pISSN 1229-1153 *J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 28, No. 2, pp. 124~129 (2013)
http://dx.doi.org/10.13103/JFHS.2013.28.2.124

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

PCR을 이용한 식품 중 알레르기 유발물질 검출법 개발

박용춘* · 김미라 · 신준호 · 김규헌 · 이재황 · 조태용 · 이화정 · 이상재 · 한상배
식품의약품안전청 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 식품감시과학팀

Development of PCR Method for Rapid Detection of Allergic Materials in Foods

Yong-Chjun Park*, Mi-Ra Kim, Jun-Ho Shin, Kyu-Heon Kim, Jae-Hwang Lee, Tae-Yong Cho, Hwa-Jung Lee, Sang-Jae Lee, and Sang-Bae Han
Scientific Food Investigation Team, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food & Drug Safety Evaluation, Food & Drug Administration, 187 Osongsaengmyeong2-ro, Osong-eup, Cheongwon-gun, Chungcheongbuk-do 363-700, Korea
(Received November 27, 2012/Revised February 20, 2013/Accepted March 12, 2013)

ABSTRACT - The method for detection foods containing allergenic materials by PCR was developed in this study. To detect allergenic raw material from processed food, species specific primer which up to 200bp for PCR product were designed or selected from advanced research. As target materials, 14 items were selected (12 target materials for allergen in Korea, 2 target materials for allergen in foreign countries). The amplicon size for eggs, milk, buckwheat, peanuts, beans, wheat, mackerel, crab, shrimp, pork, peach, tomato, almond, and sesame were confirmed 281, 131, 138, 120, 118, 127, 211, 174, 231, 138, 174, 132, 103, and 220bp, respectively. And any non-specific bands were not detected among each others. Detection method for allergenic material developed in this study could be used to investigate inaccurate goods for allergen labeling or non-intentional contaminant during processed foods manufacturing. In addition, the system will be usefully to detection accurate allergenic raw materials of export for other countries.

Key words: Allergen, PCR (Polymerase Chain Reaction), Species-specific primer

서 론

식품 중 알레르기 유발물질은 소화관을 통해 발생하는 면역 과민반응으로 성인의 3~5% 정도가 식품 알레르기를 가지고 있는 것으로 알려져 있으며 그 빈도는 나이가 어릴수록 높으며 영 · 유아에게는 6~8%까지 나타난다고 보고되어있다[1,2]. 최근에는 환경오염 및 스트레스로 인한 면역상태의 불안정과 식생활의 변화 등으로 면역계의 과민성이 나타나 이러한 알레르기 환자가 급증하고 있는 것으로 나타나고 있다[3]. 한국소비자원 소비자위해감시시스템(CISS)에 2010년~2011년 접수된 식품관련 위해건수 14,031건 중 식품알레르기 부작용 사례는 1,354건(약 9.7%)에 달하는데 연도별로는 2010년 618건, 2011년 736건으로 매년 증가하는 추세인 것으로 나타났다[4]. 국내의 식품 등의 표시기준(식품의약품안전청 고시 제2011-67호)에 의하면 「난류(가금류에 한한다), 우유, 메밀, 땅콩, 대두, 밀, 고등어, 게, 새우, 돼지고기, 복숭아, 토마토, 아황산염을 함유하거나 이들 식품으로부터 추출 등의 방법으로 얻은 성분과 이들 식품 및 성분을 함유한 식품 또는 식품첨가물을 원료로 사용하였을 경우에는 함유된 양과 관계없이 원재료명을 표시하여야 한다.」고 규정하고 있다[5].

가공식품에는 다양한 원재료가 사용되므로 알레르기 환자나 보호자에게는 알레르기 유발물질이 없는 식품을 선택하여 섭취하는 것이 매우 중요한 일이다. 따라서 가공식품에 알레르기 유발 원재료의 함유여부를 확인할 수 있는 검출법의 개발이 필요하다. 일반적으로 대부분 알려진 알레르기 물질은 10~70 kDa을 가진 수용성 단백질로 ELISA법을 통한 검사방법이 주로 사용되고 있다. 현재 개발되어 있는 ELISA법으로는 대상 식품에 함유되어 있는 일반 단백질 또는 특정 단백질에 대한 항체를 이용하는 방법이

*Correspondence to: Yong-Chjun Park, Scientific Food Investigation Team, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food & Drug Safety Evaluation, Food & Drug Administration, 187 Osongsaengmyeong2-ro, Osong-eup, Cheongwon-gun, Chungcheongbuk-do 363-700, Korea
Tel: 82-43-719-4454, Fax: 82-43-719-4450
E-mail: yongchjun@korea.kr

있다. 일반 단백질에 결합되는 항체를 이용할 시에는 대상으로 하고 있는 식품 이외의 식품원료로부터 유래한 단백질과의 결합으로 위양성 결과를 불러올 확률이 높아진다[6]. 후자의 방법은 항체의 종류에 따라 선택성, 교차반응성, 검출 한계, 식품에서의 적용성 등이 변화 한다는 특징이 있다. 즉, 특정 단백질에 친화성이 높은 항체를 이용하면 특이성은 향상되지만, 식품의 가공처리 등에 의해 목표 단백질이 변성되면 검지할 수 없게 될 가능성이 있다.

최근에는 이러한 ELISA법보다 특이성이 높으며 검출감도가 뛰어난 PCR 방법을 이용하여 알레르기 유발 식품의 DNA를 검출하는 방법들이 시도되고 있다[7]. 식품원료의 종판별을 위한 유전자 분석법에는 두 가지 방법이 있다. 그 중 일반 프라이머(universal primer)를 이용하는 방법은 증폭산물의 크기가 약 650bp 정도로 가공식품에 적용하기에는 한계가 있다[8,9]. 그러나 종 특이 프라이머(species specific primer)를 이용하는 방법은 증폭산물의 크기가 200bp 정도 내외로 제작되어 가공식품에 적용이 가능하다[10]. 일부 분자생물학적 검출 kit를 판매하는 회사들은 PCR 방법을 통한 알레르기 유발 원재료 시험법이 개발되어 시판되고 있지만 증폭산물의 크기가 가공식품에 적용하기에는 한계가 있다. 또한 각 원료를 확인하는데 국내에서 지정한 알레르기 성분에 대한 검사만이 가능하며 제외국의 알레르기 성분인 아몬드, 참깨 등에 대한 PCR 검출법은 연구가 미흡한 상태이다.

현재 외국의 식품 중 알레르기 유발 원재료 및 성분은 국가에 따라 조금씩 차이가 있으며 국내제품을 외국으로 수출할 경우 반드시 수출하려는 국가에서 규정하는 알레르기 유발물질 표기사항을 준수해야 한다. 최근 알레르기 유발물질을 명확히 표기하지 않은 김치, 젓갈 및 기타 가공식품이 캐나다 식품청에 의해 회수조치 된 예가 있으며, 아몬드의 함유여부를 기재하지 않은 과자류가 캐나다와 홍콩에서 알레르기 유발 원료에 관한 식품 표시규정 위반으로 회수되기도 하였다[11]. 이렇듯 알레르기 유발 원료에 대한 표기사항이 잘못 되었을 경우 각 국가의 식품관련기관에 의해 회수조치 되거나 수입금지 등 법적 제제를 받을 수 있다. 이러한 상황은 기업의 신용도 하락과 관계되며 나아가 국가적 차원의 손해일 수 있다.

따라서 본 연구에서는 식품의 부정확한 표시나 식품의 제조과정 중 알레르기 유발물질의 비의도적 혼입으로 인한 소비자를 보호하고 제조업체의 입장에서는 국내 및 제외국 알레르기 유발성분의 비의도적 혼입으로 인한 수출시의 피해 최소화와 제품에 함유된 알레르기 유발물질들을 모니터링 할 수 있는 분석방법을 개발 하고자 하였다. 또한, 특이적이고 효율적인 분석방법인 PCR을 통해 종 특이 프라이머를 이용한 국내 및 제외국의 알레르기 유발 원재료 14종에 대한 검출법을 확립하였으며, 향후 수출 제품의 원재료명 표기에 있어서 정확한 알레르기 유발 원재료 표기에 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

재료 및 방법

재료선정

국내 및 제외국에서 규정한 알레르기 유발 원재료에 대하여 조사한 후 국내 알레르기 표시대상 성분으로 지정된 게, 새우, 고등어, 난류, 땅콩, 대두, 우유, 밀, 메밀, 돼지고기, 복숭아, 토마토와 최근 가공식품 중 표시규정 위반으로 문제가 된 알레르기 원재료인 아몬드, 과자류의 원재료로 많이 사용되는 참깨를 추가적으로 총 14종을 선정하였다.

시약 및 검체 구입

유전자증폭(Polymerase Chain Reaction, PCR)을 위한 프라이머 및 *Taq* DNA polymerase는 바이오니아(Bioneer, Korea)에 의뢰하여 합성 또는 구매하였으며, PCR 장비는 GeneAmp^{TM} PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA)을 사용하였다. 동물성 알레르기 유발 원재료에서 유전자를 분리하기 위한 DNeasy Blood & Tissue Kit와 식물성 알레르기 유발 원재료에서 유전자를 분리하기 위한 DNeasy plant mini kit는 Qiagen (Qiagen GmbH, Hilden, Germany)으로부터 구매하였으며, 검체로 사용된 알레르기 유발 원재료 및 가공식품은 대형마트로 부터 구매하여 사용하였다.

유전자 추출

DNeasy Blood & Tissue Kit 및 DNeasy Plant mini kit Qiagen (Qiagen GmbH, Hilden, Germany)를 사용하여 유전자를 추출하였다. 추출방법은 제조사에서 제공하는 방법에 의거하여 추출하였으며, 최종 용출단계에서는 AE 완충용액 대신 멸균증류수를 사용하였다.

Polymerase Chain Reaction (PCR) 반응액 및 반응조건

시료에서 추출한 전체 DNA를 이용하여 PCR 반응을 수행하였다. PCR을 위한 반응액의 조성은 주형 DNA 50~100 ng, dNTPs 200 μM, $MgCl_2$ 2.0 mM, 프라이머 각 1 μM이 되게 혼합하였으며 최종 용량은 20 μL로 하였다. 본 연구에 사용된 종 특이 프라이머는 국내 알레르기 유발 원재료 및 참깨, 아몬드를 포함한 총 14쌍으로 동물성 원재료와 식물성 원재료로 나누어 Table 1, 2에 나타내었고 검출을 위한 최적의 반응조건은 Table 3, 4에 나타내었다.

결과확인

최종산물의 확인은 반응액 3 μl를 취하여 아가로즈 젤로 100 V, 30분간 전기영동하고 PCR 산물의 크기의 확인은 100 bp DNA ladder를 사용하였다. 전기영동이 끝난 것은 EtBr로 염색(1 μg/ml)한 후 UV투영기를 이용하여 결과를 확인하였다.

Table 1. Information of species-specific primer for detection of the animal food material used in this study

Item	Name	Primer Sequence(5' → 3')	Amplicons size(bp)	Ref.
Pork (*Sus scrofa*)	SFI11-Pig-F	CAACCTTGACTAGAGAGTAAAACC	138	20
	SFI11-Pig-R	GGTATTGGGCTAGGAGTTTGTT		
Mackerel (*Scomber japonicus* & *Scomber colias* & *Scomber australasicus*)	SFI12-Masaba-F	CTGCTCCTGTCTTCTTCGGCA	211	This study
	SFI12-Masaba-R	TTTGGTATTGGGACACACCTG		
Crab (*Portunus trituberculatus*)	SFI12-Crab-F	TTACAATGTTGTAGTCACAGCTCAT	174	This study
	SFI12-Crab-R	AGAGTTAATGAAGGAGGAAGAAGTC		
Shrimp (*Marsupenaeus japonicus* & *Penaeus monodo*)	SFI12-Shrimp-F	CACATTATTGGATCCTAAGTCCA	231	This study
	SFI12-Shrimp-R	GGTATCCTTATAATGCAGCAGTT		
Milk (*Bos taurus*)	SFI11-Cow-F	TATCTTGAACTAGACCTAGCCCAATG	131	20
	SFI11-Cow-R	GGTACTTTCTCTATAGCGCCGTAC		
Eggs (*Gallus gallus*)	SFI11-Chi-F	CCTAAAGACACCCACCTTTGT	281	20
	SFI11-Chi-R	CCGTAGGAGGATAGGTTCCAGA		

Table 2. Information of species-specific primer for detection of the plant food material used in this study

Items	Name	Primer Sequence(5' → 3')	Amplicons size(bp)	Ref.
Peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]	UDP96-015-F	CCTTGACCTATTTGTTCGTCA	174	21
	UDP96-015-R	ACTAGTCAAACAATCCCCCG		
Tomato (*Lycopersicon esculentum*)	TGS1543-F	GAGGTGGTTGGTAAGTGGTGG	132	22
	TGS1543-R	TTCAAGTTTCAAGGCTGGCT		
Wheat (*Triticum aestivum*)	SFI11-Whe-F	GGTTCCGAGTTCTGCGGCG	127	23
	SFI11-Whe-R	TGCCACAGGATCCCCACTTGC		
Buck wheat (*Fagopyrum esculentum*)	SFI11-Buc-F	GAGCCCTCTCGTAGAGTCCG	138	23
	SFI11-Buc-R	GGAGTAGGAAGGAAGCAAGAG		
Beans (*Glycine max* MERR.)	Le1n02-3	GCCCTCTACTCCACCCCCA	118	24
	Le1n02-5	GCCCATCTGCAAGCCTTTTT		
Peanut (*Arachis hypogaea* L.)	PM53-F	CCTATCCTATGGGTCACTAGCC	120	25
	PM53-R	GCTTGTGCTCATCTTGAGTTTT		
Almond [*Prunus dulcis* (Miel) Wedd.]	SFI12-almond-F	AAAGAAACCACTAAAGCAGCTATG	103	This study
	SFI12-almond-R	CATAGAGGGTGTGCACATGG		
Sesame (*Sesamum indicum* L.)	ZM-25-F	CCTGAACCTTCTCTCTCTCTC	220	26
	ZM-25-R	ACTGACAGTACGAATTCACCA		

결 과

알레르기 유발 원재료 중 동물성 원료 확인

가공식품에서 동물성 알레르기 유발 원재료 확인을 위한 PCR 방법을 확립하기 위하여 돼지고기, 고등어, 게, 새우, 우유 및 난류 등 총 6종에 대하여 PCR 조건을 검토하였다. 각각의 종특이 프라이머를 사용하여 Table 3의 조건으로 PCR을 수행한 결과 돼지고기 특이 프라이머(SFI11-Pig-F/SFI11-Pig-R)를 사용할 경우 138bp, 고등어 특이 프라이머(SFI12-Masaba-F/SFI12-Masaba-R)는 211bp, 게 특이 프라이머(SFI12-Crab-F/SFI12-Crab-R)는 174bp, 새우 특이 프라이머(SFI12-Shrimp-F/SFI12-Shrimp-R)는 231bp, 우유 특이 프라이머(SFI11-Cow-F/SFI11-Cow-R)는 131bp, 난류 특이 프라이머(SFI11-Chi-F/SFI11-Chi-R)는 281bp의 단편을 해당 원재료에서 각각 확인할 수 있었다. 또한 각각의 종 특이 프라이머 사용 시 해당 원재료 이외에서는 비 특이적인 단편이 생성되지 않음을 확인하였다(Fig. 1).

알레르기 유발 원재료 중 식물성 원료 확인

가공식품에서 식물성 알레르기 유발 원재료 확인을 위한 PCR 방법을 확립하기 위하여 복숭아, 토마토, 밀, 메밀, 두류, 땅콩, 아몬드 및 참깨 등 총 8종에 대하여 PCR

Table 3. Information of PCR condition of the animal raw material used in this study

Target	Step	Temp.	Time	Cycles
Pork/Milk	Initial denaturation	95°C	10 min	1
	Denaturation	95°C	30 sec	
	Annealing	59°C	10 sec	40
	Extention	72°C	40 sec	
	Elongation	72°C	5 min	1
Mackerel	Initial denaturation	94°C	5 min	1
	Denaturation	94°C	30 sec	
	Annealing	55°C	20 sec	40
	Extention	72°C	30 sec	
	Elongation	72°C	10 min	1
Crab	Initial denaturation	94°C	5 min	1
	Denaturation	94°C	30 sec	
	Annealing	45°C	30 sec	40
	Extention	72°C	30 sec	
	Elongation	72°C	10 min	1
Shrimp	Initial denaturation	94°C	5 min	1
	Denaturation	94°C	30 sec	
	Annealing	60°C	15 sec	40
	Extention	72°C	30 sec	
	Elongation	72°C	10 min	1
Eggs	Initial denaturation	95°C	10 min	1
	Denaturation	95°C	30 sec	
	Annealing	62°C	5 sec	40
	Extention	72°C	30 sec	
	Elongation	72°C	5 min	1

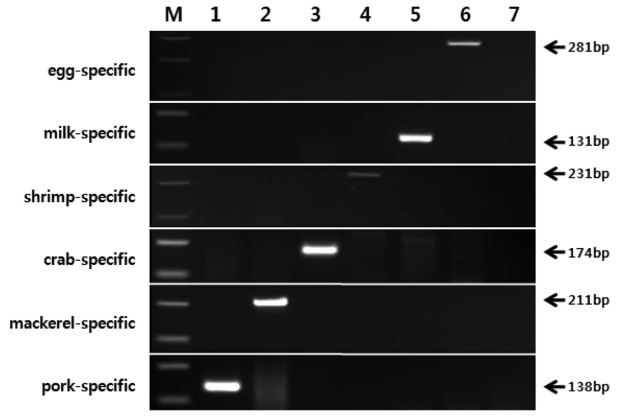

Fig. 1. Detection of animal allergenic materials by PCR using pork-specific, mackerel-specific, crab-specific, shrimp-specific, milk-specific, and egg-specific primer. Lane 1; Pork, 2; Mackerel, 3; Crab, 4; Shrimp, 5; milk, 6; Egg, 7; No Template control.

조건을 검토하였다. 각각의 종특이 프라이머를 사용하여 Table 4의 조건으로 PCR을 수행한 결과 복숭아 특이 프라이머(UDP96-015-F/UDP96-015-R)를 사용할 경우 174bp, 토마토 특이 프라이머(TGS1543-F/TGS1543-R)는 132bp, 밀 특이 프라이머(SFI11-Whe-F/SFI11-Whe-R)는 127bp, 메밀 특이 프라이머(SFI11-Buc-F/SFI11-Buc-R)는 138bp, 두류 특이 프라이머(Leln02-3/Leln02-5)는 118bp, 땅콩 특이 프라이머(PM53-F/PM53-R)는 120bp, 아몬드 특이 프라이머(SFI12-almond-F/SFI12-almond-R)는 103bp, 참깨 특이 프라이머(ZM-25-F/ZM-25-R)는 220bp의 단편을 해당 원재료에서 각각 확인할 수 있었다. 또한 각가의 종 특이 프라이머 사용 시 해당 원재료 이외에서는 특이적인 단편이 생성되지 않음을 확인하였다(Fig. 2).

Table 4. Information of PCR condition of the plant raw material used in this study

Target	Step	Temp.	Time	Cycles
Peach	Initial denaturation	94°C	5 min	1
	Denaturation	94°C	30 sec	
	Annealing	55°C	20 sec	35
	Extention	72°C	30 sec	
	Elongation	72°C	10 min	1
Tomato	Initial denaturation	94°C	5 min	1
	Denaturation	94°C	30 sec	
	Annealing	67°C	15 sec	35
	Extention	72°C	30 sec	
	Elongation	72°C	10 min	1
Wheat	Initial denaturation	94°C	12 min	1
	Denaturation	94°C	30 sec	
	Annealing	60°C	20 sec	35
	Extention	72°C	30 sec	
	Elongation	72°C	2 min	1
Buck wheat	Initial denaturation	94°C	12 min	1
	Denaturation	94°C	30 sec	
	Annealing	55°C	20 sec	35
	Extention	72°C	30 sec	
	Elongation	72°C	2 min	1
Beans	Initial denaturation	95°C	10 min	1
	Denaturation	95°C	30 sec	
	Annealing	60°C	30 sec	35
	Extention	72°C	30 sec	
	Elongation	72°C	7 min	1
Peanut	Initial denaturation	94°C	5 min	1
	Denaturation	94°C	30 sec	
	Annealing	67°C	30 sec	35
	Extention	72°C	30 sec	
	Elongation	72°C	10 min	1
Almond	Initial denaturation	94°C	5 min	1
	Denaturation	94°C	30 sec	
	Annealing	60°C	30 sec	35
	Extention	72°C	30 sec	
	Elongation	72°C	10 min	1
Sesame	Initial denaturation	94°C	5 min	1
	Denaturation	94°C	30 sec	
	Annealing	67°C	20 sec	35
	Extention	72°C	30 sec	
	Elongation	72°C	10 min	1

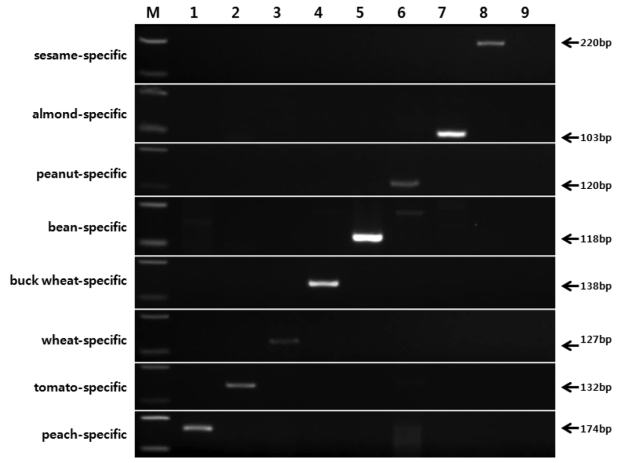

Fig. 2. Detection of plant allergenic materials by PCR using peach-specific, tomato-specific, wheat-specific, buck wheat-specific, bean-specific, peanut-specific, almond-specific, and sesame-specific primer. Lane 1; peach, 2; tomato, 3; wheat, 4; buck wheat, 5; beans, 6; peanut, 7; almond, 8; sesame, 9; No Template control.

고 찰

식품 중 알레르기 유발 원재료에 관한 연구는 국가별 고유의 식문화 및 인종에 따른 차이점이 있어 의무적으로 표시하여야하는 알레르기 유발 원재료의 규정에 차이가 있다. 현재 제외국 식품 중 알레르기 유발 원재료 및 성분을 살펴보면 갑각류, 어류, 난류, 땅콩, 견과류, 대두, 우유 및 밀을 공통으로 규정하고 있는 나라는 미국, 중국, 캐나다, 호주, 뉴질랜드, EU, 홍콩 및 싱가포르이다. 추가적으로 규정하고 있는 원재료로는 중국이 글루텐 함유 곡물을, 캐나다는 글루텐 함유 곡물, 밀, 참깨, 겨자, 아황산염을 추가적으로 규정하고 있다. 호주 및 뉴질랜드는 밀과 참깨를 추가적으로 규정하고 EU에서는 글루텐 함유 곡물, 밀, 참깨, 겨자, 아황산염, 연체동물, 루피너스를 추가적으로 규정하고 있으며 홍콩과 싱가포르는 글루텐 함유 곡물, 아황산염을 추가적으로 규정하고 있다. 일본의 경우에는 의무표시 성분 8종과 권장표시 성분 18종으로 나뉘어져 있어 규정 원재료가 26종에 달한다[11,12,13,14]. 또한 그 나라의 소비경향에 따라 노르웨이의 경우는 대구, 일본의 경우는 쌀과 콩, 미국의 경우는 땅콩에 대한 연구가 주로 진행되고 있으나[15] 우리나라의 경우에는 식품 중 알레르기 유발 원재료에 관한 연구가 미흡한 상황이다. 최근 알레르기 유발물질의 함유여부를 제대로 기입하지 않아 수출제품이 회수조치 된 경우가 다수 발생하고 있으며, 국내 알레르기 유발성분의 표시대상 확대의 목소리가 나오면서 식품 중 알레르기 유발 원재료에 관한 연구의 필요성이 부각되고 있다. 따라서 제외국으로의 수출을 목적으로 생산되어지는 가공식품의 생산자 및 알레르기에 민감한 소비자를 보호하기 위해서는 다양한 식품에서 알레르기 유발 원재료의 존재를 특이하게 검출할 수 있는 검출법의 개발이 필요하다.

본 연구에서는 국내 알레르기 유발 원재료 표시대상인 12종과 과자류 제품에 많이 사용되며 캐나다, 호주, 뉴질랜드, EU에서 알레르기 유발 원재료로 규정하고 있는 아몬드, 참깨를 포함한 총 14종의 원재료를 검출할 수 있는 PCR 법을 구축하고자하였다. 검출법을 구축하기 위하여 프라이머를 제작 또는 연구된 자료들을 통해 적합한 프라이머를 사용하여 최적조건을 확립하고 그 특이성을 확인하였다. 가공식품의 경우 다양한 매트릭스를 가지고 있으며 가공과정 중 주형유전자의 파괴가 일어날 가능성이 높기 때문에 종 특이 프라이머를 이용하여 PCR방법의 최적 조건을 구축하였는데 이러한 PCR 산물의 생성유무로 원료성분을 판별하는 방법에 대한 연구는 일부 보고되었다[16,17,18]. 가공식품 중 우유, 두류, 난류의 함유여부를 확인하기위하여 소, 콩, 닭에 검출용 종 특이 프라이머로 사용하였다. 이는 우유의 경우 소에서 유래가 되었기 때문에 선택하였으며 난류의 경우에는 대표적인 난류로 계란이 닭에서 유래되었기 때문에 선택하였다. 또한 우유와 계란을 포함한 과자를 대상으로 PCR을 시행한 결과 원료성분의 판별이 가능함을 확인하였다. 두류의 경우에는 렉틴 유전자를 공통으로 가지고 있기 때문에 식품공전시험법에서 유전자재조합 콩 검사에 이용되고 있는 프라이머를 사용하였다[24].

알레르기 유발 원재료 14종을 동물성, 식물성 원료로 구분하여 각각 적합한 유전자추출키트를 사용하여 유전자 추출을 진행하고 PCR을 시행한 결과 식물성 원료의 경우 재결합 온도가 동물성 원료에 비해 비교적 높음을 확인할 수 있었다. 이는 식물성 원료 중 일부가 SSR (Simple Sequence Repeats) 부위를 대상으로 하였기 때문인 것으로 추정된다. SSR 유전자는 게놈 내의 한 개(mono), 두 개(di), 길게는 여섯개(hexamer)의 단일염기들이 연속적으로 반복되어져 있는 특정부위에 대해 염기서열을 분석하고 종 특이 프라이머를 제작함으로서 유전자형에 따른 단순염기서열의 차이를 분석하는 방법으로 다른 분자 마커 분석법에 비해 높은 재결합 온도에서 이루어지는 경향이 있으며 이러한 이유 때문에 실험의 재현성이 높은 장점이 있다고 알려져 있다[19].

따라서 본 연구에서 확립된 알레르기 원재료 검출법은 사용원료 확인을 위한 판별법으로 적용하여 건전한 식품 제조업체를 보호하고 정확한 알레르기 표시사항 준수를 통한 소비자 보호와 과학적 식품감시에 활용도가 매우 클 것으로 기대된다.

감사의 말

본 연구는 식품의약품안전평가원 2012년도 연구개발사업지원비(12161소비연114)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

요 약

본 연구에서는 분자생물학적 방법을 통한 알레르기 유발 원재료 확인을 위해 PCR방법의 최적 조건을 구축하였다. 가공식품에서 알레르기 원료성분 확인을 위하여 200bp 내외의 PCR 산물을 생성할 수 있는 종특이 프라이머를 설계하거나 선행연구사업 결과를 활용하였다. 대상 원료로는 국내 식품알레르기 표시대상인 난류, 우유, 메밀, 땅콩, 대두, 밀, 고등어, 게, 새우, 돼지고기, 복숭아 및 토마토와 제외국에서 알레르기 유발 성분으로 규정하고있는 아몬드, 참깨를 포함하여 총 14종을 대상으로 하였다. 특이 프라이머를 사용하여 PCR 한 결과 난류, 우유, 메밀, 땅콩, 대두, 밀, 고등어, 게, 새우, 돼지고기, 복숭아, 토마토, 아몬드 및 참깨로부터 각각 281, 131, 138, 120, 118, 127, 211, 174, 231, 138, 174, 132, 103 및 220bp의 특이 밴드를 확인하였으며 상호간의 비 특이적 밴드는 검출되지 않았다. 본 연구에서 확립한 알레르기 유발 원재료 검출법은 식품의 부정확한 표시나 가공식품의 제조과정 중 알레르기 유발물질의 비의도적 혼입 등으로부터 소비자를 보호하고 향후 수출 제품에 있어서 정확한 알레르기 유발 원재료 표기에 활용이 가능할 것으로 판단된다.

참고문헌

1. King, N., Helm, R. and Stanley, S.: Allergenic characteristics of a modified peanut allergen, *Mol. Nutr. Food Res*., **49**, 963-971 (2005).
2. Sampson, H.A.: Update on food allergy, *J. Allergy Clin. Immunol*., **113**, 805-819 (2004).
3. Frew, A.J.: Food allergy and intolerances, *Allergy,* **52**, 675 (1997).
4. 한국소비자원 소비자위해감시시스템(http://www.kca.go.kr)
5. 식품의약품안전청, 2005. 식품의약품안전청고시 제2005-12호.
6. 식품의약품안전청, 2008. 일본의 알레르기 유발물질 검사법 규정: 번역집, 63.
7. Roland, E.P. and Elke, A.K.: Polymerase Chain Reaction Techniques for Food Allergy Detection, *J. AOAC Int*., **87**, 139 (2004).
8. Hebert, P.D.N., Alina, C., Shelley, L.B. and Jeremy, R.: Biological identifications through DNA Barcodes, *Proc. R. Soc. Lond. B*., **270**, 313-321 (2003).
9. Michael, T.M., Michael, B., Gregory, T.R. and Alfried, P.V.: DNA-based species delineation in tropical beetles using mitochondrial and nuclear markers, *Philos. Trans. R. Soc.*, **360**, 1925-1933 (2005).
10. Tomoaki, M., Atsushi, A., Takuma, T., Sumitaka, Y., Yutaka, O. and Yoshida, M.: Identification of animal species using the partial sequences in the mitochondrial 16S rRNA Gene, *Legal Med*., **11**, 449-450 (2009).
11. http://www.inspection.gc.ca
12. http://www.mhlw.go.jp
13. http://www.fda.gov
14. http://www.emea.europa.eu/ema
15. Samuel, B., Lehrer, W., Elliott, H. and Gerald, R.: Why are some proteins allergenic? Implications for biotechnology, *Crit. Rev. Food Sci. Nut*., **36**, 553-564 (1996).
16. Lee, J.H., Song, K.Y., Hyeon, J.Y., Hwang, I.G., Kwak, H.S., Han, J.A., Chung, Y.H. and Seo, K.H.: Comparison of Standard Culture Method and Real-time PCR Assay for Detection of *Staphylococcus aureus* in Processed and Unprocessed Foods, *Korean J. Food Sci. Ani. Resour*., **30**, 410-418 (2010).
17. Lee, S.Y., Jang, K.I., Woo, G.J., Kwak, H.S. and Kim, K.Y.: Development of Protocol for the Effective Detection of Feline Calicivirus as Norovirus Surrogate in Oyster and Lettuce, *Korean J. Food Sci. Techinol*., **39**, 71-76 (2007).
18. Park, Y.C., Ahn, C.Y., Jin, S.O., Lim, J.Y., Kim, K.H., Lee, J.H., Cho, T.Y., Lee, H.J., Park, K.S. and Yoon, H.S.: Identification of Raw Materials in Processed Meat Products by PCR Using Species-Specific Primer, *J. Fd Hyg. Safety*, **27**, 68-73 (2012).
19. Rakoczy-Trojanowska, M. and Bolibok, H.: Characteristics and comparison of three classes of microsatellite-based maskers and their application in plants, *Cell Mol Biol Lett*., **9**, 221-238 (2004).
20. Park, Y.C., Lim, J.Y., Kim, M.R., Park, Y.E., Lim, J.D., Hwang, C.R., Kim, K.H., Lee, J.H., Cho, T.Y., Lee, H.J., Lee, S.J. and Han, S.B.: Identification of Fauly Red Pepper Powder Containing Seasoned Red-pepper Sauce, *J. Fd Hyg. Safety*, **27**, 182-187 (2012).
21. Wünsch, A. and Hormaza, J.I.: Molecular characterization of sweet cherry (*Prunnus avium* L.) genotypes using peach [*Prunnus persica* (L.) Batsch] SSR sequences, *Heredity*, **89**, 56-63 (2002).
22. Shirasawa, K., Asamizu, E., Fukuoka, H., Ohyama, A., Sato, S., Nakamura, Y., Tabata, S., Sasamoto, S., Wada, T., Kishida, Y., Tsuruoka, H., Fujishiro, T., Yamada, M. and Isobe, S.: An interspecific linkage map of SSR and intronic polymorphism markers in tomato, *Theor Appl Genet*., **121**, 731-739 (2010).
23. 식품의약품안전평가원, 2012, 가짜식품 판별 검사 지침서 (I) (2011).
24. 식품공전, 제 10 일반시험법, 8 식품표시관련시험법 (2011).
25. He, G., Ronghua, M., Newman, M., Gao, G., Pittman, R.N. and Prakash, C.S.: Microsatellites as DNA markers in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.), *BMC Plant Biology*, **3** (2003).
26. Wei, W., Qi, X., Wang, L., Zhang, Y., Hua, W., Li, D., Haixia, L. and Zhang X.: Characterization of the sesame(*Sesamum indicum* L.) global transcriptome using Illumina paired-end sequencing and development of ETS-SSR markers, *BMC Genomics*, **12**, 451 (2011).