

## 대두 및 옥수수 가공식품에서 유전자재조합체(GMO)의 정성 PCR분석을 위한 핵산 추출방법별 비교

김영찬 · 이철수 · 황순욱<sup>†</sup> · 김성조 · 이영옥 · 윤성원 · 서정화 · 남용석\*

한국보건산업진흥원, \* (주)코젠바이오텍

## Comparative Evaluation on Qualitative PCR using Different Extraction Methods for Nucleic Acids on Soybean and Corn Processed Foods

Young-Chan Kim, Cheol-Su Lee, Soon-Wook Hwang<sup>†</sup>, Sung-Jo Kim, Young-Ok Lee,  
Sung-Won Yoon, Jung-Hwa Seo, and Young-suk Nam\*

Korea Health Industry Development Institute(KHIDI), \*Kogene Biotech Cp. Ltd, Seoul

**ABSTRACT** – Various kinds of genetically modified organisms (GMO) and processed foods have been developed during recent years. Genetically modified organisms can be classified into several groups as their development methods. Generally, GMO has three foreign DNA regions such as gene expression adjustment region(Promoter), termination region (terminator) and structure gene. Detection of these regions can be done particularly by polymerase chain reaction (PCR). PCR-based detection can virtually be performed for any GMO within short of time. The most important prerequisite for the application of PCR-based detection is to decide abstraction method of efficient nucleic acids. Specially, in the case of processed food, because nucleic acids of foodstuffs are damaged by heat treatment (sterilization), pressure and fermentation, DNA must be extracted from the samples prior to PCR analysis. Although many DNA extraction protocols are available, they have rarely been compared in a comprehensive method. In this study four widely used commercial and non-commercial DNA extraction methods-DNeasy<sup>TM</sup>, Wizard<sup>TM</sup>, CTAB, phenol/chloroform system-were compared with respect to the quality and yield of nucleic acids and insertion genes.

**Key Words:** PCR, GMO, DNA, Promoter, Terminator

유전자재조합 기술은 어떤 생물의 유전자 중 목표로 하는 유용한 유전자만을 취하여 다른 생물체에 삽입하여 새로운 형질이 부여된(예; 제초제내성, 해충저항성) 품종을 만드는 것을 말한다. 유전자재조합 농작물(genetically modified crops)의 안전성과 표시문제가 우리 나라를 비롯해 전 세계적으로 주요 정책적인 이슈로 부각되고 있는 가운데, 2001년 3월 1일부터 일부 유전자재조합농산물(콩, 옥수수, 콩나물, 감자)에 대한 표시제가 의무화되었으며, 2001년 7월부터는 유전자재조합 콩 및 옥수수를 원료로 사용한 가공식품에 대해서도 유전자 변형체 혼입 여부를 표시하도록 되어 있다.<sup>1,2)</sup>

유전자재조합작물은 개발방법에 따라 유전자 발현 조절 부위(promoter), 목적형질부위(structure gene), 유전자 발현 종결 조절 부위(terminator) 등 3가지의 도입 DNA부위를 가지고 있으며, 지금까지 개발된 많은 유전자 변형 작물은 주

로 cauliflower mosaic virus 유래의 35S promoter와 Agrobacterium tumefaciens 유래의 NOS terminator를 가지고 있다.

이러한 특성을 이용하여 GMO를 검출하기 위해서는 도입된 특정 유전자를 근거로 염기서열을 탐지하는 정성 PCR법이 많이 이용되고 있다.<sup>3,4)</sup> 특히 가공식품의 경우 제조·가공과정에서 살균, 압출, 산처리 또는 발효작용에 의해 식품 중의 DNA가 손상되므로 PCR법에서 효과적으로 DNA를 분리, 정제하는 방법이 GMO를 검출하는데 있어서 핵심이 된다.<sup>5-8)</sup>

본 연구에서는 상용화된 DNeasy<sup>TM</sup>, Wizard<sup>TM</sup>법과 일반적인 DNA추출방법인 CTAB, phenol/chloroform 방법을 이용하여 각 방법별 효율과 수율을 비교 분석하였고,<sup>9-11)</sup> 이를 이용한 GMO검출에 대한 표적 DNA의 검출 및 효율성에 대하여 연구하였다.<sup>12,13)</sup>

<sup>†</sup> Author to whom correspondence should be addressed.

## 재료 및 방법

### 시료전처리

시료는 된장, 두부, 두유 등 콩 가공식품 10종과 콘칩, 옥수수가루, 튀김가루 등 옥수수가공식품 13종을 구입하여 시료로 사용하였다. 시료중 고형상인 것은 막자 사발을 이용하여 완전히 마쇄를 하였다. 마쇄한 고체 시료는 100 mg을 취하여 DNA 추출에 사용하였고, 된장 및 찜장의 경우는 콩덩어리가 보이지 않을 정도까지 막자 사발에서 곱게 갈아준 후 100 mg을 취하여 DNA 추출에 사용하였다. 두유의 경우는 150~200  $\mu$ l를 취하여 DNA 추출에 사용하였다.

### DNA 분리

**Wizard DNA purification™ Method** – 100 mg의 균질화된 샘플을 1×TNE buffer[10 mM Tris-HCl(pH 8), 150 mM NaCl, 2 mM EDTA, 1%SDS] 860  $\mu$ l, proteinase K (20 mg/ml) 40  $\mu$ l, 5 M guanidium hydrochloride 100  $\mu$ l와 혼합한다. 혼합액을 항온수조에서 55 °C, 3시간 처리 후 원심분리(14,000 rpm 10분 4 °C)하였다. 상층액 500  $\mu$ l를 Wizard mini column(Promega™)의 resin과 1분간 반응시킨 후 80% isopropanol 세척하고, 원심분리(14,000 rpm 1분)시킨 후 상온에서 10~15분간 증발시켜 건조시켰다.

용출은 미리 가온한(65 °C) 50  $\mu$ l TE[10 mM Tris-HCl(pH 8), 1 mM EDTA]를 넣고 5분간 방치 후 원심분리(14,000 rpm 2분)한다. 용출된 액은 사용할 때까지 -18 °C에서 보관하였다.

**DNeasy plant mini prep™ method** – 균질화된 시료 100 mg을 2 ml 튜브에 넣고 미리 65 °C로 가온한 AP1 buffer 600~700  $\mu$ l와 RNase A(100 mg/ml) 5  $\mu$ l를 첨가한 후, 균질하게 섞어 65 °C에서 3시간 항온처리 하였다. AP2 buffer 200  $\mu$ l를 넣고 얼음 속에 5분간 냉온 처리한 후 실온에서 14,000 rpm 5분간 원심분리하여 그 상층액 600  $\mu$ l를 QIA shredder spin column에 넣었다. 실온에서 14,000 rpm 2분간 원심분리하여 칼럼을 통과한 용액 500  $\mu$ l를 새로운 2 ml 튜브에 옮긴 후 AP3 buffer 750  $\mu$ l를 첨가하였다.

혼합추출액을 DNeasy spin column에 넣고 14,000 rpm 1분간 원심분리하여 DNA를 칼럼의 실리카겔 막에 부착시켰다. 칼럼을 새로운 AW buffer 세척한 다음, 65 °C로 가온한 50  $\mu$ l TE를 칼럼에 첨가하고 5분간 방치 후 원심분리(14,000 rpm 2분)하였다. 용출된 액은 사용할 때까지 -18 °C에서 보관하였다.

**CTAB method** – 균질화된 시료 100 mg을 CTAB buffer 500  $\mu$ l[50 mM hexadecyl-trimethyltrimethyl ammoniumbromide, 1.4 M NaCl, 100 mM Tris-HCl(pH 8), 20 mM EDTA]와

혼합하여 65 °C, 30분간 항온처리하였다. Phenol : chloroform : isoamylalcohol(25:24:1) 혼합액 800  $\mu$ l을 넣고 혼합 후 10분간 12,000 rpm로 원심분리하였다. 상층액을 새로운 튜브로 옮기고 동일한 양의 chloroform : isoamylalcohol(24:1) 혼합액을 넣은 후 14,000 rpm 10분원심분리하여 상층액을 취하였다. 상층액을 새로운 튜브로 옮겨 isopropanol 넣어 DNA를 침전시킨 후 침전물을 원심분리(14,000 rpm, 5분)하였다. 70% ethanol로 2~3회 세척 후 100~200  $\mu$ l TE buffer에 녹인 후 사용할 때까지 -18 °C에서 보관하였다.

**Phenol/chloroform extraction and ethanol precipitation system** – 균질화된 시료 100 mg에 1.5 ml 467  $\mu$ l TE buffer, 10% SDS의 30  $\mu$ l, 20 mg/ml proteinase K 3  $\mu$ l를 넣고 37 °C에 1시간 항온처리하였다. 처리 후 동일양의 phenol/chloroform을 넣어 혼합하고 조심스럽게 DNA/phenol mixture를 분리하였다. 이에 1/10 volume의 sodium acetate (3 M, pH 5.2)와 0.6 volumes의 isopropanol을 넣어 DNA를 침전시킨 후 침전된 DNA를 원심분리(7,000 rpm, 5분)하였다. 70% ethanol로 2~3회 세척 후 100~200  $\mu$ l TE buffer에 녹인 후 사용할 때까지 -18 °C에서 보관하였다.

### DNA의 순도확인

DNA시료 원액을 TE buffer로 희석하여 230, 260, 280 nm에서 Gene-QuantII spectrophotometer(Jasco, Japan)를 사용하여 흡광도를 측정하였다. DNA의 농도는 260 nm에서의 흡광도가 1일 때의 DNA 농도는 50 ng/ $\mu$ l이므로 추출한 DNA의 농도(ng/ $\mu$ l)는 (260 nm에서의 흡광도×50×희석배수)로 하여 계산하였다. DNA원액은 PCR에 적당한 농도인 20 ng/ $\mu$ l가 되도록 TE buffer로 조정하여 -18 °C에서 보관하였다.

### Primer Size(bp)

내재유전자를 확인하기 위해 콩은  $\beta$ -actin을 검출하기 위해 프라이머 사이즈 160 bp를 사용하였고, 옥수수는 zein을 검출하기 위해 프라이머 사이즈 110 bp를 사용하였다. 도입된 GMO유전자 부위를 확인하기 위해, 35S promoter(190 bp), NOS terminator(185 bp)를 사용하였다.

LEC-1	5'-GTGCTACTGACCAGCAAGGCCAAACTCAGCG-3'	ref-14
LEC-2	5'-GAGGGTTTTGGGGTGVVGTTCGTC AAC-3'	ref-14
Zein-1	5'-GGCCGGATCGTCATGCTCTACA-3'	ref-14
Zein-2	5'-TTGGCGTCCGACTTGACCCACT-3'	ref-14
35S-A	5'-AAGGGTCTTGC GAAGGATAG-3'	ref-15
35S-B	5'-AGTGGAAAAGGAAGGTGGCT-3'	ref-15
NOS-1	5'-GAAATCCTGTTGCCGGTCTTG-3'	ref-16
NOS-2	5'-TTATCCTAGTTTGCGCGCTA-3'	ref-16

### PCR증폭 및 확인

각 시료에서 추출한 DNA는 증류수 50~100  $\mu$ l에 녹였다. 콩가루나 옥수수 가루에서 추출한 DNA는 50~100 ng을 PCR에 이용하였다. 반응액의 조성은 Template DNA 5  $\mu$ l, 5 $\times$ reaction buffer 5  $\mu$ l, Primer Mixture 2  $\mu$ l, Taq DNA polymerase(1U/ $\mu$ l) 1  $\mu$ l와 DW로 최종 반응액이 25  $\mu$ l되도록 조성하였다. Thermocycler는 Perkin Elmer 5700을 사용하였으며 반응은 denature(94  $^{\circ}$ C, 20초), annealing(60  $^{\circ}$ C, 40초), extension(72  $^{\circ}$ C, 1분)으로 35cycle 실시하였다. 증폭된 DNA단편은 1.5% agarose gel에서 전기영동으로 분리하여 ethidium bromide로 염색하여 확인하였다.

### 결과 및 고찰

#### 콩 및 옥수수 내재유전자의 추출방법별 DNA 추출량 조사

본 연구에서는 현재 식품이나 유전자재조합작물에서 DNA를 추출하기 위해 사용되는 추출방법 중에서 Wizard DNA purification<sup>TM</sup> system(Promega Co Ltd), DNeasy plant mini prep<sup>TM</sup> system(Qiagen Co. Ltd), Phenol/chloroform extraction and precipitation system, CTAB system의 4가지 방법을 선정하여 추출방법별로 콩과 옥수수 가공식품의 DNA를 추

출하여 추출효율과 PCR증폭산물에 대한 결과를 비교하였다. 콩 내재 유전자인  $\beta$ -actin의 경우 Wizard<sup>TM</sup>법과 DNeasy<sup>TM</sup>법에서 비교적 유전자가 잘 보존되는 반면, Phenol/chloroform법과 식물유전자의 추출방법으로 많이 사용되고 있는 CTAB법에서는 유전자가 대부분 소실되는 것으로 나타났다(Fig. 1). 이는 Kim 등<sup>17)</sup>의 GM 원료콩 실험에서 DNeasy plant mini prep<sup>TM</sup> system(Qiagen Co. Ltd)으로 추출한 핵산 농도가 CTAB system을 이용한 것보다 3분의 1정도로 낮다는 보고와는 상이하였다.

우리나라 대표적인 전통식품이며, 콩을 이용한 발효식품인 된장은 담금이후의 숙성과정에서 다양한 가수분해효소가 작용함으로 내재 DNA의 많은 부분이 소실되어 DNA가 추출되지 않는 경우도 있었다(Fig. 1). 특히 유통기간, 제품별, 제조회사별로 많은 차이를 보였으며, 유통기간이 짧은 제품일수록 DNA의 추출량이 많았다. 이는 藤波傳子 등<sup>18)</sup>의 된장의 숙성기간이 증가할수록 재조합 DNA의 수가 감소하였다는 보고와 일치하는 결과로서 된장과 같은 발효식품의 경우 발효진행에 따라 핵산의 소실이 계속되므로 정확한 재조합 DNA의 검출을 위해서는 적절한 시료채취시점을 결정하는 것이 중요한 것으로 판단되었다.

DNA가 가장 높은 농도로 추출된 Wizard DNA purification<sup>TM</sup> 법에서 두부(Fig. 1의 lane 6) 및 두유(Fig. 1의

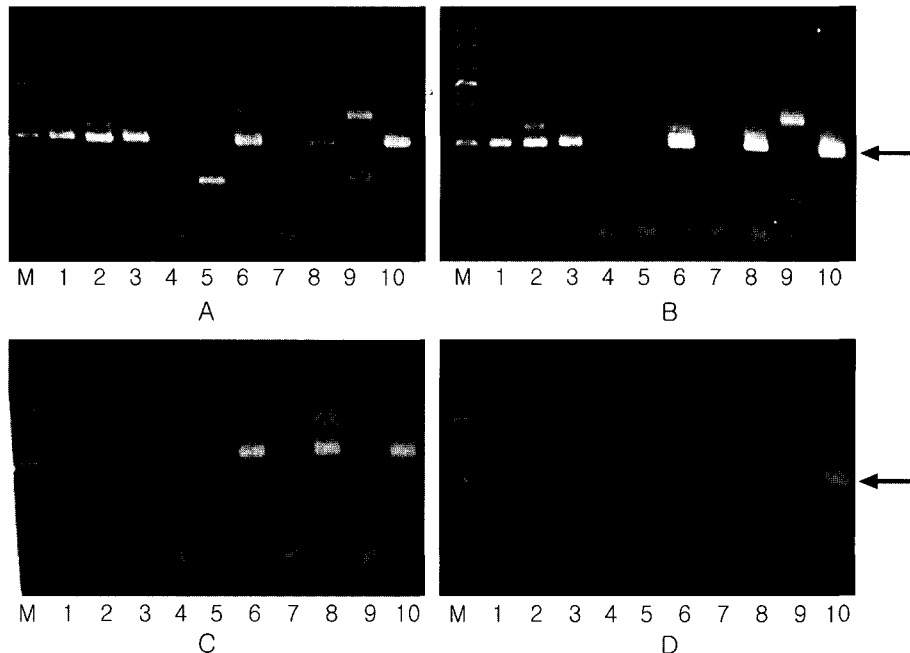


Fig. 1. Result of PCR detection on  $\beta$ -actin from processed soy foods.

A: DNA were isolated from Wizard DNA purification<sup>TM</sup> system, B: DNeasy plant mini prep<sup>TM</sup> system, C: Phenol/chloroform system, D: CTAB system, M: 1 kb ladder, Bean paste (1-4 lane), Mixed seasoning (lane 5) Tofu (lane 6), Bean sprout (lane 7), Soy milk (lane 8), Noodle (lane 9), GMO soybean (lane 10).

lane 8)의 DNA를 추출한 경우 총 DNA 및 내재 유전자인  $\beta$ -actin을 증폭한 PCR산물이 비교적 잘 보존됨을 확인 할 수 있었다. 반면 탈지 대두가 함유된 조미식품(Fig. 1의 lane 5)의 경우는 DNA추출은 가능하였으나  $\beta$ -actin의 증폭산물은 관찰되지 않았다. 이는 추출된 DNA가 콩에서 유래된 것보다는 기타 배합성분에서 유래된 DNA가 많은 비율로 포함이 되어 있었기 때문이라고 추정된다. Lane 7의 콩나물의 머리부분에서 DNA를 추출하여  $\beta$ -actin으로 증폭한 결과 증폭산물은 거의 보이지 않았다. 이는 콩나물 머리쪽의 유전자가 대부분 발아과정에서 세포성장이 활발한 뿌리와 줄기 쪽으로 이동하며 머리쪽(Cotyledons)에는 저장단백질이 증가하기 때문인 것으로 사료된다.<sup>19)</sup>

콩나물 분석시 콩나물의 뿌리와 줄기쪽을 분석하는 것이 정확한 결과를 얻을 수 있을 것이라 생각된다.

옥수수 및 옥수수 가루 그리고 옥수수 전분을 이용한 가공 식품에서 DNA 추출정도 및 재조합유전자의 함유 여부를 조사한 결과에서도 Wizard™법과 DNeasy™법은 비교적 유전자가 잘 보존되는 반면 Phenol/chloroform과 CTAB법에서는 유전자가 대부분 소실되는 것으로 나타났다.

옥수수를 원료로 한 콘칩류(Fig. 2 lane 1, 2), 튀김 가루(Fig. 2 lane 5) 및 스프류(Fig. 2 lane 8, 9, 10)는 4가지 방법 모두 비교적 DNA추출이 잘 되었고, 내부 유전자인

zein 유전자도 잘 증폭되었다. 그러나 옥수수 전분으로만 만들어진 튀김가루에서는 추출된 DNA양에 비하여 옥수수 내부 유전자(zein)의 증폭정도는 극히 미량이었다. 이는 전분의 제조과정 중 호화나 젤라틴화에 의하여 변성되면서 대부분의 DNA가 소실되는 것으로 보인다. 옥수수를 이용한 팝콘류(Fig. 2의 lane 12)와 옥수수 통조림(Fig. 2의 lane 11)에서 DNA가 비교적 잘 보존이 되었고 zein유전자도 잘 증폭되었다.

### 콩 및 옥수수 35S promoter의 추출방법별 PCR산물 비교

쌈장류, 된장류, 두부 및 두유류를 대상으로 35S promoter 부위를 탐지한 결과  $\beta$ -actin이나 zein유전자의 경우와는 달리 DNeasy™ 법에서 추출된 DNA가 Wizard™ 법으로 추출된 DNA에 비하여 좋은 증폭효율을 보였다.(Fig.2 A,B). CTAB법의 경우 DNeasy™ 법이나 Wizard™ 법과 유사한 증폭효율을 보였으나 쌈장류 및 된장류 식품중에서는 전혀 증폭이 이루어지지 않아 결과의 편차가 심했다.

한편 탈지 대두가 포함된 조미식품에서는 극히 미량의 35S promoter 증폭산물이 관찰되었고, 최근 개발된 콩라면에서도 GMO가 혼입되었다고 판단하기에 불분명할 정도로 미량의 증폭산물이 관찰되었다(Fig 3).

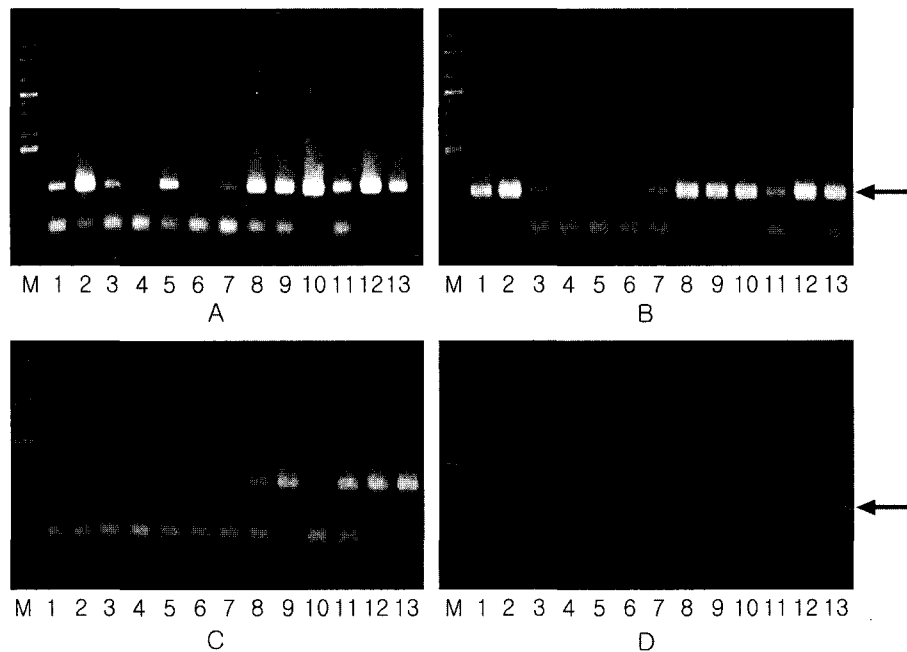
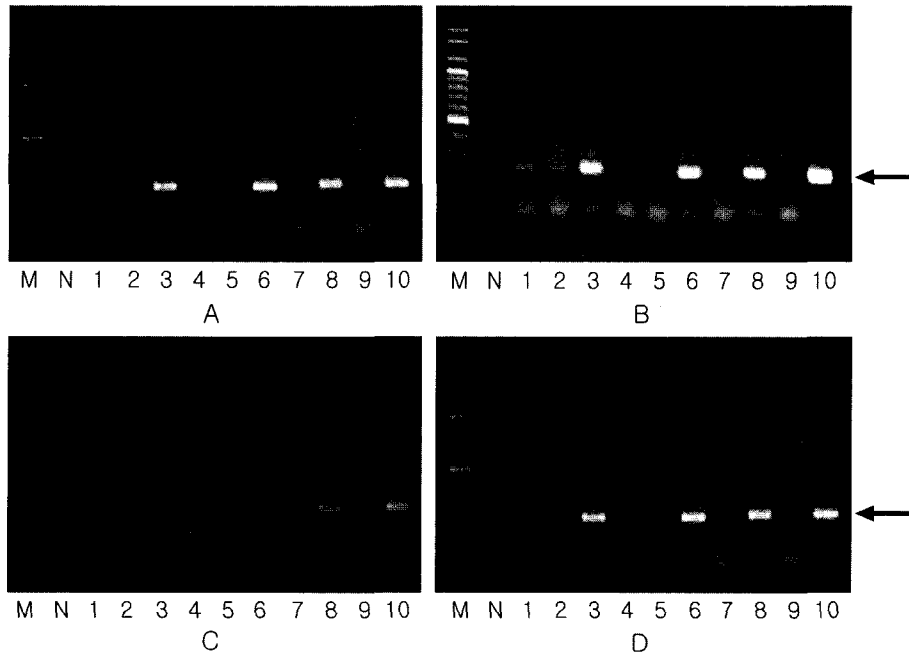


Fig. 2. Result of PCR detection on zein from processed corn foods.

A: DNA were isolated from Wizard DNA purification™ system, B: DNeasy plant mini prep™ system, C: Phenol/chloroform system, D: CTAB system, M: 1 kb ladder Corn chip (1-4 lane), Frying corn powder (lane 5-6) Mixed seasoning (lane 7), Corn soup (lane 8-10) Popcorn (lane 11-12), GMO corn (lane 13).



**Fig. 3. Result of PCR detection on 35S promoter from processed soy foods.**

A: DNA were isolated from Wizard DNA purification™ system, B: DNeasy plant mini prep™ system, C: Phenol/chloroform system, D: CTAB system, M: 1 kb ladder, N: Negative Control, Bean paste (1-4 lane), Mixed seasoning (lane 5) Tofu (lane 6), Bean sprout (lane 7), Soy milk (lane 8) Noodle (lane 9), GMO soybean (lane 10).

Phenol/chloroform을 이용한 추출방법은 내재유전자의 경우와 마찬가지로 가장 낮은 수율을 나타내었다.

옥수수 및 옥수수 유래의 가공 식품에서 추출한 DNA를 가지고 GMO내에 도입된 35S promoter 부위를 탐지한 결과 상업용키트에서 추출한 모든 시료에서 GMO 제조사 도입한 35S promoter가 탐지되었다. 콩 및 콩가공식품에서와 마찬가지로 DNeasy™ 법이나 Wizard™ 법 모두 매우 양호한 결과를 얻을 수 있었으나 CTAB법과 phenol/chloroform 법에서는 증폭산물을 거의 얻을 수 없었다. 특히 콩가공식품에서 비교적 높은 수율을 보였던 CTAB법에서 증폭산물이 거의 관찰되지 않았다. 이러한 결과로 미루어 옥수수를 이용한 식품의 경우 특히 CTAB법을 이용한 핵산의 추출방법은 적합하지 않은 것으로 사료된다(Fig. 4).

#### 콩 및 옥수수 NOS terminator의 추출방법별 PCR산물 비교

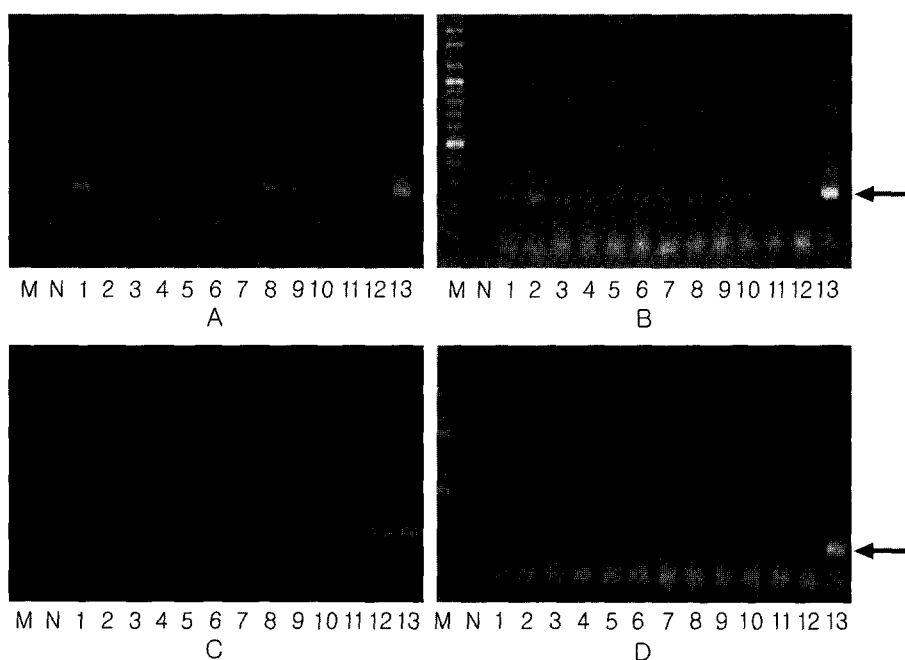
콩가공식품을 대상으로 NOS terminator부위를 탐지한 결과 35S promoter의 경우와 마찬가지로 DNeasy™ 법이 가장 우수하였고 Wizard™ 법도 좋은 효율을 보였다. 대부분의 유전자재조합식품은 이러한 35S promoter와 NOS terminator를 동시에 가지고 있는 것이 정상적이나 가공식품의 특성상 다양한 화학·물리적인 변성요인에 의하여 어느

한쪽이 더 심한 손상을 가져올 수 있다. 두부의 경우 NOS terminator는 잘 보존이 되는 반면 35S promoter는 결손이 되어 NOS terminator만을 관찰할 수 있었다(Fig. 4, 5). 가공식품에서는 가공정도에 따라서 35S promoter혹은 NOS terminator 중 검출정도의 차이가 발생할 가능성이 있으며, 이러한 경우 도입유전자와 연결유전자를 모두 검색하는 다중검색법이 필요한 것으로 사료된다.

옥수수 유래의 가공 식품에서 NOS terminator지역을 탐지한 결과 상업용키트중 DNeasy™법의 검출효율이 급격히 감소하는 것으로 나타났다. Wizard™ 법의 경우 대상 시료 모두에서 도입 유전자가 탐지되었다. 그 중에서 콘칩류, 스프류, 튀김 가루에서 매우 효과적으로 NOS 유전자가 증폭되었다. 따라서 Wizard™ 법이 콩 및 콩 유래 가공 식품과 옥수수 및 옥수수 유래 가공 식품에서 DNA를 추출하여 GMO 혼입 여부를 가리는데 있어서 매우 효과적이라고 사료된다.

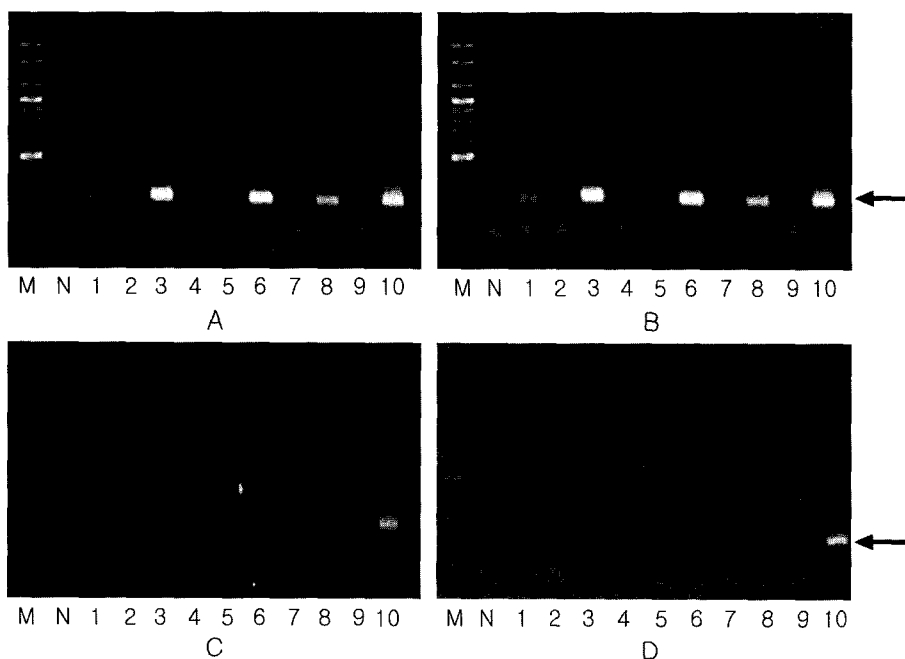
#### 감사의 말씀

본 논문은 2001년도 과학재단 특정목적 기초연구사업(관리번호 R01-2000-000-00188-0)의 일환으로 수행된 연구결과의 일부이며 이에 감사하는 바이다.



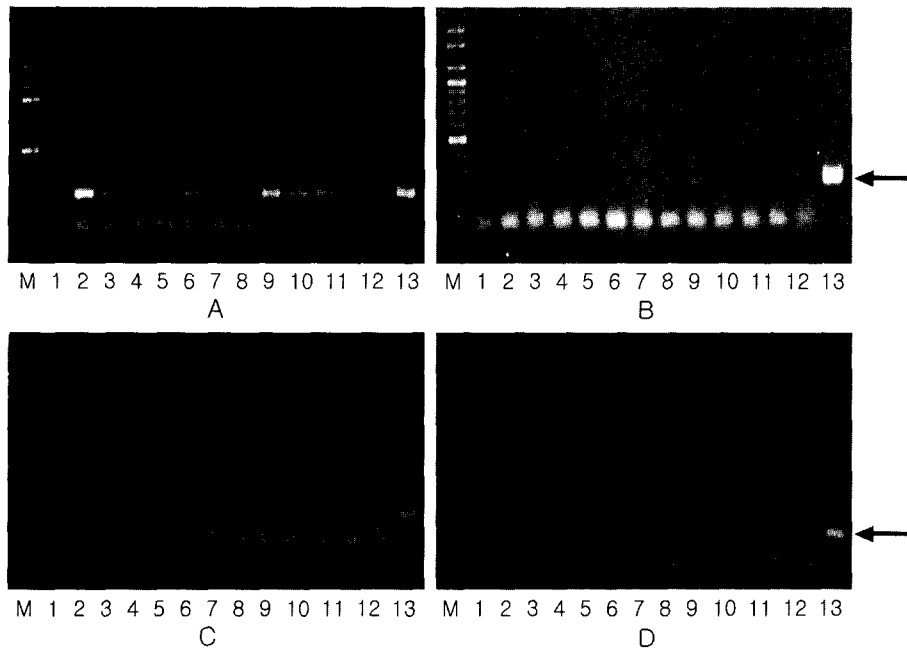
**Fig. 4. Result of PCR detection on 35S promoter from processed corn foods.**

A: DNA were isolated from Wizard DNA purification<sup>TM</sup> system, B: DNeasy plant mini prep<sup>TM</sup> system, C: Phenol/chloroform system, D: CTAB system, M: 1kb ladder Corn chip (1-4 lane), N: Negative Control, Frying corn powder (lane 5-6), Mixed seasoning (lane 7), Corn soup (lane 8-10), Popcorn (lane 11-12), GMO maize (lane 13).



**Fig. 5. Result of PCR detection on NOS terminator from processed soy foods.**

A: DNA were isolated from Wizard DNA purification<sup>TM</sup> system, B: DNeasy plant mini prep<sup>TM</sup> system, C: Phenol/chloroform system, D: CTAB system, M: 1 kb ladder Bean paste (1-4 lane), N: Negative Control, Mixed seasoning (lane 5), Tofu (lane 6), Bean sprout (lane 7), Soy beverage (lane 8), Nuddle (lane 9), GMO soybean (lane 10).



**Fig. 6. Result of PCR detection on zein from processed corn foods.**

A: DNA were isolated from Wizard DNA purification<sup>TM</sup> system, B: DNeasy plant mini prep<sup>TM</sup> system, C: Phenol/chloroform system, D: CTAB system, M: 1 kb ladder Corn chip (1-4 lane), N: Negative Control, Frying corn powder (lane 5-6), Mixed seasoning (lane 7), Corn soup (lane 8-10), Popcorn (lane 11-12), GMO maize (lane 13).

## 국문요약

PCR법은 특정 유전자를 증폭하는 기술로 작물 및 식품에서 유전자 변형체 함유 여부를 가리는 효과적인 방법이다. 그러나 핵산의 추출법에 따라 PCR의 감도가 크게 달라지므로 정확한 추출법의 선정이 매우 중요하다. 본 연구는 현재 컬럼형 상용화 키트와 기존의 용매 추출방법을 이용하여 콩과 옥수수 가공식품에 대한 각 유전자 부위의 검출감도를 비교 분석하였다. 핵산의 추출효율과 도입유전자의 증폭효율면 모두 상용화 키트인 Wizard<sup>TM</sup>, DNeasy<sup>TM</sup> 추출법이 우수하였다. DNeasy법은 대부분의 식품에서 우수한 추출효율을 보였으나, 옥수수 가공식품에서 수율이 감소하는 단점을 나타내었다. Wizard법은 모든 가공식품에서 고른 추출효율을 보였으며, PCR반응에 의한 증폭산물도 잘 보존되어 가공식품의 GMO검출에 적합한 것으로 나타났다. 한편 CTAB법은 콩가공식품에서 약간 효율이 좋은 것으로 나타났으나 대부분의 경우 효율이 낮았으며, 식품의 종류에 따라 편차가 심하게 나타났다. phenol/chloroform법은 대부분의 식품에서 핵산의 분리가 어려운 방법으로 나타나 GMO분석에는 적합하지 않은 방법으로 확인되었다.

## 참고문헌

1. 유전자 변형 농산물 표시 요령, 농림부 고시 제 2000-31호.
2. 유전자재조합식품등의 표시기준, 식품의약품안전청 고시 제 2001-43호.
3. Gachet, E., Martin, G.G., Vigneau, F. and Meyer, G.: Detection of genetically modified organisms (GMOs) by PCR: a brief review of methodologies available, *Trends in Food Science & Technology*, **9**, 380-388 (1999).
4. Luthy, J.: Detection strategies for food authenticity and genetically modified foods, *Food Control*, **10**, 359-361 (1999)
5. ILSI Europe Report Series, Method Development in Relation to Regulatory Requirements for the Detection of GMOs in the food chain, ILSI Europe, (2000).
6. MacCormick, C.A., Griffin, H.G., Underwood, H.M. and Gasson, M.j.: Common DNA sequences with potential for detection of genetically manipulated organisms in food, *Journal of Applied Microbiology*, **84**, 969-980 (1998).

7. Schreiber, G.A.: Challenges for methods to detect genetically modified DNA in foods, *Food Control*, **10**, 351-352 (1999).
8. Meyer, R.: Development and application of DNA analytical methods for the detection of GMOs in food, *Food Control*, **10**, 391-399 (1999).
9. Hubner, P., Studer, E. & Luthy, J.: Quantitative competitive PCR for the detection of genetically modified organisms in food, *Food Control*, **10**, 353-358 (1999).
10. Van Duijn, G., van Biert, R., Bleeker-Marcelis, H., Peppelman, H. & Hessing, M., Detection methods for genetically modified crops, *Food Control*, **10**, 375-378 (1999).
11. Zimmermann, A., Lithy, J. and Pauli, U.: Quantitative and qualitative evaluation of nine different extraction methods for nucleic acids on soya bean food samples, *Z Lebensm Unters Forsch A*, **207**, 81-90 (1998).
12. Stave, J.W.: Detection of new of modified proteins in novel foods derived from GMO-future needs, *Food Control*, **10**, 367-374 (1999).
13. Wurz, A., Bluth, A., Zeltz, P., Pfeifer, C. & Willmund, R.: Quantitative analysis of genetically modified organisms (GMO) in processed food by PCR-based methods, *Food Control*, **10**, 385-389 (1999).
14. Development of Method to identify foods produced by means of genetic engineering DIMF-GEN 2000 DEC.15.
15. Ehlers, B., Strauch, E., Goltz, M., Wagner, H., Maidhof, H., Bendick, J., Apple, B. and Buhk, H. J.: *Bundesgesundheitsblatt*, **4**, 118-211 (1997).
16. Hardegger, M., Brodmann, P., Herman, A.: Quantitative detection of the 35S promoter and the NOS terminator using quantitative competitive PCR; *Eur Food Res Technol*, **209**, 83-87 (1999).
17. Kim, H.J., Park, S.H. and Kim, H.Y.: Study for Detection of Glyphosate Tolerant Soybean Using PCR, *Korean J. Food SCI. Technol.*, **33**, 521-524 (2001).
18. 藤波傳子, 山口敏和, 毛利光之, 된장 숙성 과정 중에 대두유래 DNA의 消長—재조합DNA검증—, *된장의 과학과 기술*, **4**(11), 399-402 (2000).
19. Peter Westhoff; Molecular plant development from gene to plant (1998).