

국내 승인 유전자변형 작물의 검출 기법 확립

설민아 · 이종로 · 최원균 · 조범호 · 문정찬 · 신수영 · 엄순재 · 김일룡 · 송해룡

Establishment of detection methods for approved LMO in Korea

Min-A Seol · Jung Ro Lee · Wonkyun Choi · Beom-Ho Jo · Jeong Chan Moon · Su Young Shin ·
Soon-Jae Eum · Il Ryong Kim · Hae-Ryong Song

Received: 15 May 2015 / Revised: 16 June 2015 / Accepted: 17 June 2015
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract Abstract Living modified organisms (LMO) are one of the most widespread products of modern biotechnology after DNA discovery. Due to the decline of grain self-sufficiency rate and the increase of reliance on LMO imports in Korea, a series of concerns with regard to safety of living modified(LM) crops has been raised. The aim of this study is to establish the detection methods for unintentional release or growing of LMO plants in environmental conditions. To detect LM crop events, general concepts of specific primer design and PCR conditions were provided by the Joint Research Centre (JRC). The certified reference materials of seven LM events (4 soybean, 2 cotton and 1 corn) were obtained from the Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM) and the American Oil Chemists' Society (AOCS). Genomic DNA from seven LM events were purified and PCR amplifications were carried out by using individual event-specific primer sets. LM-specific PCR products of all seven events were efficiently amplified by our methods. The results indicate that the established detection method for LMOs is suitable as a scientific tool to monitor whether the crops found in natural environments are LMOs.

Keywords living modified organism (LMO), detection method, event specific primer, polymerase chain reaction (PCR)

서론

인구의 증가와 경지면적의 감소 등으로 야기된 식량 문제의 대안으로 유전자변형생물체(Living Modified Organism; LMO)의 개발이 주목받기 시작했고, 1996년 첫 재배 승인이 된 후 LM 작물의 재배 면적은 급속도로 늘어나고 있다. 2014년 LM 작물의 재배 면적은 2013년 1억 7,530만 ha 보다 약 620만 ha 증가한 1억 8,150만 ha로, 이는 세계 전체 농지면적의 약 13% 수준에 해당한다. 미국, 브라질, 아르헨티나, 캐나다, 인도, 중국 등이 주요 LM 작물 재배 국가로서 콩, 면화, 옥수수, 캐놀라 등을 재배하고 있을 뿐만 아니라, 근래에는 더 많은 국가가 가세하고 있으며 재배작물의 종류도 확대되고 있다. 전 세계적으로 많이 재배하는 LM 작물인 콩, 옥수수, 면화 및 유채 등은 이들 작물의 전체 재배면적 대비 LMO 재배 면적이 약 50% 수준에 이른다(ISAAA 2014). 우리나라의 곡물 자급률은 1990년 43.1%에서 2000년 29.7%로 하락한 뒤 2012년 23.7%, 2013년에는 23.1%까지 감소하여, OECD 국가 중 매우 낮은 수준이다. 곡물의 수입의존도가 높은 우리나라의 경우 특히 사료용으로 가격이 저렴한 LM 작물의 수입이 계속 늘어나고 있다. 국내 축산농가에서 사용되는 사료용 곡물인 옥수수, 밀, 콩의 자급률은 2013년 기준으로 각각 0.5%, 1.0%, 9.7%로 사실상 해외에 절대적으로 의존하고 있다(MAFRA 2015). 2015년 2월 현재 국내에는 131개의 LMO가 식용, 사료용, 가공용으로 수입 및 유통되고 있다(KBCH 2015).

식량 문제의 대안 뿐만 아니라 바이오 연료를 활용한 에너지 자원화 및 난치병 치료의 해결 방법으로서 LMO의 생산-수입 및 유통에 대한 긍정적 견해가 있는 반면에 여전히 안전성에 대한 논쟁이 끊이지 않고 있다. LMO가 자연 생태계나 인체 및 동물에게 미치는 잠재적인 위해

M.-A. Seol · J. R. Lee · W. Choi · B.-H. Jo · J. C. Moon ·
S. Y. Shin · S.-J. Eum · I. R. Kim · H.-R. Song (✉)
국립생태원 생태보전연구본부 위해생물연구부
(Department of Eco-safety, Bureau of Conservation Ecology,
National Institute of Ecology (NIE), Seocheon 325-813, Korea)
e-mail: wpixh@nie.re.kr

성은 교잡을 통한 유전자 이동으로 토종 품종의 손실, 생태계 교란, 잡초화, 토양미생물상의 변화, 비 표적 곤충류 피해, 먹이사슬의 파괴 및 지역적 생물 다양성의 감소 유발 가능 등에 관한 것이다(Agbios 2001). 해외 LMO 안전성 논란 사례로 2005년 영국의 ‘인디펜던스’가 폭로한 해충 저항성 옥수수인 MON863을 먹인 쥐의 내장과 간의 혈액 질환 현상, 신장 크기 이상에 대한 논란과 2012년부터 프랑스에서 논쟁이 벌어지고 있는 제초제 저항성 옥수수 NK603의 만성 독성에 대한 연구결과가 대표적이다 (Seralini et al. 2012). 우리나라의 경우 각 부처에서 환경위해성 평가 및 심사를 통해 LMO를 수입하지만, 안전성에 대한 불안함은 여전히 존재하며, 이미 국내에서의 비의도적인 LMO 환경 유출 사례도 여러 차례 보고되었다 (Park et al. 2007; Lee et al. 2007). 이것은 LMO의 자연 생태계 유출 및 확산에 따른 생태계 위해 가능성이 항상 존재한다는 것을 나타낸다. 따라서 국내 유입 LMO의 자연 환경 위해성 조사 및 과학적 사후관리 수행을 위한 신속하고 효율적인 분석 체계 구축이 필요하다. 국립환경과학원에서는 2009년부터 국내 5개 권역의 LM 작물 수입 경로 위주로 “LMO의 전국 자연환경 모니터링 및 사후관리 연구”를 수행하여 비의도적 환경방출 여부를 모니터링하고 있고, 비의도적으로 환경 방출된 LMO의 수가 2009년부터 2014년까지 꾸준히 증가하고 있다(Eom et al. 2013). 따라서 자연 생태계에서 발견되는 LMO의 확인과 제거를 목적으로 하는 효율적인 사후관리 체계를 확립하기 위해서 먼저 정확한 LMO 여부를 확인할 수 있는 신속·정확·표준화된 도입유전자 검출기법 확립이 필요하다. 하지만 현 「유전자변형생물체의 국가 간 이동 등에 관한 법률(LMO법)」에 따라 개발사에서는 식품·의료기기용 및 농림축산업용 LMO의 수입 승인 책임기관인 식품의약품안전처와 농촌진흥청에 제한하여 식품용 및 사료용 LMO 검출기법을 제공하고 있어 국립생태원에서 효율적인 모니터링 및 사후관리 연구를 위해 자체적인 LMO 유전자 검출기법의 확립이 요구되고 있다. 국립환경과학원에서는 2011부터 2013년까지 콩 6개, 면화 6개, 유채 5개, 옥수수 15개, 사탕무 1개 총 5종 33개 이벤트(event)의 검출기법을 확립하였다(Kim et al. 2011; Yoon et al. 2012). 그래서 국립생태원은 현재 국내 수입·유통되고 있는 LM 작물 중에서 구매 가능한 7개 이벤트를 선정하여 유럽공인기법을 바탕으로 2014년 LMO에 도입된 유전자 검출기법 구축연구를 수행하였다. 본 연구 결과로 확립된 도입유전자 검출기법은 국내 도입 LMO의 80%를 검출할 수 있어 자연환경으로 유출된 LMO 판단의 과학적 근거를 제공할 것이다. 또한, LMO 자연 생태계 안전관리를 위한 사후 모니터링 체계 마련에 활용하고자 국립생태원에서는 지속적으로 LMO의 검출기법을 확립하고자 한다.

재료 및 방법

표준시료 확보

LM 작물에 도입된 유전자별 특성 조사 및 검출법 개발에 필요한 표준시료의 확보를 위해 2곳의 표준물질 연구소를 조사하였다. 유전자변형 면화(281/3006, GHB119) 및 비변형 면화의 표준시료를 표준물질 및 측정연구소(Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM)의 대행회사인 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)사에서 구매하였으며, 미국유지화학협회(American Oil Chemists’ Society (AOCS, Urbana, IL, USA))로부터 유전자변형 콩(CV127, MON87701, MON87705, FG72)과 유전자변형 옥수수(MON87460) 및 비변형 콩과 옥수수의 표준시료를 구매하였다. 표준시료의 자세한 정보는 Table 1과 같다(Table 1).

DNA 정제

도입유전자별 특성 조사 및 검출법 개발을 위해 확보한 7개 LMO 표준시료 중, 1개의 DNA 상태(콩 FG72) 표준시료를 제외한 6개의 분말 시료와 비변형 표준시료에서 DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany)을 이용하여 genomic DNA를 순수분리·정제하였다. 유전자변형 콩을 포함한 모든 시료는 약 200~300 mg씩 멸균된 E-tube로 옮겨 AP1 Buffer 400 µL와 RNase A 4 µL를 첨가 후 혼합하여 65°C에서 10분 동안 반응시켰다. 그리고 AP2 Buffer를 130 µL 첨가 후 혼합하여 5분 동안 얼음에서 반응 시킨 후, 14,000 rpm으로 5분간 원심분리하였다. 상층액을 QIAshredder spin column에 옮겨 14,000 rpm으로 2분간 원심분리하였다. Column에 걸리진 반응(하층)액을 새로운 E-tube 옮긴 후 AP3/E를 넣고 혼합시켜 DNeasy mini spin column에 이동하였다. 8,000 rpm으로 1분간 원심분리 후, 하층액을 버리고 AW Buffer 500 µL (70% ethanol)을 가하여 14,000 rpm으로 2분간 원심분리하였다. Ethanol 제거 후 건조한 다음 100 µL의 멸균 수로 녹여 genomic DNA를 추출하였다. 정제된 genomic DNA는 1.0% agarose gel을 사

Table 1 List of Seven LM events

Kind of Crops	Event	Provide	Form
Soybean	CV127	AOCS	Powder (10 g)
	MON87701	AOCS	Powder (10 g)
	MON87705	AOCS	Powder (10 g)
	FG72	AOCS	DNA (10 µg)
Cotton	281/3006	IRMM	Powder (10 g)
	GHB119	IRMM	Powder (10 g)
Maize	MON87460	AOCS	Powder (10 g)

용하여 전기영동을 통해 DNA band를 확인하였을 뿐만 아니라, Nano-drop (Thermo fisher scientific, Waltham, USA)을 이용하여 흡광도를 측정하여 260/280 nm의 값이 1.8 이상인 것을 사용하였다. 순수 분리된 genomic DNA는 -20°C에 보관하였다.

Primer 제작

각 작물의 내재유전자 primer는 NCBI GenBank 유전자 염기서열을 기초로 하여, 콩은 *Lectin 1 (Le1, GenBank accession no. K00821)*, 면화 *Alcohol Dehydrogenase C (AdhC, GenBank accession no. AF403330)* 및 옥수수 *Alcohol Dehydrogenase 1 (Adh1, GenBank accession no. AF123535)*의 primer를 제작하였다. 그리고 7개 LM 작물에 도입된 목적 유전자를 검출하기 위한 primer는 유럽위원회 공동연구센터(European Commission, Joint Research Centre, JRC)와 LM 환경 위해성 센터(Center for Environmental Risk Assessment, CERA)에서 LMO 이벤트의 도입유전자 특성과 프라이머 서열 정보 등을 바탕으로 제작하였다(JRC 2014)(Table 2). 모든 primer는 (주)마크로젠에서 제작하여 사용 전까지 -20°C에 보관하였고 도입유전자 검출 PCR 반응 시 10 pM로 희석하여 사용하였다.

PCR 반응조건

매회 50 ng의 genomic DNA를 사용하여 한 시료당 최종 부피가 30 µL가 되도록 2X EF-Taq PCR Pre-Mix (Solgent, Daejeon, Korea)와 혼합하여 PCR 실험을 수행하였다(Proplex PCR system, Applied Biosystems, Waltham, USA). PCR 반응 조건은 95°C에서 5분간 수행 후, 다음 단계에서 95°C 15 초, 60°C 20초간 40 cycle을 반응시킨 뒤 4°C에서 PCR 산물을 보관하였다. PCR 산물은 2.5% agarose gel 상에서 100 V로 전기영동 하여 확인하였다.

PCR 산물의 염기서열 분석

7개 LM 작물의 내재유전자와 도입유전자에 특이적인 primer를 이용하여 얻은 PCR 산물은 PCR Purification system으로 정제하였다(Biofact, Daejeon, Korea). 그 후에, T-blunt PCR Cloning system (Solgent, Daejeon, Korea)을 이용하여 cloning 한 후에 염기서열을 분석하였다. 최종적으로 Bioedit program을 이용하여 도입 유전자와 주변 염기서열을 비교 분석하였다.

Table 2 Oligonucleotide primers used in this study

Primer name	Sequence (5'-3')	Target	Amplicon size (bp)
Lectin1-F	CACCTTTCTCGCACCAATTGACA	Lectin1	105
Lectin1-R	TCAAACCTCAACAGCGACGAC	(Soybean endogenous)	
Alcohol DehydrogenaseC-F	CACATGACTTAGCCCATCTTTGC	AdhC	73
Alcohol DehydrogenaseC-R	CCCACCCTTTTTGGTTTAGC	(Cotton endogenous)	
Alcohol Dehydrogenase1-F	CGTCGTTTCCCATCTCTTCCTCC	Adh1	135
Alcohol Dehydrogenase1-R	CCACTCCGAGACCCTCAGTC	(Maize endogenous)	
SE-127-F4	AACAGAAGTTTCCGTTGAGCTTTAAGAC	CV127	88
SE-127-R2	CATTCGTAGCTCGGATCGTGTAC		
MON87701-F	CGTTTCCCGCCTTCAGTTTAAA	MON87701	89
MON87701-R	TGGTGATATGAAGATACATGCTTAGCAT		
MON87705-F	TTCCCGGACATGAAGCCATTTAC	MON87705	86
MON87705-R	ACAACGGTGCCTTGGCCCAAAG		
MAE071-F	AGATTTGATCGGGCTGCAGG	FG72	70
SHA097-R	GCACGTATTGATGACCCGATTA		
281-f1	CTCATTGCTGATCCATGTAGATTTT	281/3006	111
281-r2	GGACAATGCTGGGCTTTGTG		
SHA021-F	CCAGTACTAAAATCCAGATCATGCA	GHB119	90
NEL109-R	GAAATTGCGTGACTCAAATTCC		
MON87460-F	CACGTTGAAGGAAAATGGATTG	MON87460	82
MON87460-R	TCGCGATCCTCCTCAAAGAC		

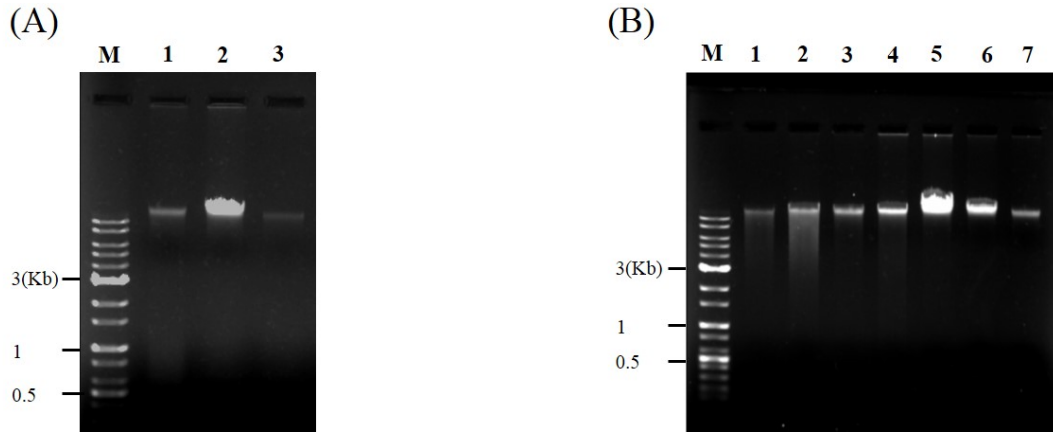


Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of genomic DNA isolated from Non-LM and LM. (A) Genomic DNA of Non-LM were displayed by 1% agarose gel electrophoresis (Lane M: 1Kb DNA Ladder, Lane 1: Maize, Lane 2: Cotton, Lane 3: Soybean). (B) Genomic DNA of seven LM events were displayed by 1% agarose gel electrophoresis (Lane M: 1Kb DNA Ladder, Lane 1: LM soybean CV127, Lane 2: LM soybean MON87701, Lane 3: LM soybean MON87705, Lane 4: LM soybean FG72, Lane 5: LM Cotton 281/3006, Lane 6: LM Cotton GHB119, Lane 7: LM Maize MON87460)

결과 및 고찰

7개 LM 표준시료 확보 및 DNA 정제

2014년 2월까지 국내에 승인된 LMO 이벤트 현황은 한국 바이오안전성정보센터(Korea Biosafety Clearing House, KBCH)로부터 수집되었고, 미생물, 분말로 수입되는 감자, 알팔파, 사탕무 및 Stack 수입품을 제외한 국내 자연환경 유출 가능성이 큰 단일 품목 7개의 LMO를 선별하였다(Table 1). 7개 LM 작물과 비변형 콩, 면화 및 옥수수 Non-LM 표준시료로부터 genomic DNA를 정제하고 Nano-drop을 이용하여 DNA 정확한 농도를 측정하였고 1.0% agarose gel을 사용하여 전기영동을 통해 DNA band를 확인한 결과, Non-LM과 LM 표준시료의 DNA가 손상되지 않은 상태로 순수 분리되었음을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 분리된 genomic DNA는 멸균 수로 희석하여 대회 50 ng의 genomic DNA를 도입유전자 검출을 위한 증폭 실험에 사용되었다. 표준 DNA 시료의 경우 10 µg으로 제공되어, 분말 시료와 동일하게 농도를 희석해 50 ng의 시료를 유전자 증폭 실험을 위해 사용하였다.

Primer 특이성 확인 및 도입유전자 검출기법 확립

KBCH와 JRC로부터 수집된 7개 LM 작물별 특성, 도입 유전자 특성, 검출을 위해 필요한 primer의 서열, 최적 검출을 위한 DNA 주형 농도와 연쇄 증합 효소 반응 조건 등에 관한 정보와 문헌 자료를 바탕으로 각 LM 작물과 형태학적 유사한 근연종과의 식별을 위한 내재유전자 및 이벤트 특이적 목적유전자를 검출할 수 있는 primer를 합

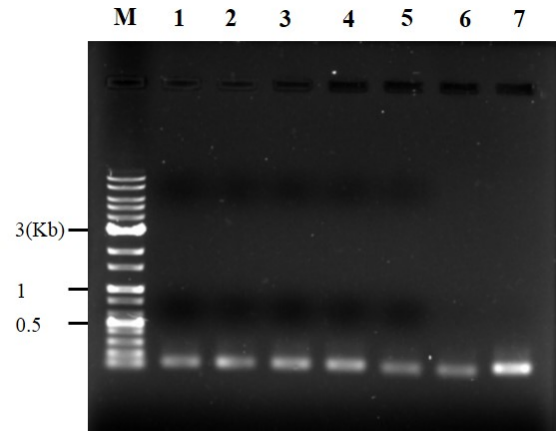


Fig. 2 Sensitivity analysis for endogenous genes in seven LM crops. Endogenous genes (soybean, *Lectin1*; cotton, *Alcohol DehydrogenaseC*; maize, *Alcohol DehydrogenaseI*) of seven LM events were detected by 2.5% agarose gel electrophoresis (Lane M: 1Kb DNA Ladder, Lane 1: LM soybean CV127, Lane 2: LM soybean MON87701, Lane 3: LM soybean MON87705, Lane 4: LM soybean FG72, Lane 5: LM Cotton 281/3006, Lane 6: LM Cotton GHB119, Lane 7: LM Maize MON87460)

성하였다(Table 2). PCR 실험을 통해 7개 LM 이벤트에서 제작한 내재유전자(*Lectin1*, *AdhC*와 *Adh1*) 특이적인 primer가 작용하여 PCR 산물을 확인할 수 있었으며(Fig. 2), 이벤트 특이적 primer가 7개 LM 이벤트에서 잘 작용하는 것을 검증하였다(Fig. 3). 따라서 검증된 내재 primer와 이벤트 특이적 primer를 이용하여 7개 LM 표준시료와 Non-LM 표준시료에서 도입유전자 검출기법을 확립하기 위한 실험을 수행하였다(Savini et al. 2011; Savini et al. 2012a; Charles et al. 2011; Savini et al. 2012b; Mazzara et al. 2006; Mazzara et al. 2012; Savini et al. 2012c).

콩은 제초제 저항성 특성을 목적으로 개발된 CV127

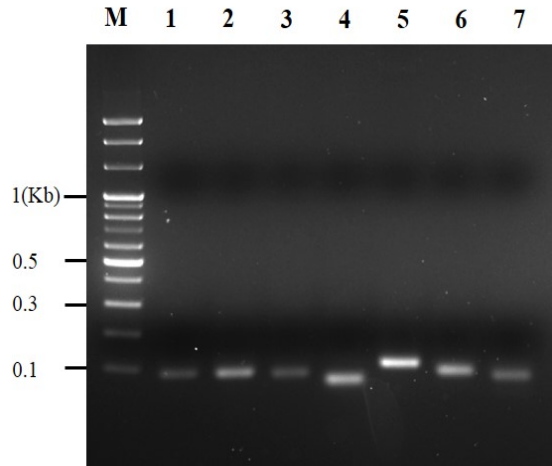


Fig. 3 Sensitivity analysis for event-specific genes in seven LM crops. Event-specific PCR products of seven LM events were detected by 2.5% agarose gel electrophoresis (Lane M: 100 bp DNA Ladder, Lane 1: LM soybean CV127, Lane 2: LM soybean MON87701, Lane 3: LM soybean MON87705, Lane 4: LM soybean FG72, Lane 5: LM Cotton 281/3006, Lane 6: LM Cotton GHB119, Lane 7: LM Maize MON87460)

(*Csr1-2* 유전자 삽입), FG72 (*2mEPSPS*와 *hpdPfw336* 유전자 삽입) 와 MON87701 (*Cry1Ac*와 *CP4 EPSPS* 유전자 삽입) 및 고올레산 생산유전자인 *Fad2-1A*, *Fatb1-A*이 삽입된 MON87705 등 4개 LM 이벤트를 대상으로 검출기법을 확립하고자 하였다. 그 결과, 모든 Non-LM 표준시료와 LM 표준시료에서 내재유전자가 증폭되어 대상 작물인 콩을 확인하였고, 각 이벤트별 특이 primer는 LM 표준시료에서만 특이적으로 작용하여 4개 LM 콩 이벤트의 도입유전자 검출기법이 잘 확립되었다는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 마찬가지로 해충 및 제초제 저항성 특성을 목적으로 개발된 281/3006 (*Cry1Ac*, *Cry1F*, *PAT* 유전자 삽입)과 GHB119 (*Cry2Ae*, *PAT* 유전자 삽입) 등 2개의 LM 면화와 가뭄 저항성 특성을 목적으로 개발된 MON87460 (*CspB* 유전자 삽입) LM 옥수수를 대상으로 PCR 실험을 수행하였다. Fig. 5와 Fig. 6에서 보는 것과 같이 유전자변형 면화와 옥수수에 대해서만 특이적인 PCR 산물이 확인되어 281/3006, GHB119와 MON87460 이벤트의 도입유전자 특이적 검출기법 또한 잘 확립되었다는 것을 각각 확인할 수 있었다.

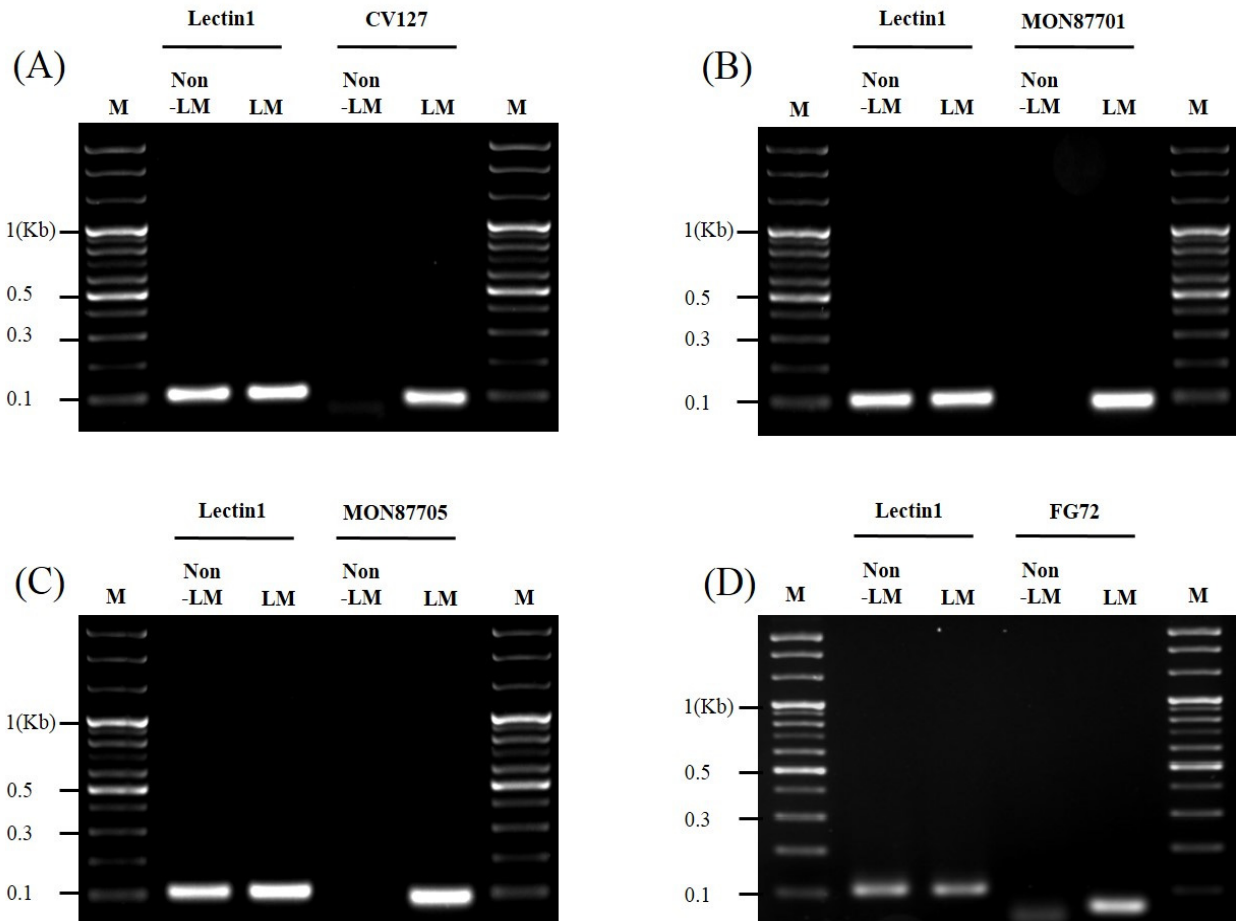


Fig. 4 Establishment of PCR amplification for LM Soybeans. PCR analysis were performed by using the endogenous gene *Lectin 1* and event-specific primers. PCR products of CV127 (A), MON87701 (B), MON87705 (C) and FG72 (D) were electrophoresed on a 2.5% agarose gel

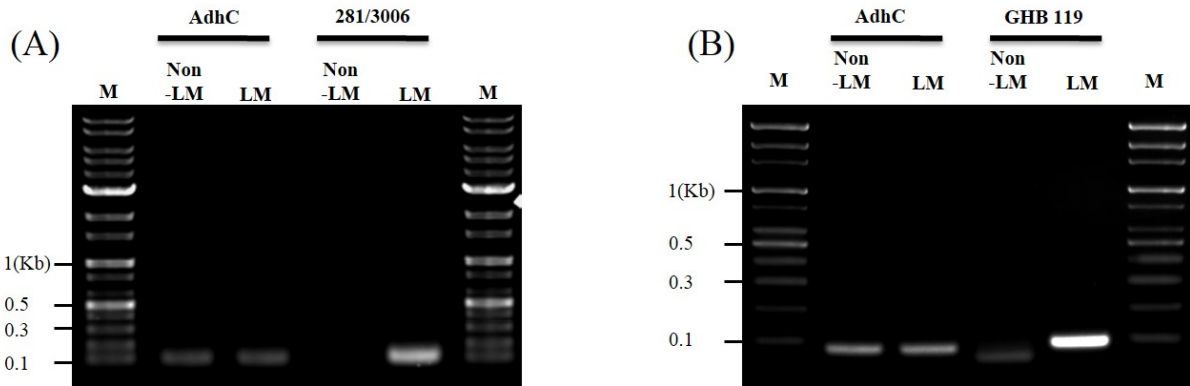


Fig. 5 Establishment of PCR amplification for LM Cottons. PCR analysis were performed by using the endogenous gene *Alcohol DehydrogenaseC (AdhC)* and event-specific primers. PCR products of 281/3006 (A) and GHB119 (B) were electrophoresed on a 2.5% agarose gel

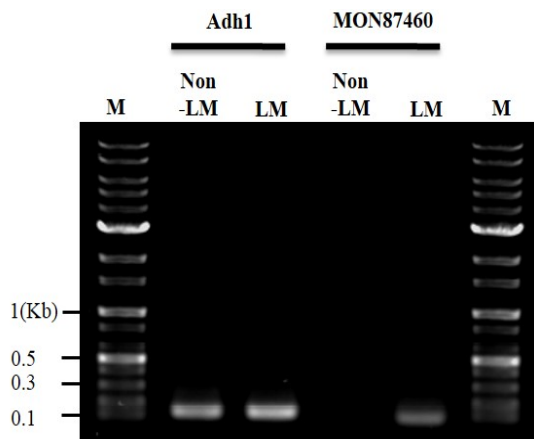


Fig. 6 Establishment of PCR amplification for LM Maize MON87460. PCR analysis were performed by using the endogenous gene *Alcohol Dehydrogenase1 (Adh1)* and event-specific primers. PCR products were electrophoresed on a 2.5% agarose gel

도입유전자의 특성 및 주변 염기서열의 유전 정보 획득

CERA 및 GMO Detection Method Database (GMDD)로부터 7개 LM 작물의 개발 목적, 도입유전자의 특성, 이벤트 특이적 primer의 위치와 정보 및 중합반응 조건 및 반응 횟수, 생성물의 크기에 관한 내용을 수집하였다. 또한, BIOSAFETY SCANNER Website로부터 제공된 정보를 통해 각 이벤트별 도입유전자의 특성과 발현을 위해 사용된 프로모터와 종결인자의 종류, 분자생물학적 특성 및 주변 염기서열의 유전 정보를 파악할 수 있었다. 따라서 도입유전자의 삽입된 위치 정보와 검출기법의 정확성을 확인하기 위하여 PCR 산물을 이용한 염기서열 분석 및 alignment를 실시한 결과, Table 3에서 보듯이 7개 이벤트 모두 도입유전자의 오른쪽 또는 왼쪽 경계 염기서열과 LM 작물 유전자가 상보적으로 설계되었으며 기존에 수집된 LMO의 유전정보와 일치함을 확인하였다(Fig. 7). 이

Table 3 Sequencing result of seven LM events

Kinds of crop	Events	Sequence (5'-3')
Soybean	CV127	<u>AACAGAAGTTTCGTTGAGCTTTAAGACGTTTGGGGAAGCTGTCCCATGCCATCAAAGAA</u> <u>GACAGTACACGATCCGAGCTACGAATG</u>
	MON88701	<u>CGTTTCCCGCCTTCAGTTTAAACTATCAGTGTTTGACACACACACTAAGCGTGCCTGGGGC</u> <u>ATGCTAAGCATGTATCTTCATATCACCA</u>
	MON88705	<u>TTCCCGGACATGAAGCCATTTACAATTGAAGAGACTCAGGGTGTGTTATCACTGCGGTTT</u> <u>GGCCTTTGGGCCAAGGCACCGTTGT</u>
	FG72	<u>AGATTTGATCGGGCTGCAGGAATTAATGTGGTTTCATCCGTCTTTTGTTAATGCGGTCATCA</u> <u>ATACGTGC</u>
Cotton	281/3006	<u>CTCATTGCTGATCCATGTAGATTTCCTTACTTGTCTCCCTCTAATCTGACTTTATTAACCCA</u> <u>AAGCAATTGCTTATTTGTTCCCCACGCCACAAAGCCCAGCATTGTCC</u>
	GHB119	<u>CCAGTACTAAAATCCAGATCATGCATGGACCTGCAGGTAGACGGCCGAGTACTGTTTTATT</u> <u>TTTAACAGGAATTTGAGTCACGCAATTTTC</u>
Maize	MON87460	<u>CACGTTGAAGGAAAATGGATTGGAGGGAGTATGTAGATAAATTTCAAAGCGTTAGACGG</u> <u>CTGTCTTTGAGGAGGATCGCGA</u>

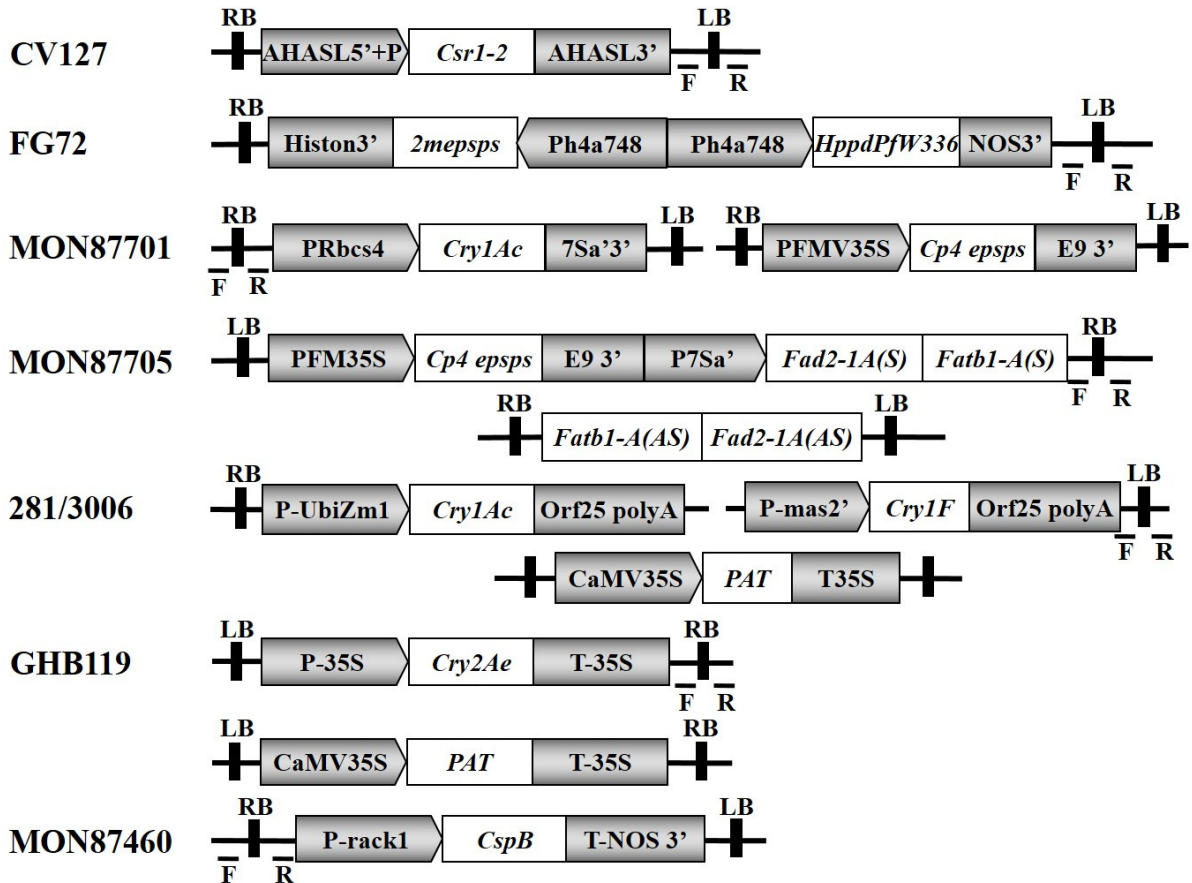





Fig. 7 Schematic diagram of the genetic elements of event-specific transformants in 7 LM crops. Location and direction of primers are indicated by F and R. All primer pairs were designed with nucleotide sequences of the DNA flanking region and the inserted DNA cassette. (LB, left border; RB, right border; , promoter; , encoding gene; , 3' terminator)

들 정보는 7개 이벤트 특이적 도입유전자 검출을 위한 PCR 반응으로부터 생성된 최종 생성물의 염기서열을 분석하는 데 활용하였고 Table 3에 정리하였다(Table 3). 이는 각각의 이벤트를 특이적으로 검출할 수 있도록 구성되어 있음을 나타내주는 결과이다.

적 요

2008년 이후 꾸준히 유전자변형생물체의 수입·승인이 증가하여 2015년 2월 기준 국내 131개의 이벤트가 식용, 사료용, 가공용으로 수입 및 유통 중이다. LMO의 비의도적 자연 생태계 유출을 파악하기 위해 선행되어야 하는 것은 명확한 LMO 도입유전자 검출 기법의 개발이며, 본 연구를 통해 2014년 7개 이벤트에 대한 도입유전자 검출 기법을 확립하였다. 현재까지 확보된 유전자 분석기법은 40개이며 이는 국내도입 LMO의 80%를 검출할 수 있는 과학적 근거를 제공할 것이다(Lee et al. 2015). LMO 자연환경 모니터링 및 사후관리 연구를 위해 단일이벤트를 검출할

수 있는 기법 연구는 앞으로 계속 수행할 계획이다.

사 사

본 연구는 2014년 국립생태원 생태보전연구본부 위해생물연구부의 자체 연구과제(NIE-2014-0036)로 수행되었다.

References

- Agbios (2001) Essential Biosafety. Vol. 1 No. 1 Merivale, Canada BIOSAFETY SCANNER. Available from: <http://en.biosafety-scanner.org/>
- Center for Environmental Risk Assessment (CERA). Available from: <http://www.cera-gmc.org/>
- Charles Delobel C, Bonfini L, Querci M, Mazzara M, Cordell S, Van Den Eede G (2011) Event specific method for the quantification of Soybean MON87701 using real time PCR. Validation report and protocol.EUR25136EN.JRC 68071
- Eom SH, Kim DI, Choi C (2013) Study on Environmental monitoring and post-management of LMO(VI). NIE-2014-0039.

- European Commission, Joint Research Centre (JRC). Available from: <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu>
- GMO Detection Method Database (GMDD). Available from: <http://gmdd.shgmo.org/index/search>
- International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA). GM Approval Database. Available from: <http://www.isaaa.org>. Accessed 2014
- Kim TS, Song HR, Kim SJ, Hur MS, Kim JM (2011) Establishment of LMO detection methods. NIER-RP2011-1347.
- Korea Biosafety Clearing House(KBCH). Status of risk assessment of GMO in Korea. Available from: <http://www.biosafety.or.kr>. Accessed 2015
- Lee B, Kim CG, Park JY, Yi H, Park KW, Jeong WK, An JH, Cho KH, Kim HM (2007) Survey of herbicide resistant oilseed rapes around the basin of rivers in incheon harbor area. Kor. J. Weed Sci. 27:29-35
- Lee JR, Choi WK, Moon JC, Jo BH, Shin SY, Seol MA, Eum SJ, Kim IR, Song HR, Kim JM (NIE) (2015) LMO detection methods. ISBN 979-11-86197-24-0
- Mazzara M, Cordell S, Van Den Eede G (2006) Event specific method for the quantification of hybrid cotton line 281-24-236/3006-210-23 using real time PCR. Validation report and protocol. EUR22473EN
- Mazzara M, Cordell S, Van Den Eede G (2012) Event specific method for the quantification of cotton GHB119 using real time PCR. Validation report and protocol. EUR22528EN. JRC 75655
- Ministry of agriculture food and rural affairs. Self-sufficiency rate of grain in Korea. Available from: <http://www.mafra.go.kr>. Accessed 2015
- Park KW, Kim CK, Lee R, Kim DY, Park JY, Kim DI, Kwon MC, Yi H, Kim HM (2007) Monitoring of imported genetically modified crops in the cultivated fields in Korea. Kor. J. Weed Sci. 27:318-324
- Savini C, Bonfini L, Querci M, Mazzara M, Cordell S, Van Den Eede G (2012a) Event specific method for the quantification of Soybean MON87705 using real time PCR. Validation report and protocol. EUR25499EN. JRC 74376
- Savini C, Bonfini L, Querci M, Mazzara M, Cordell S, Van Den Eede G (2012b) Event specific method for the quantification of Maize MON87460 using real time PCR. Validation report and protocol. EUR25486EN. JRC 74374
- Savini C, Nardini E, Mazzara M, Cordell S, Kreysa J (2012c) Event specific method for the quantification of Soybean FG72 using real time PCR. Validation report and protocol. EUR254-03EN. JRC 73091
- Savini C, Mazzara M, Cordell S, Van Den Eede G (2011) Event specific method for the quantification of Soybean CV127 using real time PCR. Validation report and protocol. EUR-25132EN. JRC 68070
- Seralini GE, Clair E, Mesnage R, Gress S, Defarge N, Malatesta M, Hennezuin D, Joel Spiroux de Vendomois (2012) Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. Food and Chemical Toxicology 50:4221-4231
- Yoon JH, Lee JE, Song HR, Kim SJ, Kim YH, Choi JE, Choi HL (2012) Establishment of LMO detection methods(Ⅱ). NIER-RP2012-280