

## 감마선 조사된 쌀과 보리의 DNA comet 특성 Characteristics of DNA Comets for $\gamma$ -Irradiated Rice and Barley

오경남, 김경은, 양재승

한국원자력 연구소, 식품검지실 (대전광역시 유성구 덕진동 150번지)

### 서 론

식품의 감마선 조사는 살균, 살충, 발아억제 및 속도 조절의 목적으로 사용하고 있으며 사용 선량은 Co 60(코발트 60)의 감마선으로 1.0 kGy 미만의 저선량, 1-10 kGy 미만의 중선량, 10 kGy 이상의 고선량으로 설정되어 있다.

식품의 방사선 조사는 WHO, FAO, IAEA와 같은 국제기구에서 인정받아 현재 여러 국가에서 사용하고 있다<sup>1)</sup>. 우리나라에서는 1998년 조사 시설이 상업적으로 가동되기 시작하였으며 식품의 조사는 13개 식품군, 즉 신선 야채류, 과일류, 양송이, 인삼류, 곡류와 잡곡류, 향신료, 약초와 건조 야채류, 생선과 기타 수산물, 육류와 육류 가공품, 발효식품 그리고 사료가 허용되어 조사되고 있다<sup>2)</sup>. 이와 같이 조사식품의 생산 및 유통이 점차 증가하고 있지만, 조사가 금지된 품목도 있어서 국내로 유통될 경우 이를 통제해야 하고, 소비자들이 방사선 조사 식품에 대한 자유로운 선택을 할 수 있도록 조사 식품에 대한 표시를 해 줄 필요가 있다. 즉, 감마선 조사 식품에 대한 당국의 규제 강화, 그리고 표시 규정의 준수는 표준화된 분석방법의 검지기술 활용으로 가능해질 것이다.

감마선 조사 식품에 대한 검지 방법이 여러 방향으로 연구되고 있고<sup>3,4)</sup> 이 중 몇가지 방법은 European standard로 확립되어 있다. 이중 DNA comet assay는 소형 전기영동 겔 방법으로 빠른 시간내에 감마선 조사 여부를 확인할 수 있는 방법이다<sup>5)</sup>. 분자량이 큰 DNA가 감마선 조사에 의해 사슬이 절단되어 분자 크기가 작아지고 유동성이 커져서 전기영동에 의해 미끄러져 나가 혜성(comet) 모양을 띠게 되는데, 이렇게 형성된 comet의 tail 길이를 측정하여 감마선 조사 여부를 판단한다.

본 연구는 쌀과 보리의 감마선 조사 여부를 확인하기 위해서 DNA comet 분석을 하고 감마선에 의한 DNA comet 특성을 확인하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 시료의 감마선 조사

쌀과 보리의 감마선 조사는 한국원자력 연구소의 Co 60 감마선 조사 시설을 이용하여 0.1, 0.5, 1.0 kGy의 선량으로 시간당 일정한 선량률로 조사하고 총 흡수선량은 ceric cerous dosimeter로 확인하였다.

## 세포 추출

쌀과 보리를 약 0.5 g 취하여 막자 사발로 세포에 손상을 주지 않도록 마쇄한 후 ice bath상에 있는 삼각플라스크에 넣었다. PBS (phosphate buffered saline, pH 7.4) 용액 8 mL을 넣고 magnetic stirrer (Coming PC-410, USA)로 5× g에서 10분 동안 균질화시켜 세포를 추출하였다. 이 현탁액을 200 μm nylon sieve cloth로 여과시키고 냉장 온도에서 10~20분 동안 침전시킨 후 상층액을 취하여 100 μm nylon sieve cloth로 재 여과시키고 5분 동안 방치시킨 후 상층액을 취하여 comet 분석용으로 사용하였다.

## 세포의 슬라이드 겔 형성, 단백질용해 및 전기영동

제조된 세포 현탁액의 상층액을 취하여 따로 45℃로 유지된 0.8% low-melting point agarose 용액 (PBS 용해)과 1:2의 비율로 혼합하였다. 혼합 용액 100 μl를 취하여 미리 준비된 precoated 슬라이드 위에 놓고 공기방울이 생기지 않도록 서서히 커버 글라스 슬라이드 (24 50 mm)로 고르게 편 후 굳혔다. 추출된 세포의 겔을 형성한 후 lysis buffer (2.5% SDS dissolved in electrophoresis buffer)에 침지시켜 각각 30분 동안 세포의 핵막과 단백질을 용해시켰다. 단백질용해 용액에서 처리된 슬라이드는 SDS가 들어있지 않은 TBE buffer (Tris-borate electrophoresis buffer, pH 8.4)에 5분 동안 담근 후 물기를 제거하고 슬라이드의 agarose end가 전기영동 수조 (Horizontal Electrophoresis Apparatus, Model BIA, Owl Scientific Inc., USA)의 anode쪽으로 향하도록 나란히 놓은 후 TBE buffer를 채웠다. 전기영동은 모두 상온에서 2분 동안 2 V/cm의 조건으로 실시하였다. 전기영동 후 슬라이드를 증류수로 5분 동안 흘려 세척하고 상온에서 1시간 동안 건조시킨 후 acridine orange로 염색하여 현미경으로 DNA comet을 관찰하였다.

## DNA comet의 현미경 관찰

슬라이드상의 DNA comet을 표준 투과 현미경 (Model SL8-1, Seoul Optical Co., Korea)으로 관찰하였다. 200배의 배율로 전체적인 comet의 양상을 살피고 CCD video camera (Model SDC-413 NAD, Samsung Electronics Co., Korea)로 화상을 관찰한 후 tail 길이를 측정하였다. Tail 길이의 측정은 각 시료마다 준비된 3개의 슬라이드에서 100개의 세포를 무작위로 선택하여 comet의 머리 중심에서부터 tail 끝까지의 길이를 측정하였다.

## 결과 및 토의

쌀과 보리의 비조사 시료와 감마선 조사 시료의 그림은 1과 2와 같다(Fig. 1, 2). 쌀의 comet을 현미경으로 관찰한 결과 (Fig. 1) 1.0 kGy 조사된 시료는 세포의 손상으로 DNA가 전기영동에 의해 이끌리고 comet tail 길이가 길어져 비조사 시료와 육안으로 구분이 가능하였다. 본 연구에서는 곡류의 외부 충격을 최소화하기 위해서 polyethylene film (PE film)으로 합기포장하였다. 0.5 kGy 이상의 시료에서는 감마선 조사에 의해 대부분의 세포가 손상되었기 때문에 핵의 comet 모양이 일정하게 나타났다. 비조사 시료에서는 감마선 조사에 의해 DNA가 절단되지 않고 전기장에 의해 이동하지 않았기 때문에 원형 모양의 핵 또는 짧은 tail 길이의

comet이 대부분 관찰되었다. 조사 시료에서는 DNA가 절단되고 전기영동에 의해 핵으로부터 미끄러져 나가 comet의 tail 길이가 길어지거나 끊어진 것이 관찰되었고 DNA 이동이 많아서 tail 부분의 색이 더 진하게 관찰되었다. 현미경으로 comet의 양상을 관찰한 후 준비된 3개의 슬라이드에서 무작위로 100개의 세포를 선택하여 tail 길이를 측정 한 결과, 비조사 시료는 73.62  $\mu\text{m}$ , 0.5 kGy 조사 시료는 143.22  $\mu\text{m}$ , 그리고 1.0 kGy 조사 시료는 231.09  $\mu\text{m}$  였다.

보리의 comet을 현미경으로 관찰한 결과 (Fig. 2), 비조사 시료보다 조사시료의 tail 길이가 더 길고, 선량이 증가할수록 길이가 증가하였다. 비조사 시료에서 손상된 세포의 comet 모양의 핵이 관찰되기도 하였지만 비 손상된 원형모양의 핵이 항상 동반되었고 0.5 kGy이상에서는 원형모양의 핵이 관찰되지 않고 대부분의 세포가 방사선에 의해 손상되어 핵으로부터 DNA 절편이 이동한 comet 모양의 핵이 관찰되었다. 보리의 comet을 현미경으로 육안 관찰한 후 100개의 세포를 무작위로 선택하여 tail 길이를 측정 한 결과, 비조사 시료는 64.47  $\mu\text{m}$ , 0.5 kGy는 166.71  $\mu\text{m}$  그리고 1.0 kGy조사 시료는 285.96  $\mu\text{m}$  였다.

## 참고문헌

1. Loaharanu, P. : Food irradiation : Current status and future prospects. In New Methods of Food Preservation. Gouldm, G.W., Blackie Academic & Professional, Glasgow, p.90-111 (1995)
2. Diehl, J.F. : Potential and current applications of food irradiation. In Safety of Irradiated Foods. 2nd ed., Marcel Dekker Inc., New York, p.291-339 (1995)
3. Delinc e, H. : Introduction to DNA methods for identification of irradiated foods. In Detection Methods for Irradiated Foods Current Status. McMurray, C.H., Stewart, E.M., Gray, R. and Pearce, J., Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, p.345-348 (1996)
4. Raffi, J., Delinc e, H., Marchioni, E., Hasselmann, C., Sj berg, A.M., Leonardi, M., Kent, M., B gl, K.W., Schreiber, G., Stevenson, H., and Meier, W. : Concerted action of the Community Bureau of Reference on methods of identification of irradiated food. Final Report, EUR-15261, European Commission, Luxembourg, p.1-119 (1994)
5. McMurray, C.H., Stewart, E.M., Gray, R., and Pearce, J. : Detection methods for irradiated foods current status. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK (1996). Moy, J.H., ed. Radiation Disinfection of Food and Agricultural Products, University of Hawaii at Manoa, Honolulu, USA (1985)
6. Delinc e, H., Marchioni, E., and Hasselmann, C. : Changes in DNA for the detection of irradiated food. EUR-15012, Commission of the European Communities, Luxembourg, 1-24 (1993)

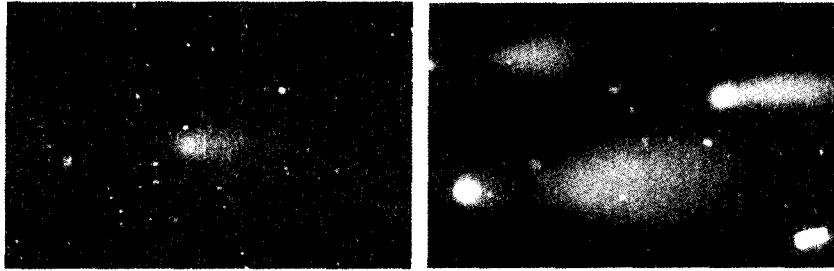


Fig. 1. DNA comets of rices (Microscopic objective $\times 10$ ). a: unirradiated, b: irradiated with 1.0 kGy.

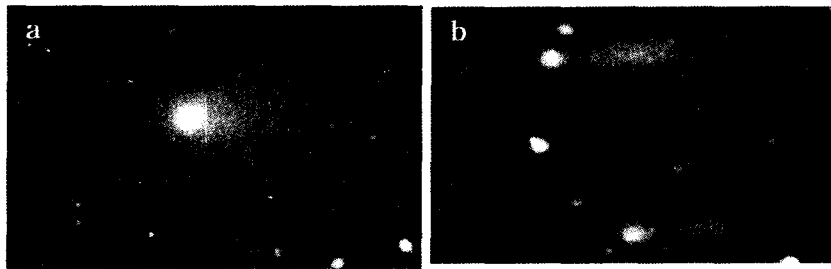


Fig. 2. DNA comets of barleys (Microscopic objective $\times 10$ ). a: unirradiated, b: irradiated with 1.0 kGy.