratio of gastric fluid to GM food in *in vitro* digestibility assessment models of GM food.

Key words: GM soybeans, cp4epsps, simulated gastric fluid, preheating, digestibility

서 론

유전자재조합 기술의 발달은 재래 육종법에서 불가능했던 다른 종으로의 유전자 도입을 가능하게 하였고, 그 결과 새로운 단백질이 발현된 새로운 형질의 유전자재조합체가 생산·소비되게 되었다. 상업적으로 재배되는 유전자재조합 곡물은 콩, 옥수수, 카놀라, 감자, 토마토 등이 있으며, 현재 제초제 내성과 해충 저항성이 있는 유전자를 삽입한 농작물들이 가장 널리 재배되고 있다(1). 이러한 새로운 도입유전자들은 농작물의 대사기능을 변형시키고 영양을 향상시키며 비생물 스트레스에 저항성이 강한 특성들을 가지고 있다(2). 그러나 최근에는 유전자재조합식품이 제품의 원료나 식품으로 섭취가 늘면서 유전자 상호작용에 의한 독성물질의 생성, 알레르기 유발, 유전자 전이, 항생제 내성, 살충제 남용에 의한 암 발생의 증가(3,4)와 생태계에서는 유전자 오염(5) 등 인체 및 환경에 대한 안전성 문제에 대한 논쟁의 대상이 되고 있다.

유전자재조합식품의 안전성에 관한 주요한 쟁점 중의 하나는 유전자재조합식품의 도입단백질이 인간이나 동물에게 알레르기를 유발하는지의 여부이며(6), 이를 평가하기 위해서 FAO/WHO에서는 도입단백질의 알레르기 유발물질(allergen)로 알려진 아미노산 배열과의 유사성 및 *in vitro/in vivo*의 위장 및 장액조건에서의 소화성 평가를 권하고 있다(7). 알레르기 유발물질은 인체소화기관(GI tract)의 변성 조건에 상대적으로 안정한 것으로 보고되어져 있으므로, 인공 위·장액의 단백질 분해효소에 의한 도입단백질의 소화성을 평가하는 것으로 단백질의 안전성 및 알레르기 유발가능성을 예측할 수 있다(6,8). 그러나 소화성을 평가하기 위한 표준화된 실험방법의 부재로 인해 측정된 소화성의 차이가 나타나게 되는데, 이러한 차이는 pH, 펩신의 순도, 펩신과 단백질 양의 비율, 단백질의 순도와 구조적 형성, 검출방법의 차이 등이 있다(9). 따라서 유전자재조합 콩의 도입단백질에 대한 안전성 및 알레르기 유발가능성을 예측하기 위한 소화성 평가에 대한 실험방법의 표준화 설정이 필요하다.

[†]Corresponding author. E-mail: ghkim@duksung.ac.kr
Phone: 82-2-901-8496, Fax: 82-2-901-8474

국내에서 주로 가공·유통되고 있는 유전자재조합 콩 Roundup Ready는 제초제 저항성 콩으로 제초제 glyphosate나 glufosinate에 대해 저항성을 가지고 있으며, *Agrobacterium* sp. CP4에서 유래한 유전자를 함유하고 있는데, 이 삽입 유전자에서 5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate synthase(CP4EPSPS)가 발현된다(10-12). 이러한 GM 콩들은 두부, 두유, 콩기름, 된장, 스낵류 등 가공식품 형태나 사료 등으로 광범위하게 이용되고 있다(13).

본 실험에서는 제초제 내성을 가지는 CP4EPSPS를 도입시킨 유전자재조합 콩을 이용하여 인공위액의 비율에 따른 도입단백질의 소화 특성을 평가하고, 주로 조리하여 섭취하는 콩의 섭취 형태를 고려하여 열처리가 유전자재조합 콩의 소화성에 미치는 영향을 살펴봄으로써 *in vitro* 소화성 평가를 이용한 유전자재조합 콩의 안전성 평가를 위한 표준화 설정의 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

유전자재조합 콩 시료

제초제 저항성(CP4EPSPS) 콩이 포함된 기름유착용 수입산 대두를 분쇄기로 분쇄한 후 aperture 1.0 mm(#18)와 710 μm(#25) 2개의 testing sieve를 차례로 사용하여 균일화한 콩 분말 2 g에 15 mL의 20 mM phosphate buffer를 넣고 잘 혼합한 것을 소화성 평가를 위한 시료로 사용하였다. 예열처리 시료는 100°C에서 5분간 중탕 가열하여 사용하였다.

인공위액조건에서의 유전자재조합 콩의 소화성 평가

20 mM phosphate buffer를 넣은 GM 콩 시료에 인공위액(3.2 mg porcine pepsin/1 mL 0.1 M HCl)을 넣고 HCl 용액으로 pH 2.0으로 조정된 후 37°C shaking water bath에서 1시간 동안 배양하면서 0초, 15초, 30초, 1분, 5분, 10분, 20분, 30분, 60분에 각각 20 μL씩 취하여 소화성을 평가하였다. 0초의 경우 0.2 M Na₂CO₃로 불활성화 시킨 pepsin액을 사용하며, 15초 이후의 샘플에는 pepsin의 활성을 억제하기 위해 동량의 0.2 M Na₂CO₃를 넣어주었으며, 시료와 인공위액의 비율은 Table 1에 나타내었다.

단백질추출 및 정량

시간별로 얻어진 시료에 lysis buffer(2 M thiourea, 7 M urea, 4%(w/v) CHAPS)와 1% DDT를 넣고 3시간 동안 shaking한 후에 12,000×g에서 30분간 원심분리 하여 단백질을 추출한 후 상등액을 취하여 Bradford법으로 단백질을 정량하였다. 시약은 상업적으로 시판되는 Bio-Rad(Hercules,

CA, USA)의 단백질 정량 kit를 사용하였다.

SDS-PAGE 및 Western blot 분석

추출된 단백질 시료에 동량의 2×sample buffer(25 mL 4×Tris-Cl, 20 mL glycerol[20%(w/v)], 4 g SDS[4%(w/v)], 2 mL 2-mercaptoethanol, 1 mg bromphenol blue[0.001%(w/v)])를 섞어 95°C에서 5분간 끓여 ice에서 급냉시킨 후 12% SDS-PAGE 방법을 사용하여 Mini transblot cell kit(Bio-Rad)에서 2시간 동안 100 volt로 전기영동 하여 단백질의 패턴을 확인하였다. 전기영동 후에는 Mini transblot cell kit(Bio-Rad)를 이용하여, gel상의 단백질을 4°C에서 30 volt로 13시간 동안 nitrocellulose membrane(Whatman, Maidstone, UK)으로 이동시켰다. Membrane은 5% non-fat milk로 2시간 blocking 시킨 후에 PBS-T buffer로 5분씩 6회 washing을 수행하였다. 일차항체인 EPSPS 다중항체는 5,000:1로 희석하여 2시간 동안 반응시킨 후 같은 방법으로 세척하였으며, 이차항체인 Anti-rabbit IgG는 10,000:1로 희석하여 1시간 처리한 후 PBS buffer로 5분씩 6회 세척하였다. 최종적으로 Western blotting 검출은 ECL(Amersham Bioscience, Piscataway, NJ, USA)을 사용하여 도입단백질의 소화 여부를 확인하였다. 전기영동과 Western blot의 이미지는 Gel Doc XR System(Bio-Rad)을 이용하여 얻었으며, optical density는 image analysis software인 Quantity one(Bio-Rad)을 사용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

유전자재조합 콩의 CP4EPSPS 단백질과 정제 CP4EPSPS 단백질의 비교

제초제 저항성을 나타내는 도입단백질 CP4EPSPS를 갖는 유전자재조합 콩의 단백질추출물을 SDS-PAGE 겔을 이용한 전기영동에 의해 분리하였으며, 유전자재조합 콩 단백질의 전기영동패턴은 Fig. 1과 같다. 펩신 내성 실험에는 원

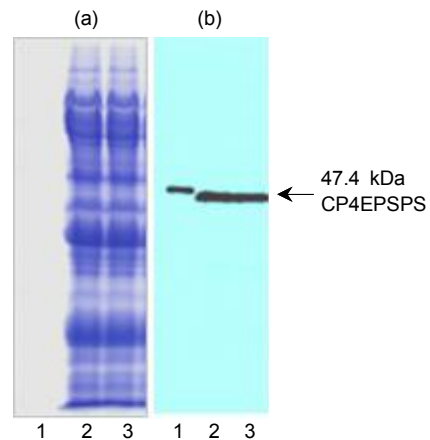


Fig. 1. (a) SDS-PAGE and (b) Western blot of CP4EPSPS expressed in GM soybeans. Lane 1, purified recombinant CP4EPSPS protein in *E. coli* system; Lane 2 and 3, GM soybeans.

Table 1. The ratio of GM soybean and simulated gastric fluid (SGF) (mL)

	I	II	III
GM soybean mix	2.0	2.5	1.5
Simulated gastric fluid	2.0	1.5	2.0

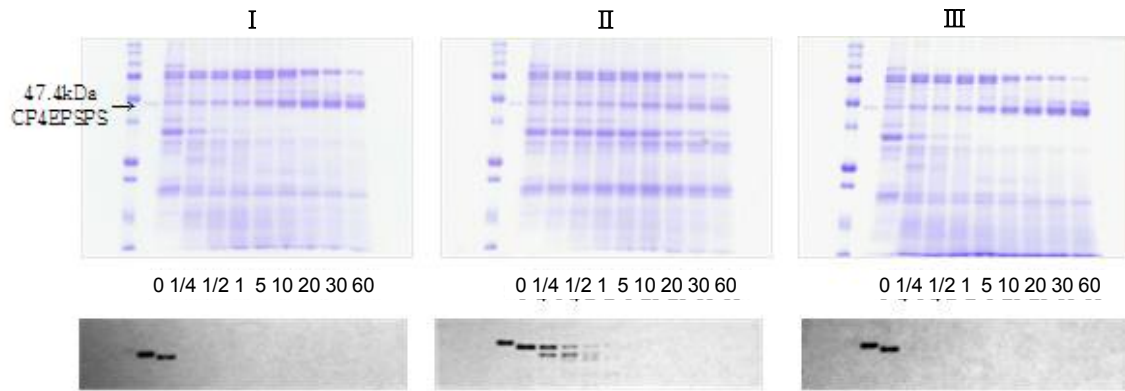


Fig. 2. SDS-PAGE (top) and Western blotting (bottom) analysis of CP4EPSPS expressed in GM soybeans by three different ratios of simulated gastric fluid.

Table 2. Digestibility of CP4EPSPS expressed in GM soybeans by three different ratios of simulated gastric fluid

Incubation time (min)	Amount remaining (%)		
	I ¹⁾	II ²⁾	III ³⁾
0	100.0 ⁴⁾	100.0	100.0
1/4	81.8±2.7	98.2±2.5	70.1±2.1
1/2	ND ⁵⁾	66.8±4.6	ND
1	ND	32.3±1.9	ND
5	ND	12.1±1.8	ND
10	ND	ND	ND

¹⁾GM soybean : SGF=2.0:2.0. ²⁾GM soybean : SGF=2.5:1.5.

³⁾GM soybean : SGF=1.5:2.0.

⁴⁾The optical density of the 47.4 kDa band at each incubation time as a percentage of that at 0 sec was determined. Data are the average of two experiments.

⁵⁾ND: not detected.

래의 유전자재조합 식품에 함유되어 있는 단백질을 사용하기보다는 대장균과 같은 미생물에서 대량으로 발현하여 분리한 것을 사용하는 것이 일반적이다(14). 그러나 본 실험에서는 유전자재조합 콩을 대상으로 도입단백질의 소화성을 평가하기 위해 *E. coli* 단백질 발현 시스템에서 발현하여 정제한 CP4EPSPS 단백질과 함께 Western blot 분석을 시행한 결과, 분자량 47.4 kDa인 CP4EPSPS가 유전자재조합 콩에서 검출되었으며 두 단백질이 동일한 것으로 나타났다.

인공위액조건에 따른 유전자재조합 콩의 CP4EPSPS의 소화성 변화

도입단백질의 펩신 내성에 대한 소화성 평가 시 효소나 단백질의 양, pH, 온도 등 실험의 조건에 따라 다양한 결과가 나타날 수 있는데, 펩신의 pH 경우 국제생명과학위원회/국제식품생명과학위원회에서는 pH 1.2에서 펩신 내성 실험을 하도록 정하고 있으나, CODEX에서는 Astwood가 사용한 미국약전에서 사용하는 방법(pH 2.0)을 권고하고 있다(15). 본 실험에서는 CODEX의 권고에 맞춰 펩신의 pH는 2.0으로 하였으며, 유전자재조합 콩과 펩신의 비율에 따른 도입단백질 CP4EPSPS의 소화성을 비교한 결과, 조건 I (시료 : 인공

위액=2.0:2.0=1:1)과 조건 III(시료 : 인공위액=1.5:2.0=1:1.3)의 단백질패턴은 유사하게 나타났으나, 조건 II(시료 : 인공위액=2.5:1.5=1:0.6)의 단백질패턴은 소화성이 낮은 것으로 나타났다(Fig. 2). 이는 조건 II의 경우 GM 콩 대비 펩신의 양이 다른 조건들보다 상대적으로 적었기 때문으로 (1:0.6) 위액에 존재하는 펩신에 의한 단백질의 소화가 펩신의 양에 의해 영향을 받는다는 것을 나타낸다.

도입단백질인 CP4EPSPS의 소화성은 Western blot에 의해 평가하였다(Fig. 2, Table 2). 0초의 경우 0.2 M Na₂CO₃로 불활성화 시킨 pepsin액을 사용하였으며, 15초 이후부터는 동량의 0.2 M Na₂CO₃를 넣어주어 펩신을 불활성화 시켰다. 인공위액조건 I 과 조건 III에서 도입단백질인 CP4EPSPS는 15초에 각각 18.2%, 29.9%의 소화성을 나타냈으나 30초 이후에는 모두 소화되어 검출되지 않았다. 이에 반해 인공위액 조건 III에서는 상대적으로 긴 시간인 5분까지 87.9%의 소화성을 보이다 모두 소화되는 것으로 나타났다.

Harrison 등(16)의 보고에 의하면, 일반적으로 *in vitro* 상의 인공위액에서의 도입단백질의 분해실험에서 보통 1분 이내에 90% 이상의 도입 단백질이 분해되는데 CP4EPSPS도 30초 이내에 90% 이상 분해되는 것으로 알려져 있다. 또한 상대적으로 분해시간이 긴 mCry3A, Cry1Ab, Cry34Ab1 등도 10분 이내에 분해되는 것으로 알려져 있어 대부분의 발현 단백질이 펩신에 대한 저항성이 거의 없는 것으로 받아들여지고 있다(9). 그러나 인공위액을 통한 펩신 내성 실험이 대장균과 같은 미생물에서 발현시켜 정제한 단백질을 주로 사용하는 반면, 본 실험에서는 도입단백질 외에도 다양한 단백질을 함유하고 있는 유전자재조합 콩을 대상으로 한 점과 사용한 인공위액의 양, 펩신의 단위, 단백질의 양 등의 차이에 의해 기존의 결과와는 다르게 나타난 것으로 사료된다. 따라서 도입단백질의 펩신 내성 즉 소화성 평가에서 펩신의 양 및 기타 요건들에 대한 실험방법의 표준화가 시급하리라 사료된다.

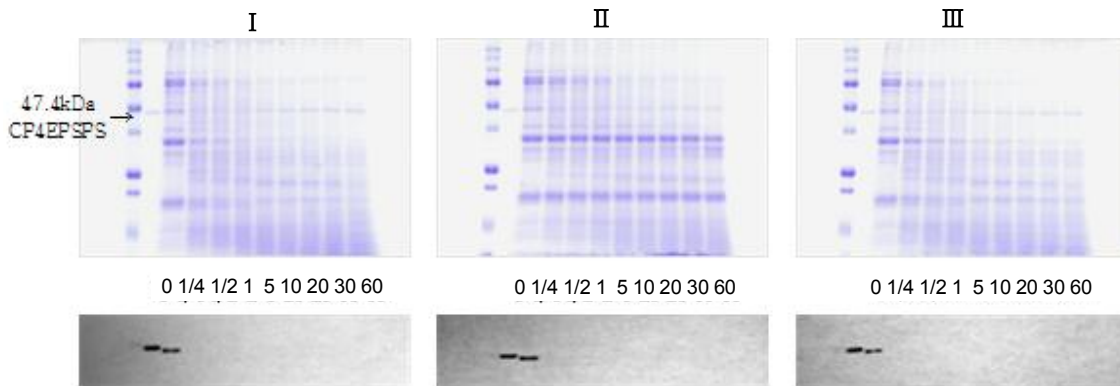


Fig. 3. SDS-PAGE (top) and Western blotting (bottom) analysis of preheated CP4EPSPS from GM soybeans by three different ratios of simulated gastric fluid.

Table 3. Digestibility of preheated CP4EPSPS from GM soybeans by simulated gastric fluid

Incubation time (min)	Amount remaining (%)		
	I ¹⁾	II ²⁾	III ³⁾
0	100.0 ⁴⁾	100.0	100.0
1/4	69.8±2.2	73.9±3.5	45.7±3.8
1/2	ND ⁵⁾	ND	ND
1	ND	ND	ND
5	ND	ND	ND
10	ND	ND	ND

¹⁾GM soybean : SGF=2.0:2.0. ²⁾GM soybean : SGF=2.5:1.5.

³⁾GM soybean : SGF=1.5:2.0.

⁴⁾The optical density of the 47.4 kDa band at each incubation time as a percentage of that at 0 sec was determined. Data are the average of two experiments.

⁵⁾ND: not detected.

예열처리에 따른 유전자재조합 콩의 CP4EPSPS의 소화성 평가

유전자재조합식품의 안전성을 고려할 때 재조합 유전자의 삽입에 의해 만들어지는 단백질과 새로운 유전자가 삽입됨으로써 계놈상의 발현 유전자의 변화에 의해 나타나는 단백질 및 이를 효소로 하여 만들어지는 2차 대사산물이 문제가 될 수 있다(14). 단백질의 안전성은 급성독성과 알레르기성이 알려져 있으며, 이 중 알레르기성이 가장 주목받고 있다. 이에 알레르기성 변화에 대한 다양한 연구들이 많이 진행되고 있는데 그중 가열처리에 따른 식품의 알레르기성 변화에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 참치나 연어의 경우에는 가열처리 후에 알레르기성을 상실하는 것으로 보고되고 있고(17), 계란의 경우에는 열처리 후에도 알레르기성이 계속 존재하는 것으로 알려져 있으며(18), 콩의 알레르기성은 가열처리에 의해 변화되지 않는 것으로 알려져 있다(19). 또한 Astwood 등(6)이 땅콩과 대두의 주요 알레르겐은 시금치의 ribulose bis-phosphate carboxylase/xygenase와 같이 알레르겐이 아닌 것보다 인공위액에서 더 안정하다는 사실을 보고한 이후 펩신소화에 대한 내성이 알레르기성의 주요한 요인으로 인식되어 왔다.

따라서 본 연구에서는 콩이 주로 가열처리를 한 후 섭취하

는 식품이기 때문에, 100°C에서의 예열처리에 의한 도입단백질의 변성과 그에 따른 인공위액 조건에서의 내성 즉 소화성의 변화를 알아보았다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 예열처리를 하지 않은 단백질패턴(Fig. 2)과 비교해볼 때 예열처리에 의한 단백질의 변성은 도입단백질의 소화성을 증가시켰으며, Western blot 결과에서 조건 I, II, III 모두에서 도입단백질 CP4EPSPS가 15초 내에 완전히 소화되었다. 특히 조건 II의 경우는 인공위액의 비율이 상대적으로 낮음에도 예열처리에 의해 소화성이 많이 증가한 것으로 나타났다(Table 3).

이는 정제된 형태의 CP4EPSPS와 GM 콩 유래 CP4EPSPS 둘 다 예열처리에 의해 인공위액 및 인공장액 조건에서의 소화성이 증가하였다는 Harrison 등(16)과 Okunuki 등(20)의 보고와도 일치하는 것이다. Kim 등(21) 또한 GM 콩으로 만든 두부와 된장의 분석을 통해 마쇄, 건조, 데치기, 끓이기 등의 가공과정에 의해 CP4EPSPS가 분해된다고 보고한 바 있으며, Pack 등(22)도 열처리나 고압열처리와 같은 강력한 가공처리가 도입유전자가 검출이 되지 않을 정도로 DNA와 단백질을 작은 절편들로 파괴함으로써 GM 작물을 가공식품의 형태로 섭취할 경우 그 위험성은 크게 줄어든다고 보고한 바 있다. 이와 마찬가지로 본 실험에서도 유전자재조합 콩에 대한 예열처리가 도입단백질 CP4EPSPS의 펩신에 대한 내성을 많이 감소시킴을 알 수 있었다.

요 약

본 실험은 제조제 내성을 가지는 CP4EPSPS를 도입시킨 유전자재조합 콩을 이용하여 인공위액의 비율에 따른 도입단백질의 소화특성을 평가하고, 열처리가 유전자재조합 콩의 도입단백질의 소화성에 미치는 영향을 살펴보았다. 유전자재조합 콩과 펩신의 비율에 따른 도입단백질 CP4EPSPS의 소화성은 인공위액 즉 펩신의 양에 따라 차이를 나타내 유전자재조합 식품의 도입단백질에 대한 소화성 평가에서 펩신의 양이 중요한 요인이 됨을 알 수 있었다. 또한 유전자

재조합 콩에 대한 열처리와 도입단백질 CP4EPSPS의 펩신에 대한 내성을 많이 감소시켜 소화성을 높이는 것으로 나타났다. 따라서 앞으로 유전자재조합식품의 안전성을 평가하는 *in vitro* 소화평가 시험에서 생리학적 측면에 근거한 인공위액의 비율을 반영함으로써 보다 정확한 도입단백질의 소화성에 대한 평가가 필요하리라 사료되며, 또한 콩의 주요 섭취방법인 열처리에 따른 도입단백질의 소화특성을 평가함으로써 유전자재조합 콩의 안전성에 대한 신뢰도 제고를 위한 기초자료가 될 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 2011학년도 덕성여자대학교 교내연구비에 의해 수행된 연구로 이에 감사드립니다.

문헌

- Son DY, Moon JH, Ahn KM, Shon DH, Lee KS, Sim HY, Han YS, Lee SI. 2004. Immunoblotting assay for glyphosate-tolerant genetically modified soybean in soybean products. *Korean J Food Sci Technol* 36: 369-374.
- Konig A, Cockburn A, Creve RW, Debruyne E, Grafstroem R, Hammerling U, Kimber I, Knudsen I, Kuiper HA, Peijnenburg AA, Penninks AH, Poulsen M, Schauzu M, Wal JM. 2004. Assessment of the safety of foods derived from genetically modified (GM) crops. *Food Chem Toxicol* 42: 1047-1088.
- Bertoni G, Marsan PA. 2005. Safety risks for animals fed genetic modified (GM) plants. *Vet Res Commun* 29: 13-18.
- Hardell L, Eriksson M. 1999. A case-control study of non-Hodgkin lymphoma and exposure to pesticides. *Cancer* 85: 1353-1360.
- Hug K. 2008. Genetically modified organisms: do the benefits outweigh the risks? *Medicina (Kaunas)* 44: 87-99.
- Astwood JD, Leach JN, Fuchs RL. 1996. Stability of food allergens to digestion in vitro. *Nat Biotechnol* 14: 1269-1273.
- Choi WS. 1999. The safety of food developed by gene manipulation. *J Fd Hyg Safety* 14: 216-225.
- Herman RA, Storer NP, Gao Y. 2006. Digestion assays in allergenicity assessment of transgenic proteins. *Environ Health Perspect* 114: 1154-1157.
- Bannon GA, Goodman RE, Leach JN, Rice E, Fuchs RL, Astwood JD. 2002. Digestive stability in the context of assessing the potential allergenicity of food proteins. *Comm Toxicol* 8: 271-285.
- Steinrücken HC, Amrhein N. 1980. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvyl-shikimic acid-3-phosphate synthase. *Biochem Biophys Res Commun* 94: 1207-1212.
- Padgett SR, Kolacz KH, Delannay X, Re DB, Lavallee BJ, Tinius CN, Rhodes WK, Otero YI, Barry GF, Eichholtz DA, Peschke VM, Nida DL, Taylor NB, Kishore GM. 1995. Development, identification, and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. *Crop Sci* 35: 1451-1461.
- Padgett SR, Taylor NB, Nida DL, Bailey MR, MacDonald J, Holden LR, Fuchs RL. 1996. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. *J Nutr* 126: 702-716.
- Kim MY, Kim JH, Kim HJ, Park SH, Woo GJ, Kim HY. 2003. Monitoring of genetically modified soybean and processed foods in Korean market using PCR. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 46: 344-347.
- Park SH, Gu YU, Oh JM. 2008. Allergenicity assessment of GM food. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 28: 10-18.
- Codex Alimentarius Commission. 2003. *Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant DNA plants, Annex on the assessment of possible allergenicity*. Rome, Italy.
- Harrison LA, Bailey MR, Naylor MW, Ream JE, Hammond BG, Nida DL, Burnette BL, Nickson TE, Mitsky TA, Taylor ML, Fuchs RL, Padgett SR. 1996. The expressed protein in glyphosate-tolerant soybeans, 5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. strain CP4, is rapidly digested in vitro and is not toxic to acutely gavaged mice. *J Nutr* 126: 728-740.
- Bernhisel-Broadbent J, Strause D, Sampson HA. 1992. Fish hypersensitivity. II: Clinical relevance of altered fish allergenicity secondary to various preparation methods. *J Allergy Clin Immunol* 90: 622-629.
- Virture CM, Wittig HJ. 1970. Allergenicity of egg protein fractions as determined by histamine release from human lung tissue. *Fed Proc* 29: 576-582.
- Son DY, Lee BR, Shon DW, Lee KS, Ahn KM, Nam SY, Lee SI. 2000. Allergenicity change of soybean proteins by thermal treatment. *Korean J Food Sci Technol* 32: 959-963.
- Okunuki H, Teshima R, Shigeta T, Sakushima J, Akiyama H, Goda Y, Toyoda M, Sawada J. 2002. Increased digestibility of two products in genetically modified food (CP4-EPSPS and Cry1Ab) after preheating. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 43: 68-73.
- Kim JH, Lieu HY, Kim TW, Kim DO, Shon DH, Ahn KM, Lee SI, Kim HY. 2006. Assessment of the potential allergenicity of genetically modified soybeans and soy-based products. *Food Sci Biotechnol* 15: 954-958.
- Pack IS, Jeong SC, Yoon WK, Park SK, Youk ES, Kim HM. 2004. Effects of heat, pressure, and acid treatment on DNA and protein stability in GM soybean. *Korean J Food Sci Technol* 36: 677-682.

(2012년 5월 15일 접수; 2012년 9월 5일 채택)