

遺傳子 再組合食品의 公認된 檢查方法의 개발

김태산* 김영미* 박용환*

목차

- | | |
|-------------------------------|-------------------------------------|
| I. 서 론 | 2. NOS 터미네이터를 이용한 콩시료
PCR 분석결과 |
| II. 유전자변형 작물의 개발현황 | 3. 35S 프로모터를 이용한 옥수수 시료
의 PCR 분석 |
| III. 검정방법 | V. GM 식품의 정량분석법 |
| 1. 특이항체(ELISA) 이용법 | VI. 공인검사방법 |
| 2. 핵산증폭반응(PCR) 이용법 | VII. 결 론 |
| 3. PCR 검정방법에 영향을 미치는 요소 | |
| IV. EU 회원국의 GMO Ring Test 결과 | |
| 1. 35S 프로모터를 이용한 콩시료 분석
결과 | |

I. 서 론

“유전자 재조합 식품”¹⁾을 만드는데 이용하는 유전공학 방법은 새로운 과학이 아니라 이미 수 천년 전부터 인류가 빵, 요구르트, 맥주, 포도주, 치즈 등의 음식을 만들 때 적용해 오던 방법으로 고대인들은 미생물의 존재도 모른 채 효모나 박테리아 등을 이용해 왔다. 오늘날에는 이러한 효모나 박테리아 중 인류가 이용할 수 있는 것만을 골라서 상업적인 발효산업에

* 농촌진흥청 농업과학기술원 연구위원

1) 유전자 재조합 기술(Recombinant DNA Technique)은 어떤 생물의 유전자 중에서 인류가 목표로 하는 바람직한 유전자, 즉 병충해 또는 추위에 강하거나 생산성 향상 유전자 등을 분리하여 이를 가공한 후 목표로 하는 생물에 도입하여 새로운 품종을 만드는 기술이며 이러한 기술을 이용하여 육성한 유전자 재조합생물체 또는 유전자변형 생물체(Genetically Modified Organism)에서 유래된 식품을 유전자 재조합 식품이라 한다.

유용하게 이용하고 있다. 현대의 유전공학 기술의 발달은 어느 특정 유전자 또는 유전자군을 여러 생물종에 도입하는 일을 가능케 하고 있으며 이제 유전자 재조합 기술의 활용은 생물과학, 의학, 농업 등 모든 분야에 걸쳐 유용하게 이용되고 있다. 이러한 유전자 재조합 기술을 식품생산에 처음 이용한 것이 1980년대 치즈 응유 효소인 키모신(chymosin)의 생산인데 종래에는 응유 효소를 송아지 위에서 얻어야 하는 번거로움이 있었다.

실제로 유전자 재조합 식품에 대한 검정기술에 대한 연구는 1994년 Schulze 등의 스위스 과학자에 의해 시작되었으나 “유전자변형 생물체”²⁾에 사용된 외래 유전자에 대한 정확한 정보확보가 곤란하여 이론만 제시하는데 불과하였다. 최초로 상업화된 유전자변형 토마토 “Flavr Savr”³⁾에 대한 검정법 개발연구가 1995년 Meyer에 의해 처음 시도된 후 이태리, 영국, 벨기에, 독일, 네덜란드 등에서는 유전자변형 작물의 검정기술 실용화 연구가 활발히 진행되고 있다.

우리나라는 2001년 3월부터 시행되는 농림부의 유전자변형 농산물의 표시제와 2001년 7월 시행 예정인 식품의약품안전청의 유전자 재조합 식품 표시제와 관련하여 GMO 검정기술 개발에 대한 논의가 활발하게 이루어지고 있다. 이미 농촌진흥청 농업과학기술원에서는 1998년부터 PCR 검정법을 이용하여 수입 콩 중에 제초제 저항성 콩이 상당 비율로 혼입되어 있음을 밝힌 바 있으며, 현재는 농림부의 표시제 시행과 함께 GMO 정량분석법 개발 연구를 활발히 추진 중에 있다. 그러나 GMO 검정기술을 연구 개

2) 미국 농무부의 “Guidelines for Research Involving Planned Introduction into the Environment of Genetically Modified Organism”에서는 유전자변형 생물체(Genetically Modified Organism, GMO)를 어떤 생물체의 유전형질이 생물체의 게놈(genome)으로부터 유전물질이 도입(introduction), 재배열(rearrangement), 또는 제거(removal) 될 수 있도록 어떤 인위적 방법을 사용하여 변형이 일어난 생물체로 정의하고 있다. 영어로는 Genetically Manipulated Organism, Genetically Engineered Organism, Gene Altered Organism 등으로 섞어 사용하고 있으며 유엔환경계획(UNEP)에서는 생명공학의정서(안)에 LMO(Living Genetically Modified Organism)라는 용어를 사용하고 있으나 대부분의 나라에서는 GMO라는 용어를 많이 사용하고 있다.

3) Flavr Savr는 수송 중 과육이 물러지는 현상을 지연시켜 저장성이 개선된 토마토로서 미국 Calgene 사에 의해 개발되어 상품화되었으며 주로 식품 가공용으로 이용되고 있다.

발하여 기술력을 갖추는 것은 당연하지만, 기술 수준의 변화가 해마다 다르고, 국가마다 다르기 때문에 국제적으로 공인된 검정기술의 정립은 어려운 실정이다. 특히 표시제 시행 전에 검정에 필요한 유전자정보, GM 산물 표준시료 등을 공식적으로 요구할 수 있는 국가적 안전관리체계 수립이 절실히 필요함은 물론 검정기술 개발을 촉진시키기 위해서는 GM작물의 개발에 대한 포괄적인 유전자 정보 데이터 베이스화 및 국내외 연구기관과의 정보공유가 무엇보다 필요하다. 또한 GM식품 시료의 크기나 sample 추출 방법에 있어서 과학적이고 통계적 원칙에 근거하여 국제적으로 인정된 방법을 모색하는 일도 중요하다. 본고에서는 최근 국내외에서 논의되고 있는 GM 식품 검사방법과 검출한계 등에 대하여 알아보고자 한다.

II. 유전자변형 작물의 개발현황

농업유전공학 기술은 생산성의 향상, 환경보전, 식품의 안전성 및 품질향상에 기여함은 물론 농업의 경쟁력을 높일 수 있는 유일한 대안으로 인식되고 있다. 유전자변형 작물(GMO)의 개발은 미국, 캐나다 등의 선진국이 주도하고 있지만 우리나라의 기술도 선진국과 기술 격차가 그다지 크지 않아 앞으로 유망산업으로 각광받을 전망이다. 1999년 전세계 유전자변형 작물의 재배면적은 콩이 2,160만 �ект어, 옥수수 1,110만 �ект어 그리고 면화, 유채, 감자 등을 합쳐 총 3,990만 �ект어에 이르고 있으며 국별로는 미국이 2,870만 �ект어로 전세계 재배면적의 약 72%를 점유하고 있다.⁴⁾ 미국의 GM 작물 재배는 제초제 저항성 콩이 1,400만 �ект어로 미국 콩 재배면적의 47%를 차지하고 있으며 그 다음이 Bt 옥수수 1,130만 �ект어로 미국 옥수수 재배면적의 37%를 점유하고 있으며 이밖에 면화와 유채가 각각 48%와 35%를 차지하고 있다.

4) 자료 ISAAA, Clive James 1999 : 1996년(170만헥터), 1997(1,100만), 1998(2,780만), 1999(3,990만 헥터).

유럽연합(EU) 지역에서도 99년 8월까지 모두 Bt 옥수수 등 80개 작물에 대하여 1,485건의 포장시험이 이루어졌으며, 이 중 프랑스가 29개 작물의 454건으로 가장 많고 그 다음이 이태리로 26작물 248건에 이르고 있다. GM 작물의 특성별로는 제초제 저항성이 2,810만 헥터로 가장 많고 그 다음이 해충저항성의 890만 헥터, Bt/해충저항성, 바이러스저항성 등의 순서이다. 99년도 12월 기준으로 미국의 농무부(USDA)의 비규제 청원승인이 이루어져 상업화된 작물은 옥수수 13종, 토마토 11종, 면화 5, 콩 5, 유채 4, 감자 4, 호박 2, 사탕무 2, 아마 1, 벼 1, 파파야 1, 치커리 1종 등 모두 12작물 50여종에 달하고 있다.⁵⁾ 현재 시판중인 GM 옥수수의 경우 도입된 특성은 제초제 저항성, 해충저항성, 알칼리토양 내성, 병 저항성 해충/제초제 저항성 등 5가지이며 개발회사별로는 AgrEvo 2종, American Cyanamid 1, Dekalb 3, Monsanto 2, Mycogen 2, Garst Seed 3종 등 모두 13종으로 상표명은 Liberty Link, StarLink, Clearfield, YieldGard 등을 사용하고 있다.⁶⁾ 현재 시판중인 GM작물 외에도 향후 5년 이내에 시판예정으로 있는 작물을 보면 Monsanto의 "Bt"⁷⁾ 토마토, American Cyanamid의 제초제 저항성 밀 Zeneca의 병 저항성 바나나, Mycogene의 Bt 밀 등 상당수의 GM작물이 있으며 미국의 몬산토사에서는 제초제 저항성 콩에 이어서 살충성 Bt 콩의 시판을 준비중이다. 현재 미국 Boyce Thompson Institute에서 식물백신 개발 연구가, 스위스 ETH 연구소에서 비타민 A와 철분이 강화된 벼를 개발 중이며 일본에서는 저알러지 벼를 개발 중에 있다.⁸⁾

5) 자료 : 2000년 미국 농무부 동식물 검역소.

6) 자료 : 미국 BIO(Biotechnology Industry Organization) 2000.

7) Bt는 해충의 천적 토양미생물 *Bacillus turingensis*의 머릿글자로서 특정한 해충만을 죽일 수 있는 Bt 단백질을 생산하는 유전자를 분리하여 옥수수나 면화 등의 식물에 도입하여 이를 작물의 해충인 조명나방 등에 살충력을 나타내도록 한 것이다.

8) 자료 : BINAS online, 2000년 1월, "Monsanto Applies for Bt Soyabean Test".

III. 검정 방법

GM식품을 검정하는 방법 중 현재 가장 많이 쓰이고 있는 것이 DNA를 이용하는 PCR(Polymerase Chain Reaction)법과 특이 항체를 이용하는 ELISA 법으로 크게 나눌 수 있다.

1. 특이항체(ELISA) 이용법

먼저 특이 항체법이란 GM작물에 새롭게 도입된 유전자가 생산하는 특이 단백질을 인지할 수 있는 항체단백질을 만들어 이를 이용하여 GM식품에서의 GMO혼입 여부를 검정하는 기술로 GM 단백질이 들어있는 농산물 및 원료 등 비가공 식품의 검정에 적합하다. 특이항체 이용법은 검정 한계치가 0.5~1.0%이며 신속저렴한 것이 특징이다. 현재로는 Monsanto 사에서는 자체 개발한 제초제 저항성 콩 Roundup Ready Soybean에 도입된 “CP4-EPSPS”⁹⁾ 효소 단백질에 특이적으로 반응하는 항체를 제작하여 ELISA kit를 이용한 GMO 검정이 가능하도록 상업화가 되어 있으며, 현재 살충성 옥수수에 도입된 “BT 독소 단백질”¹⁰⁾에 대한 항체도 개발되어 시

9) 제초제가 식물에 작용하는 기작을 보면 Roundup(근사미) 제초제 성분인 글라이포세이트(glyphosate)는 식물체내의 페닐알라닌, 티로신, 트립토판 등 식물 생장에 필요한 방황족 아미노산을 생합성하는 경로에 관여하는 효소 중의 하나인 EPSPS(5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate)라는 효소에 결합하여 효소작용을 저해하여 식물체가 아미노산을 합성하지 못해 결국 고사하게 되는 원리이다. 글라이포세이트 제초제 저항성 유전자는 토양 미생물인 아그로박테리아로부터 분리한 EPSPS 유전자로 이 EPSPS 효소는 글라이포세이트가 결합하는 부위가 없어 근사미 제초제의 영향을 받지 않게 되는데 이 유전자가 도입된 식물은 근사미를 살포하여도 글라이포세이트가 흡수되지 않아 식물의 생육에 필요한 아미노산 합성이 계속적으로 이루어지므로 결국은 제초제에 저항성을 나타내게 된다.

10) 해충성 옥수수의 작용기작 : 해충의 천적 미생물인 토양미생물(*Bacillus turingensis* : 바실러스 투린겐시스)로부터 특정한 해충만을 죽이는 BT 단백질을 만드는 유전자를 분리하여 옥수수나 면화 등 식물에 도입하여 이들 작물에 큰 피해를 주고있는 조명나방 애벌레(European corn borer)나 파리목 등의 해충에 살충력을 나타내도록 한 것이다. 참고적으로 BT 단백질은 1981년경부터 환경친화적인 생물농약제로 사용되어 왔는데 BT 단백질이 살충효과를 갖는 이유는 BT 단백질과 결합하는 수용체가 일반식물이나 포유류에는 없고 해충에만 존재하고있기 때문이다며 더욱이 사람이나 포유류동물의 위액은 강한 산성이므로 BT 단백질이 바로 분해되지만 곤충의 소화기는 알칼리성이어서 BT 단백질이 소화되지 않아 해충에만 독성을 나타내게 된다. 따라서 BT 유전자가 도입된

중에 유통되는 해충저항성 옥수수의 약 95%에 대하여 GMO 혼입여부 검정이 가능하다. 특이항체 이용법 GM식품 검정에 이용하는 경우 기술 적용상 문제점을 보면 특이 항체법은 열, 산도 등에 의해 식품에 들어있는 단백질이 변성되는 가공식품에서는 적용이 불가능하다. 또한 도입유전자가 생성하는 단백질 양이 너무 적어도 안되므로 최소한의 양이 확보되어야만 가능한 단점이 있다. 더욱이 유전자가 발현단백질은 식물체의 부위별로 다를 수 있어 곡식에서 유전자가 발현되지 않는 경우는 검정이 곤란하다.¹¹⁾

2. 핵산증폭반응(PCR) 이용법

핵산증폭 GMO 검정에 널리 이용되고 있는 방법은 “핵산증폭반응(PCR)”¹²⁾ 기술로 PCR 기술의 이론적 근거를 제시한 것은 1971년 Kleppe 등이며 이를 실험에 응용한 것은 1985년 Saiki 등이다. 이후 PCR 기술은 분자생물학 분야와 생물의학 분야에 일대 혁명을 일으켜 1996년의 White 의 보고에 의하면 PCR법이 연구논문에 이용된 회수가 무려 40,000회에 이르고 있는 점을 보더라도 PCR법의 위력을 감히 짐작할 수가 있다. 화학성분이나 고열에 견딜 수 있는 DNA의 특성과 PCR 방법의 간도, 기술의 단순성 때문에 PCR과 관련한 실험에 대한 지식과 경험이 그 동안 매우 깊이 축적되어 왔다. 더욱이 PCR 기술의 자동화와 함께 거의 모든 검정기술에 이러한 PCR 기술이 압도적으로 이용되고 있다. 핵산증폭반응(PCR)이용법은 식물체에 도입된 외래 유전자의 염기서열 정보에 의해 만들어진 “프라

옥수수 재배 중에 해충이 식물체를 섭취하게 되면 식물체내의 Bt 단백질이 해충의 수용체에 결합한 채 소화가 되지 않아 결국 살충력을 나타내게 된다.

11) 해충저항성 옥수수 Event 176은 미국의 Ciba Seeds 사에서 개발된 것으로 여기에 도입된 Bt 독소 CryIA(b)의 경우에는 잎이나 줄기에서 주로 발현되며 옥수수 날알에서는 유전자가 발현되지 않아 Bt 독소 단백질이 생산되지 않는다.

12) PCR법은 미국의 생물학자인 Kary B. Mullis박사에 의해 최초 고안되어 1993년에는 PCR 방법 개발로 노벨 화학상을 수상한 바 있는데 PCR 방법으로 DNA 증폭이 가능하게 된 것은 미국 Yellowstone의 온천에서 서식하는 고온성 박테리아 *Thermus aquaticus*의 발견에 기인한다.

이 머”¹³⁾를 사용하여 도입유전자 절편을 증폭시키는 기술로 원료 농산물은 물론 가공품에서도 GMO 혼입여부 검정이 가능하며 0.01%까지 검정할 수 있다.

GM식품검정에 PCR 방법을 적용할 때 기술적으로 문제가 되는 것은 도입유전자에 대한 정확한 유전자 염기서열 정보가 확보되지 않으면 GMO 검정에 필수적인 프라이머 제작이 불가능하다는 점인데 현실적으로는 이러한 유전자 정보는 개발회사가 가지고 있으며 이들 회사의 자발적인 협조 없이는 확보가 불가능하다. 더욱이 도입된 유전자 염기서열이 변형된 경우는 동일 프라이머로 검정이 불가능하다는 것이 단점이다. PCR 방법은 숙련된 기술이 요구되며 실험의 민감성으로 의사양성(false positive) 또는 의사음성(false negative) 반응이 생기는 문제가 있다.

PCR 검정용 프라이머 합성에 이용되는 DNA 정보는 vector DNA, marker 유전자, promoter, 구조유전자(structural gene), terminator 등이 있는데 vector는 유전자의 식물체로의 전이에 필요한 원형 DNA로 아그로박테리아의 T-Vector 등이 있으며 marker 유전자에는 유전자의 도입 확인을 위해 vector에 삽입한 선발표지유전자 Bar, NPTII 유전자 등이 있다. Promoter는 물질생산 유전자를 조절하는 유전자 발현 부위로 가장 많이 이용되고 있는 것이 컬리플라워 모자이크 바이러스에서 유래된 35S 프로모터이다. Bt 유전자, Bar 유전자 등은 직접 물질을 생산하는 구조유전자이며 terminator는 물질생산 유전자의 발현을 안정화하는데 사용되는 보조 DNA 조각이며 Nos 터미네이터가 이에 속한다. GMO 포함 여부를 검정하는 1차 스크린 방법으로 널리 이용되는 것이 35S 프로모터 부위와 Nos 터미네이터 부위를 이용한 프라이머를 사용하여 PCR 검정을 하는 것인데 자연상태에서도 이러한 유전자가 존재하기 때문에 GMO가 아닌 경우도 양성

13) 프라이머란 어느 특정 DNA 부위를 증폭시키기 위해 이용되는 DNA 절편으로 목표부위 DNA와 상보적 염기서열을 가지고 있으며 크기는 약 20base pair 정도이며 새로운 DNA를 합성을 처음 유도시키는 시발체이다.

반응이 나타나는 경우가 종종 있으므로 이러한 경우는 양성반응이 나오더라도 GMO 산물 특이 유전자를 이용한 프라이머를 사용하여 PCR 검정을 하여 GMO 포함 진위 여부를 재차 확인하는 것이 매우 중요하다.

현재 상용화되어 있는 GM작물의 유전자정보를 보면 프로모터로 P-35S, P-Lsu 등 약 6종이 이용되고 있으며 구조유전자는 Bar, Cry 유전자 등 10여종이며, 터미네이터는 NOS, OCS 등 약 8종으로 그 종류가 다양하여 새로운 GMO가 상품화되어 유통될 때마다 이들에 대한 유전자정보 및 표준시료(Pure GMO) 확보가 무엇보다 중요하다.

3. PCR 검정방법에 영향을 미치는 요소

PCR 검정방법은 우선 숙련기술이 필요하므로 동일한 재료로 검정하는 경우에도 실험실에 따라 다른 결과가 나올 수 있는 점이 문제점으로 지적되고 있다. 이러한 PCR 방법 이용시 그 결과에 대해 영향을 미칠 수 있는 요소로 시료의 종류 즉, 곡물 등 원료 농산물이냐 1차 또는 2차 가공 산물이냐에 따라 영향을 줄 수 있다. 원형 또는 분쇄된 곡물, 가루 등에서는 비교적 원형의 DNA를 유지하지만 두부, 된장, 간장, 시럽 등의 가공산물에서는 DNA 크기가 점차 작아진다. 그리고 복합식품이나 혼합식품에 여러 종류의 GM식품을 소량으로 포함되어 있는 경우에는 이러한 DNA 검정이 더욱 어려워진다. 다음으로 시료의 크기 또는 시료를 채취하는 방법 등이 PCR 검정결과에 큰 영향을 미친다. Sampling에 의한 오차발생이 실험오차보다 크게 나타나므로 대표성을 갖는 시료확보가 무엇보다 중요하다.

Sampling 방법은 처음에 여러 곳에서 적은 시료를 여러 번 채취할 수도 있고 처음에 많은 시료를 한 후 이를 나누어 검정할 수도 있는데 영국 농림식품부 산하의 Central Science Laboratory(CSL)의 GMO 검정절차를 보면 식품의 경우 60g이 필요한데, 이 중 절반인 30g을 두 번으로 나누어 검정하고 나머지 30g은 필요시 재검사에 이용한다. 곡류의 경우 GMO 검정

을 하기 위해서는 10,000알 즉 약 2.5~3kg을 확보하도록 되어 있다. 이밖에 시료의 DNA 추출방법 및 DNA의 순도에 따라서 PCR 검정결과에 영향을 미칠 수 있지만 이러한 것은 실험기법의 향상과 함께 기술적으로 해결될 수 있다. 그리고 가장 크게 영향을 주는 요소로는 가공과정에서의 고온고압, 강산성, 강알칼리처리, 화학약품처리, 기계적 파괴 등 처리된 시간 및 농도 등에 따라 식품에 존재하는 DNA의 크기가 달라지기 때문이다. 신선한 육류의 경우 DNA 크기가 30,000bp를 유지하는 반면 약 23일 경과했을 때에는 DNA 크기가 16,000bp로 줄어들었으며 100°C에서 10분 처리시 DNA 크기는 1,100bp로, 120°C에서 30분 처리했을 때는 DNA 크기가 300bp로 줄어드는 것으로 조사되었다. 밀가루에서는 DNA가 비교적 원형 상태의 크기를 유지하지만 빵으로 제조했을 때는 DNA 크기가 300bp로 줄어들었으며 콩 가공품 등에서는 DNA 크기가 100~400bp로 작아졌다. 토마토가공품이나 옥수수 통조림 등에서도 DNA 크기가 300~400bp로 작아지는 것으로 조사되어 원료식품이 가공과정에서 어떠한 조건의 처리를 받느냐에 따라 DNA 존재 여부가 결정된다고 할 수 있다.

그러나 기술적으로는 PCR 검정에 필요한 DNA 크기는 400bp는 유지되어야 한다. 한편 바이러스 저항성 사탕무는 유전자변형 기술로 만들어졌더라도 이것에서 생산 추출한 설탕에서는 DNA 검출이 되지 않으며 고도정제유, 재조합 키모신을 이용하여 만든 치즈 등에서도 역시 DNA가 검출되지 않으므로 이러한 유전자 변형식품에서의 표시문제는 어떻게 하여야 하는가가 과제로 남는다.

IV. EU 회원국의 GMO Ring Test 결과

1997년 유럽의 Joint Research Center(JRC)가 주축이 되어 유전자변형 작물 제초제 저항성 콩 Roundup Ready Soybean(몬산토)과 해충저항성 옥수수 Maximizer(노바티스사)를 대상으로 GMO 검정용 PCR 스크린방법을

이용하여 14개 회원국 41개 실험실이(미국과 스위스는 회원국은 아니지만 협동 실험에 참가함) 공동으로 참여하여 GMO 검정시험을 실시하였다.¹⁴⁾ 14개 회원국 중 13국 29개 실험실의 결과가 접수되었으며 이 가운데 26개 실험실 결과를 종합하였는데 이번의 협동실험에 참여한 실험실은 정부연구기관 17개소, 사설시험소 7개소, 그리고 대학 2개소 등이었다. 협동실험에 공시한 제초제 저항성 콩과 해충저항성 옥수수의 가루는 각각 벨기에 IRMM(Institute for Reference Materials and Measurements)이 제공한 표준 시료로 GMO가 각각 0, 0.1, 0.5, 2% 들어있는 것을 농도 표시없이 실험자에게 배부하였으며 PCR 스크린에 이용된 35S 프로모터와 Nos 터미네이터 프라이머 염기서열은 JRC에서 고안한 것을 이용도록 하여 DNA 추출 및 분리방법, DNA 전기영동 및 증폭방법 등의 표준과정을 각 실험실에 시료와 함께 나누어주어 실험에 참고하도록 하였다.

1. 35S 프로모터를 이용한 콩시료 분석결과

제초제 저항성 콩의 분말을 농도별로 공시한 후 35S 프로모터부위 프라이머를 이용하여 PCR 스크린을 해본 결과 표 1에서와 같이 GMO가 들어있지 않은 경우에도 총 96건의 실험 결과 중에서 2건의 양성 반응이 나와 specificity가 97.9%를 나타냈으며, GMO가 0.1% 포함된 경우에는 총 98건 중 93건이 양성반응 결과를 보여주어 sensitivity가 94.9%를 나타낸 반면 GMO가 각각 0.5%와 2.0% 포함되었을 때는 모두 100%의 sensitivity를 보이는 정확도를 나타내어 결국 35S를 이용한 콩의 PCR 스크린에서는 0.5% 까지 검정 가능한 것으로 보인다.

14) M. Lipp & E. Anklam, "Results of an Interlaboratory Assessment of Screening Method of Genetically Modified Organism in Soy Beans and Maize," Food Control 10(1999) 379-383, 1998년 6월 International Life Sciences Institute 주관으로 벨기에에서 주최한 "Detection methods for novel foods derived from genetically modified organism"에서 발표한 내용임.

표 - 1 35S promotor를 이용한 콩 시료의 PCR 분석 결과

GMO 포함(%)	음성반응	양성반응	Specificity(%)	Sensitivity(%)
0	94	2	97.9	-
0.1	5	93	-	94.9
0.5	0	105	-	100
2	0	101	-	100
계	99	301	97.9	98.4

* Specificity : GMO 음성반응을 정확히 검정함.

* Sensitivity : GMO 양성반응을 정확히 검정함.

2. NOS 터미네이터를 이용한 콩시료 PCR 분석 결과

동일한 콩 분말을 재료로 하여 NOS 터미네이터 부위 프라이머를 이용하여 GMO 혼입 여부를 검정한 결과 표-2에서와 같이 GMO가 전혀 포함되지 않았을 때는 모두 음성반응 결과가 나온 반면 GMO 농도가 0.1%와 0.5%의 경우는 sensitivity가 각각 92.8%와 97.1%를 나타내었다. 그러나 GMO가 2% 포함된 경우에 NOS 터미네이터로 100% 스크린이 가능한 것으로 나타났다.

3. 35S 프로모터를 이용한 옥수수 시료의 PCR 분석

해충저항성 옥수수 분말을 공시재료로 하고, 35S 프로모터부위 프라이머를 이용하여 PCR 스크린을 해본 결과 표 3에서와 같이 GMO가 들어있지 않은 경우에 총 89건 중 1건이 양성반응을 보여 98.9%의 specificity를 나타냈으며, GMO가 각각 0.1%와 0.5% 포함된 경우에는 각각 84.1%와 96.5% sensitivity를 나타낸 반면 GMO가 2% 포함된 경우에는 총 89개 실험결과가 모두 양성반응을 보여 100%의 sensitivity를 나타내었다.

표 - 2 NOS 터미네이터■ 이용한 콩시료의 PCR 분석

GMO 포함(%)	음성반응	양성반응	Specificity(%)	Sensitivity(%)
0	96	0	100	-
0.1	7	91	-	92.8
0.5	3	102	-	97.1
2	0	101	-	100
계	106	294	100	96.7

표 - 3 3SS 프로모터■ 이용한 옥수수 시료의 PCR 분석

GMO 포함(%)	음성반응	양성반응	Specificity(%)	Sensitivity(%)
0	88	1	98.9	-
0.1	14	74	-	84.1
0.5	3	83	-	96.5
2	0	89	-	100
계	105	247	98.9	93.5

*의사 양성 반응결과는 실험 기기의 우발적 오염에 기인한 것으로 추정됨.

V. GM 식품의 정량분석법

식품에 포함된 GMO를 분석하는데 가장 중요한 것이 GMO를 어떻게 정량할 것인가이다. 현재 유럽연합(European Union)에서는 식품에서의 GMO 포함 최대한계치, 즉 “threshold”¹⁵⁾ 수준을 1%로 정하였기 때문에 표시제가 제대로 지켜지기 위해서는 무엇보다도 단순히 GMO 포함유무를 검정하는 단계를 지나서 얼마나큼의 GMO가 포함되어 있는가 하는 정량분석이 필수 요건이 된다. GMO의 정량법과 관련해서는 스위스 Berne 대학교의 P. Hubner 연구팀에서 가장 활발히 연구되고 있는데 이들이 연구

15) 'Threshold'는 품질관리(quality control) 또는 Non-GMO가 필요할 때 최대허용한계(Maximum limits of GMOs in food) 설정을 위하여 필요하며 의무표시제 시행에 따른 법적 구속력을 집행하는데도 필요하다. 그러나 이러한 threshold 정의에 대해서는 학자들 사이에서도 의견이 약간 달라서 Non-GMO 중에 GMO가 얼마나 들어 있나를 무게개념으로 보는 경우와 Total DNA 중에 포함된 GMO DNA 비율로 환산하는 "Genomic Equivalence" 개념으로 보는 경우가 있는데 참고로 식품규격위원회 Codex에서는 Durum 밀 중 Soft 밀이 우발적으로 혼입될 수 있는 허용 한계치를 2%로 규정하고 있다.

중인 “Quantitative Competitive(QC)–PCR 분석법”¹⁶⁾은 “internal 또는 external DNA standard”를 사용하여 목표 DNA의 상대적 양을 결정하는 방법이다. QC–PCR의 원리는 standard DNA와 양을 측정하고자 하는 GMO DNA를 함께 PCR로 증폭한 후 이들 PCR 산물을 전기영동하고 각각의 DNA 밴드의 강도(intensity)를 비교하여 standard DNA와 GMO DNA 밴드가 같은 강도를 나타내는 평형점을 찾아 농도를 결정하게 되는데 QC–PCR의 검정범위는 0.5~2%이며 threshold 확인에 효과적이라고 할 수 있다.

또 다른 GMO 정량분석법으로 최근 연구되고 있는 것이 “TaqMan(상표명)”¹⁷⁾을 이용하는 real-time quantitative PCR 법이 있는데 이 방법은 PCR 증폭과정의 kinetics를 측정하는 원리를 이용한 것으로 형광발색제 reporter와 quencher로 이루어진 프로브(probe)를 이용하여 실시간 별로 목표 DNA가 새롭게 합성되면서 quencher로부터 reporter가 떨어져 나오면 바로 형광을 발하여 실시간별로 반응정도를 확인할 수 있는데 이때 이미 알고 있는 DNA 샘플의 표준곡선과 비교하여 포함되어 있는 DNA 량을 측정하는 것이다. Real-time quantitative PCR의 장점은 PCR 산물을 전기영동할 필요가 없고 실시간 별로 바로 눈으로 확인할 수 있다는 점이다. Real-time PCR법에 이용되는 실험 기기는 “TaqMan” 외에도 Roche사의 “lightCycler System” BioRad사의 “iCycler Thermal Cycler” 등의 기기가 개발되어 있는데 이들 기기는 본래 GMO 정량을 위해서 개발된 것이 아니고 특정 유전자 또는 특정 DNA 부위의 량을 측정하기 위해 고안된 기기이며 기기의 작용 원리는 거의 비슷하다. 아직까지 이러한 기기를 이용한 GMO 정량기술을 확립하기 위해서는 최적반응조건 구명, 관련 프로브 개발, 도입된 유전자 정보 확보 등 해결해야 할 과제가 많다. 현재 전세계적

16) Philipp Hubner, "Quantitative Competitive PCR for the Detection of Genetically Modified Organism in Food," *Food Control* 10(1999) 353~358.

17) 미국 Perkin Elmer사가 개발한 ABI PRISM 7700 Sequence Detection System.

으로 유전자 재조합 식품의 검정방법을 연구중이거나 개발하고 있는 정부 기관 및 연구소 현황은 표 4와 같다.

표 - 4 국별 GMO 검정기술 연구기관현황(정부 또는 사설기관포함)

국가명	연구기관명
네덜란드	TNO, Nutritional and Food Research Institute State Institute for Quality Control of Agricultural Products(RIKILT-DLO)
독일	Federal Institute for Health Protection of consumers and Veterinary Medicine(BgVV) Gene-Scan
이태리	EC Joint Research Centre
벨기에	Institute for Reference Materials and Measurements, Joint Research Centre
영국	Central Science Laboratory, MAFF Institute of Food Research, MAFF
스위스	University of Berne Nestle Research Center Kantonales Laboratorium Basel-Stadt
프랑스	DANONE Group Tepral, Beverage Division Research Center
미국	Genetic ID Strategic Diagnostics
일본	농림수산성 식품 종합 연구소 후생성 국립의약품식품위생연구소 소비기술센터, 곡류검정협회, 다카라·미츠비시사

VI. 공인검사방법

현재까지 EU등 여러 나라에서,¹⁸⁾ GMO 표시제가 법으로 규정되어 있음

18) 유전자 재조합 식품의 표시제와 관련하여 유럽연합국에서는 GMO 개발회사가 이를 극물을 수출 할 때 도입된 유전자 염기서열(Gene sequences)정보, 표준시료, 단백질 검정용 항체 및 항원 등 관련자료를 반드시 제공해줄 것을 요구하고자 준비중에 있으며(EU Council Directive 90/220 개정안), 이들 법을 실제 집행하는데 필요한 경계치(threshold)에 대해서는 EU는 99년 10월 식품 상임 위원(EC's Standing Committee for Foods)에서 식품 중의 GM DNA 또는 단백질의 허용 경계치(threshold)를 1%로 합의하고 있으나 실제 적용상 공식검정기술은 없는 상황이다. 스위스는 EU 회

에도 불구하고 아직도 국제적으로 인정하는 검정방법(internationally validated method)은 없는 상태이나, 독일과 스위스에서는 PCR을 이용한 검정방법을 자체 식품관련법에 명시하여 공식화하고 있다. 독일의 경우 German Federal Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine(BfGVV) 실무그룹이 개발한 유전자 전환 감자, 발효 소시지용 재조합 미생물, 요쿠르트 검정기술 등 3가지 검정 방법이 독일 내에서는 유전자 전환식품의 GMO를 검정하는 공식적 검정 방법으로 알려져 있다.¹⁹⁾ 이러한 검정기술은 1997년 독일의 식품법(German Food and Commodities Act) 제35조에 공식방법들 중의 하나로 명시되어 있다. 이 법에는 대학연구소, 사설 연구소, 정부의 식품감독기관에서 협동으로 생산한 검정시험 결과도 포함시키도록 되어 있다. 현재 스위스 공식 검정법은 GMO PCR 스크린으로 35S 프로모터와 Nos 터미네이터를 이용하여 1차 스크린 하여 음성으로 나타났을 때는 단백질법이나 다른 방법으로 재검정을 하며 양성반응이 나타났을 경우 도입유전자 특이 프라이머를 이용하여 2차 검정을 하게 되며 이때 threshold 수준 1% 이상인가 또는 이하인가를 측정하여 표시를 하도록 규정하고 있다.²⁰⁾ GMO 검정방법과 관련하여 최근 과학자들은 스위스나 독일이 적용하고 있는 공식 검정방법은 하루가 다르게 발전하는 과학기술의 진보와 비교해보면 낙후된 방법이므로 새로운 방법의 개발이 필요하다고 주장하고 있으며, 최근 일본에서 개최된 생명과학식품에 관한 제1차 Codex 특별작업반 회의에서는 이러한 GMO 검정방

원국은 아니지만 EU의 표시제 지령에 기초하여 스위스는 99.7.1부터 GMO 함유 1% 이상의 식품에 대해 의무적으로 표시토록 결정한 바 있으며, 영국에서는 표시제 시행과 관련하여 농수산식품부(MAFF) 산하 중앙과학실험실(Central Science Laboratory)이 GMO 검정 공인기관(UK Accreditation Service)으로 지정되어 GMO 정성 및 정량분석을 실시하고 있다(99.12). EU 협동연구소(Joint Research Center) 중 하나인 과학표준연구소(Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM)에서는 유전자변형 콩 및 옥수수의 표준시료를 생산하고 있다.

19) W. Hammer, Foods Derived from Genetically Modified Organism and Detection Methods, BATS Report 2/1997(Basel, Switzerland) ISSN 1420-228X.

20) John Hodgson, "EC Says 1% Is Acceptable GMO Contamination," Nature Biotechnology Vol. 17, 1155-1156, 1999.

법에 대하여 국제적으로 공감대를 형성할 수 있는 GMO 분석방법을 개발하여 각국이 적용하자는 의견도 제기되고 있다.

VII. 결론

유전자 재조합식품의 정확한 표시는 상품에 대한 선택의 자유를 가진 소비자에 대한 정보서비스 차원에서 매우 중요하다. 그러나 GM식품 표시제 시행을 앞두고 반드시 선행되어야 할 것이 바로 GMO 검정 체계를 확립하는 것이다. GMO 정성적 검사방법에 가장 많이 이용되는 것이 PCR을 이용한 스크린 방법이며, 최근에는 유전자 변형 작물의 단백질에 반응하는 항체를 이용하여 GMO 포함 여부를 검정할 수 있는 간이검사기구가 개발되어 시판중인데, 이러한 단백질 검정법 간이검사 기구는 현재 제초제 저항성 콩과 Bt 단백질이 도입된 옥수수의 GMO 포함 여부를 검정하는 스크린 목적으로 매우 유용하게 사용될 수 있으며 곡물 저장고나 시험포장 등 현장에서 매우 짧은 시간내에 스크린 할 수 있는 장점이 있다.

GMO의 검사와 관련해서 DNA를 이용한 방법이든지 단백질을 이용한 방법이든지 중요한 것이 국제적으로 수용될 수 있는 과학적이고 통계적 방법에 근거한 조화된 샘플링방법 개발이다. 그리고 GMO 검사의 원활한 수행을 위해서는 표준시료 확보가 매우 중요하다. 여기에는 새롭게 개발되어 상용화되고 있는 모든 유전자 변형작물에 대한 도입된 유전자 염기서열정보, 항체 등이 포함되는데 이러한 유전자 정보 및 표준시료 확보는 개발자의 자발적 협조없이는 매우 불가능한 일이어서 이러한 유전자 정보를 확보 할 수 있는 데이터 베이스 구축과 정보공유체계확립 등이 필요하다. 현재 가장 시급한 것이 GMO 정량 검사법 개발인데 현재 유럽 여러나라에서 GMO 정량법 개발 연구가 활발히 진행되고 있으나 아직은 실험실 연구단계 수준이어서 실제 현장에 적용하기까지는 시간이 걸릴 것으로 예상되고 있다. 우리나라도 농림부의 유전자변형 농산물의 표시제와 식품의약품안

전청의 유전자 재조합 식품 표시제의 시행을 앞두고 GMO 정성분석은 물론 정량분석 방법 개발이 시급하다. 이를 위해 국내 관련 연구기관간의 공동연구추진 및 정보공유 등의 협력체계 유지와 나아가서 GMO의 검사방법 개발을 위한 선진국 시험연구기관과의 협동체제를 유지하며 정보교환 등을 통해 우리 기술을 다져 나가는 것도 매우 중요하다.

유전자 재조합 식품의 표시 본래의 목적은 소비자의 알권리를 충족시키자는 데 있으나 이를 마치 식품으로서 안전하지 않기 때문에 표시를 하여 구분하자는 것으로 잘못 이해하고 있는 경우도 있다. 이렇게 이들 GM 농산물의 잠재적 위해성을 우려하는 시각도 있지만 현재까지 이들 GM 농산물의 위해성을 밝힌 연구결과는 대부분 재현성이 입증되지 않은 일부 결과에 불과하며, 과학적인 개연성으로 보아 이들 GM 농산물은 안전하다는 것이 과학자들의 일반적인 견해이다. 더욱이 현재 선진국에 의해 개발되어 상용화되고 있는 유전자 재조합 식품은 이미 안전성 평가와 관련 감독기관의 철저한 안전성 확인 심사를 거쳐 안전성이 확인이 된 것들이다. 따라서 유전자 재조합 식품의 안전성을 최우선으로 하며 이들 농산물이 지난 여러 가지 장점을 살리고 활용할 수 있는 기반을 조성할 수 있도록 정부나 국민 모두 균형된 시각을 가지는 것이 무엇보다 중요하다.