J. Fd Hyg. Safety 13(4), 388 - 393(1998)

시중 유통 중인 한우와 수입쇠고기의 유전자 비교 및 위생시험

서정희† · 홍준배 · 정윤희 · 김말남*
*한국소비자보호원 시험검사소 세균 · 위생시험실, *상명대학교 생물학과*

Genetic Comparison and Hygienical Test between Korean Native Beef(Hanwoo) and Imported Beef(Holstein) Available in the Market

Jung Hee Ser†, Joon Bae Hong, Yun Hee Chung and Mal Nam Kim*
Microbe and Hygiene Division, Testing and Research Center, Korea Consumer Protection Board, Seoul 137-700, Korea
**Department of Biology, Sangmyung University, Seoul 110-743, Korea*

ABSTRACT—Recently there has been an increasing amount of foreign livestock products distributed in the domestic market due to the market opening. Some vicious dealers sell the foreign beef in the trade name of the native beef during the final distribution step to arouse the social criticism frequently. In this report, we investigated a method to distinguish the native beef from the foreign one scientifically using the PCR-RAPD, a recent gene technique. Hygienical safety was also examined using a microbiological test for toxicity of *Escherichia coli* O157:H7 and the food poisoning bacteria. The conditions of DNA amplification for the PCR analysis were 1×Taq polymerase buffer, 1.5 mM $MgCl_2$, 50 μM dNTP, 100 ng primers, 2.5 unit Taq polymerase and 5~20 ng template DNA, with the final volume of 50 μl. The size of the amplified product was detected mostly in the range of 0.5~2.0 kbp. The size of DNA, gene marking factor, which could be a criterion distinguishing the native beef from the foreign one, appeared approximately 1.2 kbp. The native beef was distinguished from the foreign beef with more than 90% of confidence by the gene marking factor. This method was expected to be useful in the breed discrimination between the native beef and the foreign one. The hygienical test results showed that, fortunately, neither *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* which form a principal cause of the food poisoning nor Enterohemorrhagic *Escherichia coli* : EHEC which have provoked a recent social disturbance, were detected at all.

Key words □ Hanwoo, Imported Beef, RAPD, *Escherichia coli* O157:H7, O26, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp.

식품산업의 발달과 시장 개방화로 외국산 농축산물과 그 가공제품들이 국내시장에 많이 유통되고 있으며 그 차지하는 비율도 점차 증가하고 있다. 식육 중에서 쇠고기는 국내 소비량의 절반 이상이 수입에 의존하고 있고, 그 비율은 앞으로 더욱 높아지리라 예상된다. 쇠고기는 한국인이 가장 좋아하는 육류로 우리 나라 국민 1인당 쇠고기의 소비량은 85년 2.9 kg, 90년 4.1 kg, 95년 6.7 kg으로 90년에서 95년 평균 증가율은 10.3%에 달하고 있다.[1] 이렇게 소비량이 증가하고 있는 쇠고기 중 특히 우리 나라 재래 한우고기의 맛과 육질이 우수하여 소비자들이 선호하고 있다.

그러나 시장개방화로 수입쇠고기의 물량은 급증하여 최종 유통과정 중에서 수입쇠고기가 한우로 판매되어 소비자가 피해를 보는 등 사회적 물의를 일으키는 경우가 종종 있다. 이러한 사례의 발생은 한우와 수입쇠고기를 과학적으로 확실히 판별할 수 있는 방법이 없었기 때문이다.

전세계적으로 수백종에 이르는 소 품종의 구별은 불과 몇 년전까지만 해도 외형적 특징인 털색, 체형 등의 표현형에 의존하는 방법 이외에는 없었기 때문에 표현형으로 나

† Author to whom correspondence should be addressed.

타나지 않는 유전형질은 파악할 길이 없으므로 소를 처리하여 쇠고기 상태로 변화시키면 육질의 품종 판별은 불가능한 상태였으나,[2] 소 품종간의 유전적 유연관계에 관한 국내외 많은 연구가 혈액 단백질이나 DNA의 구조 차이를 기초로 해서 실시되었다.[3,4] 국내에서는 유[5]가 동결육 및 동결 후 해동육과 신선육을 구별하는 방법에 대한 연구를 시작으로 하여 박과 유[6]는 한우와 수입쇠고기의 지방산 조성 비교에 대한 연구를 수행하였다. 미국 등 선진국에서는, 가축의 개체 판별 및 친자감별을 위하여 유전자지문(DNA fingerprinting)을 이용한 Gill 등[7]과 Jeffreys 등[8]의 연구보고를 바탕으로 많은 학자들에 의해 활발히 연구가 수행되고, 최신의 분자유전학적 방법으로 Guthrie 등,[9] Waugh와 Powell[10]은 PCR 기술을 접속시킨 RAPD(Random Amplified Polymorphic DNAs)에 의한 유전자지문을 집단유전학 연구에 응용할 수 있는 단계까지 연구가 진행되고 있다. 최근 분자생물학적 기법이 발전하면서 개발된 방법 중 하나인 RAPD는 임의의 primer를 이용하여 증폭된 임의의 genomic region의 다형현상을 관찰함으로써 유전적 표지인자를 찾는 방법이다. RAPD는 임의로 만들 수 있는 primer가 무수하기 때문에 이러한 정보를 바탕으로 원하는 primer를 제작할 수 있다는 것과 RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism)를 비롯한 다른 어떤 방법보다도 신속·간편하다는 장점을 지니고 있기 때문에 신속한 축종 판별 뿐만 아니라 동 축종내 품종 판별을 위해서도 응용되고 있다.[11,12] 국내에서 PCR을 통한 가축 유전자지문에 대한 연구보고로는 한 등[13]은 RFLP 방법을 이용한 한우와 수입쇠고기의 구별 방법에 대한 연구를 하였으며, RAPD 기법을 이용하여 민 등[14]은 쇠고기의 품종구분, 이 등[15]은 한우의 구별법, 이와 오[2]는 쇠고기의 성판별과 근육부위별 한우와 젖소의 DNA 다형성 분석과 유전적 특성에 관한 연구 등을 보고한 바 있다.

한편, 수입쇠고기의 유통이 매년 증가하고 있는 실정에서 위생에 대한 의문이 제기되고 있다. 실제로 1982년 미국에서 처음 보고된 장관출혈성 대장균 O157:H7에 의한 식중독은 전세계적으로 문제가 되고 있으며, 1996년 6월 일본에서도 이 균에 의해 집단 식중독 사건이 발생한 사례가 있다. 또한 전세계적으로 살모넬라균에 의한 식중독도 꾸준히 발생하고 있으며 우리 나라에서의 경우 살모넬라균에 의한 식중독 환자의 발생은 93년 40.8%, 94년 42.2%, 95년에 28.8%, 96년에는 53.3%로 식중독 발생의 가장 큰 원인균이다.[16]

따라서 본 연구에서는, 시중 유통 중인 쇠고기를 구입하여 우육 종간 RAPD 다양성을 보이는 primer를 선발하여 종간 DNA 다형성 차이를 조사하고 이러한 분자유전학적 연구자료를 토대로 한우와 수입쇠고기에 대한 소비자의 피해구제를 위한 과학적 자료를 제시하고자 하였으며, 식중독 세균인 장관출혈성 대장균(*Escherichia coli* O157:H7, O26)과 식중독균인 *Listeria monocytogenes*와 *Salmonella* spp.를 시험하여 한우와 수입쇠고기에 대한 위생실태를 파악함으로써 미생물적 안전성을 평가하였다.

재료 및 방법

실험 시료

본 연구에서 표준품으로 사용한 표준 한우(Korean Cattle Beef)와 표준 수입우(Imported Beef)의 쇠고기는 농촌진흥청 농업과학기술원에서 분양받았으며 비교분석실험에 사용한 시료는 1997년 9월 19일~22일 서울시 소재 백화점 8곳과 한우 및 수입쇠고기 전문점 각 2곳에서 판매되고 있는 냉동 또는 냉장 상태의 한우고기 등심부위와 수입쇠고기 등심부위를 각 10종씩 구입하여 사용하였다.

쇠고기 근육조직으로부터 genomic DNA 추출

Genomic DNA의 추출은 Blin과 Stafford[17]의 방법과 Ausubel 등[18]의 방법에 준하여 실시하였다. -20°C의 냉동저장된 쇠고기 근육조직을 Homogenizer(Steward, STOMACHER Lab-Blander 80)를 이용하여 분쇄하고 이의 분쇄육 1 g을 400 μl extraction buffer(1% SDS, 100 mM NaCl, 5 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl(pH 9.0), 1% mercaptoethanol)에 혼합하여 65°C에서 1시간 동안 반응한 후 상온에서 12,000 rpm, 15분간 원심분리하여(Hanil, Micro 17R) 상층액을 취하였다. 상층액에 동량의 phenol : chloroform : isoamylalcohol (25 : 24 : 1) 혼합액을 처리한 후 상온에서 12,000 rpm, 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 isopropanol로 침전시켜 pellet을 얻었다. 100% ethanol 2.5배의 양을 넣은 후 Deep Freezer(Snijders UF240-90)에 15분간 방치하고, 4°C에서 (12,000 rpm, 10 min) 원심분리하여 pellet을 취했다. 70% ethanol로 세척하고 진공건조기(Savant ISS110)를 이용하여 건조시켰다. 건조시킨 DNA를 TE용액 100 μl에 용해시킨 후 RNase(Sigma) 20 μg을 첨가하고 37°C water bath(Techne, TE-8J)에서 30분간 반응시키고 다시 ethanol로 침전시킨 다음 genomic DNA를 건조시켜 spectrophotometer(Bechman, DU-650)와 agarose gel(FMC, SeaKem LE)을 이용하여 genomic DNA를 정량하였다.

DNA 증폭

DNA 증폭시험은 김 등[19]의 방법과 Brandt 등[20]의 방법을 이용하여 조건을 잡았다. DNA 증폭에 이용되는 반응용액의 조건은 1×Taq polymerase buffer, 1.5 mM $MgCl_2$, 50

μM dNTP, 100 ng primer(p8), 2.5 unit Taq DNA polymerase (Perkin Elmer AmpliTaq), 5~20 ng template DNA이며, 최종 반응용액은 50 μl가 되게 하였다. DNA 증폭을 위한 thermal cycler는 Techne사의 Progene을 사용하였으며, 첫 cycle은 95°C 5분간 denaturation하고, 그 후 40 cycles 과정은 95°C 30초간 denaturation, 36°C 60초간 annealing, 72°C 1분 30초간 polymerization한 후 마지막 cycle은 72°C에서 10분간 수행하였다.

전기영동

PCR(Polymerase Chain Reaction)에 의한 증폭산물은 Sambrook 등[21]과 Ausubel 등[18]의 실험방법에 준하여 horizontal slab gel에서 TAE buffer를 사용하여 1.8% agarose gel에서 전기영동하였다. 전기영동한 gel은 ethidium bromide로 염색한 후 UV transilluminator를 이용하여 DNA 밴드를 관찰하고 Polaroid DS-34 camera를 사용하여 gel 사진을 찍었다. DNA size marker로는 1 kb ladder(BRL)를 사용하였다.

위생시험

장관출혈성대장균 *Escherichia coli* O157:H7 및 O26의 시험은 축산물 중 미생물검사방법[22] 및 미국 질병관리센타[23]의 미생물검사법에 준하여 실험하였다. *Listeria monocytogenes*와 *Salmonella* spp.는 식품공전,[24] 감염병 실험실 진단지침,[25] 미국 농무성 시험법[26] 및 AOAC[27]에 준하여 시험하였다. 상기 미생물 균체들의 확인과 동정을 위하여 VIDAS (mini VIDAS, bioMerieux)와 VITEK(VITEK-JR, bioMerieux), API kit를 이용하고 혈청학적 시험을 병행하여 실시하였다.

결과 및 고찰

한우와 수입쇠고기의 유전자 표지인자 확인

한우와 수입쇠고기의 유전자 표지인자 확인을 위하여 실시한 DNA 증폭 실험 조건으로 이 등[28]의 PCR 반응조건인 0.5 unit Taq DNA polymerase과 100 ng genomic DNA를 사용하였을 때는 명확한 DNA 단편을 얻기가 어려웠다. 따라서 김 등[19]과 Brandt 등[20]의 시험방법을 통해서 조건을 설정하였다. 여러 조건 중에서 2.5 unit Taq DNA polymerase를 사용하여 5~20 ng genomic DNA를 72°C, 1분 30초간 polymerization 반응하였을 때 저분자 DNA 밴드보다 고분자 DNA 밴드들을 용이하게 검출할 수 있었으며 유전자 표지인자 1.2 kbp의 보다 명확한 DNA 단편을 얻을 수 있었다.

시험조건을 토대로 농촌진흥청 농업과학기술원에서 공급받은 표준한우와 표준수입쇠고기(Holstein)를 기준으로 해서 PCR 반응을 실시하였다. Fig. 1의 1번부터 4번 lane은 표준한우를 실험한 것이고, 5번부터 8번은 표준수입쇠고기를 실험한 것이다. 명료하게 검출되는 DNA밴드 수는 약 10개 미만이었으며, 그 크기는 0.5 kbp에서 2 kbp 사이에 주로 분포되어 있었다. 표준수입쇠고기에서는 표준한우에서 확인 할 수 없는 1.018 kbp의 상부 약 1.2 kbp의(화살표 표시) 유전자표지인자인 DNA 단편을 확인할 수 있었다. 한우와 수입소에서 추출한 genomic DNA의 다형성을 RAPD 기법에 의해 비교 분석한 이 등[15,28]의 보고에서도 10개미만의 명확한 DNA 밴드를 얻었으며, 크기는 주로 0.5 kbp에서 2 kbp 사이에 골고루 분포되어 있다고 하였다. 또한, 한우 품종에서 검출되는 주된 DNA 단편들이 외국소 품종에서도 모두 관찰된다고 하였으며 외국소의 근육조직에서만 공통적으로 검출되는 주된 밴드는 크기가 약 1.2 kbp라고 연구보고 하였듯이 본 연구에서 시험한 표준 수입 쇠고기에서도 약 1.2 kbp에서 외국소들이 가지는 유전자 표지인자 DNA 단편이 확인되었다.

Fig. 2와 3은 시중 유통중인 한우와 수입쇠고기의 유전자 표지인자 구별을 위하여 서울시 소재 백화점 8곳과 한우 및 수입쇠고기 전문판매점 각각 2곳에서 판매되고 있는 한우 등심부위 10점과 수입 쇠고기 등심부위 10점을 구입하여 실험한 결과이다. Fig. 2의 경우는 한우 등심부위의 DNA 실험 결과로서, lane 1~8은 8곳의 백화점에서, lane 9~

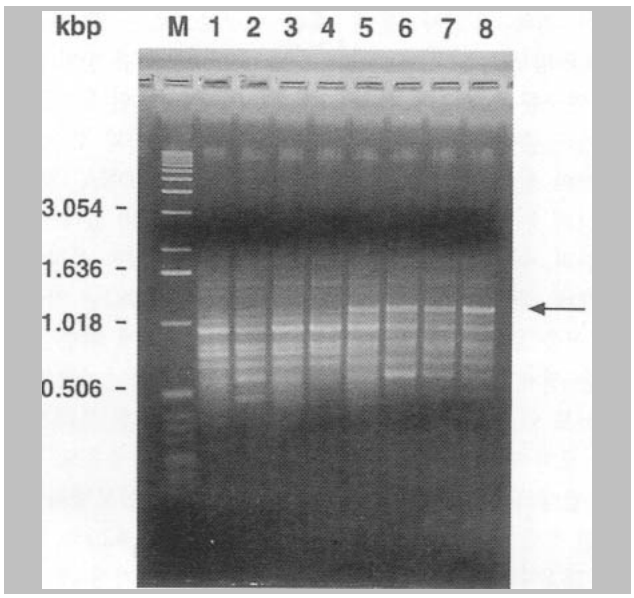

Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of PCR products with a genomic DNA of Standard Korean Native Beef (Hanwoo) and Standard Imported Beef(Holstein).
M : DNA size marker (1 kb), Lane 1~4 : Standard Korean Native Beef(Hanwoo), Lane 5~8 : Standard Imported Beef(Holstein).

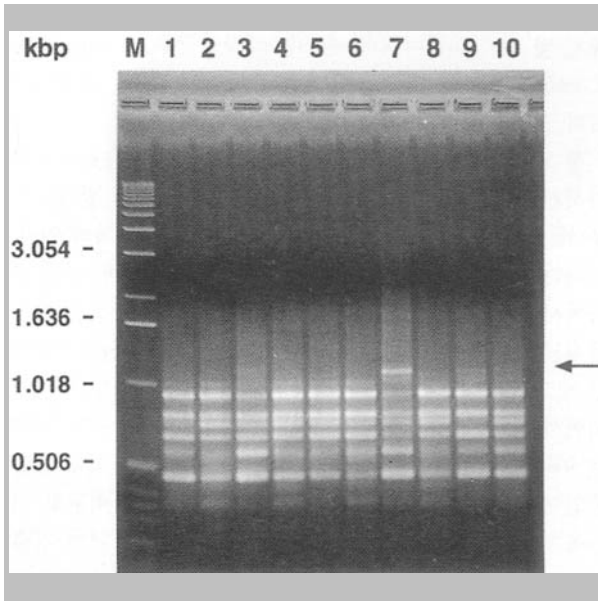

Fig. 2. Agarose gel electrophoresis of PCR products with a genomic DNA of Korean Native Beef(Hanwoo) collected from department stores and NACFs (National Agricultural Co-operative Fedration) specializing in livestock products.
M : DNA size marker (1 kb), Lane 1~8 : Samples from 8 department stores, Lane 9~10 : Samples from 2 NACFs.

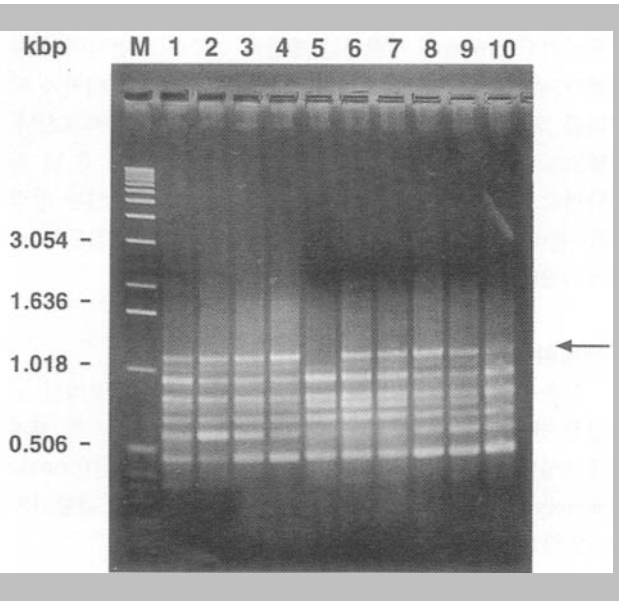

Fig. 3. Agarose gel electrophoresis of PCR products with a genomic DNA of Imported Beef(Holstein) collected from department stores and markets specializing in Imported Beef.
M : DNA size marker (1 kb), Lane 1~8 : Samples from 8 department stores, Lane 9~10 : Samples from 2 markets specializing in Imported Beef.

10은 2곳의 한우전문점에서 구입한 한우고기에 대한 DNA 실험결과이다. Lane 7을 제외한 9개 시료에서는 수입쇠고기에서 나타나는 유전자표지인자인 DNA 단편이 검출되지 않아 모두 한우임을 알 수 있었다.

Fig. 3은 수입쇠고기만을 실험한 결과이며, lane 1~8은 8곳의 백화점에서, lane 9~10은 2곳의 수입쇠고기 전문점에서 구입한 수입쇠고기에 대한 DNA 실험결과를 나타낸다. Lane 5번을 제외한 9개 시료는 약 1.2 kbp에서 수입쇠고기 유전자 표지인자인 DNA 단편이 검출되어 수입쇠고기임을 확인할 수 있었다. 하지만 lane 5번의 시료에서는 수입쇠고기에만 있는 유전자 표지인자인 DNA 단편이 검출되지 않았다.

이 등[15]의 연구에서 10두 이상의 한우를 대상으로 유전자 표지인자를 시험한 결과, 시험대상 모두에서 수입쇠고기에만 있는 유전자표지인자가 관찰되지 않았으며, 한우 DNA의 primer의 부착시간과 부착온도 그리고 genomic DNA양 등의 증폭조건을 변화시켜도 동일한 결과를 얻을 수 있었다고 하였다. 또한 이와 오[2]는 외국 소의 품종 중 젖소인 홀스타인과 육종인 앵거스, 헤어포드, 리무진, 브라운스위스 및 심멘탈을 조사한 결과 소의 품종과 쇠고기 부위에 관계없이 모두 1.2 kbp의 유전자 표지인자를 얻을 수 있었다고 보고한 바 있으므로 1.2 kbp 크기의 DNA 단편은 개체 차이에 구애받지 않는 품종 특이적인 DNA 표식인자임을 알 수 있었다. 수입쇠고기에서만 1.2 kbp의 유전자 표지인자가 검출된 이유를 한우와 수입소 품종의 genomic DNA와 primer가 결합하는 부분의 염기 배열이 서로 완전히 틀린 것이 아닌가 추측하였지만 이에 대한 결론에 대해서는 한우 품종과 상대적 유연관계가 가깝다고 여겨지는 아시아 지역 중에서 중국 연변지역, 몽골, 일본 등의 소 품종들과도 DNA 다형성을 비교 검토할 필요가 있다고 설명하였다.

그러나 우수한 품종을 얻기 위해서 한우에 우수한 외국 품종의 소를 교배하여 우량종을 얻었을 경우 중간형질의 유전자 또는 독립적인 한우와 수입우의 유전자가 동시에 발현될 수 있을 것이다. 이 등[2,28]에 의하면 쇠고기의 저장기간과 저장방법, PCR의 조건이나 primer의 양 등이 DNA 다형성의 검출감도에 영향을 준다고 한다. 따라서 유전자 표지인자가 검출되거나 검출되지 않았다고 하여 100% 순수한 한우 또는 수입쇠고기라고 단정하기에는 어려움이 있다. 그러나 본 연구에서는 random primer로 증폭된 각 시료간에 품종 판별의 기준이 되는 band를 확인함으로써 수입쇠고기에 대한 90% 이상의 유의성 있는 판별 결과를 얻을 수 있었으며 1.2 kbp 크기의 DNA 단편은 품종 특이적인 DNA 표식인자로서 한우 고기와 수입쇠고기의 판별에 이용될 수 있을 것이다. 다만, 관찰된 표지인자의 신뢰성을 높이기 위하여 표지인자의 cloning, 염기서열의 결정 등을 통한 한우

특이적인 primer를 개발하는 방향의 연구가 수반되어야 하겠다. 이로부터 수입쇠고기가 한우로 판매되어 소비자가 피해를 보는 일은 없어질 수 있는 계기가 되리라고 사료된다. 앞으로 본 원뿐만이 아니라 관련 연구기관에서는 좀 더 과학적으로 한우와 수입쇠고기를 100% 구별할 수 있는 방법을 적극적으로 연구 개발하여 소비자의 피해가 없도록 하여야겠다.

위생성

서울시 소재 백화점 및 수입쇠고기 전문 판매점에서 구입한 한우 10종 및 수입쇠고기 10종에 대한 위생시험 결과 병원성대장균 *E. coli* O157:H7, O26과 식중독균(*Listeria monocytogenes, Salmonella* spp.)은 다행히 전혀 검출되지 않았다.

박[29]에 의한 국가별 육류 중의 미생물 오염지도 기준을 살펴보면 살모넬라균의 경우 호주와 일본에서는 25 g당 음성, 미국은 주별로 다소 차이가 있지만 대개 음성으로 되어 있다. 그러나 우리 나라의 경우 현재 식품위생법상 모든 식품에서는 *Salmonella* spp. 및 *Listeria monocytogenes* 등의 식중독균이 검출되어서는 안된다고 규정되어 있지만[24] 식육 및 식육제품에 있어서는 *Mycobacterium* spp., *Bacillus anthracis, Brucella* spp.는 검출되어서는 안 되는 것으로 규정되어 있다. 국내 도축장을 중심으로 육류 중의 미생물 검사의 요령 및 권장기준(농림부 고시 제 1997-75호)에는 소, 돼지 및 닭에 대하여 일반세균수, 대장균군수, *S. enteritidis, E. coli* O157:H7 및 *L. monocytogenes*의 기준이 규정되어 있다.

장관출혈성 대장균 O157:H7은 1982년 미국 오레곤주와 미시건 주에서 햄버거에 의해 집단식중독 사건이 발생되었을 때 환자의 분변으로부터 확인된 것을 시초로 하여 일본, 캐나다, 영국 등 전세계적으로 문제가 되고 있으며, 우리 나라에서도 최근 문제가 되고 있는 병원성이 강한 신종 식중독세균으로 이에 대한 규격은 최근 식품위생법상(보건복지부 공고 1998-22호) 가공식품과 식육분쇄가공품 등에 검출되어서는 안되는 것으로 규정하고 있다. 본원에서는 1997년 9월에 시행한 수입쇠고기 안전성 시험에서 전국에 유통중인 수입쇠고기 52종 중 부산지역에서 구입한 비포장 절단육 수입 갈비 1종에서 살모넬라 혈청 B 그룹 균이 검출된 바 있으나,[30] 전문판매점에서 유통중인 쇠고기를 구입하여 시험하였기 때문에 자체에 오염되어 있던 균인지 아니면 유통단계에서 오염되었는지는 알 수 없는 상태였다. 그러나 쇠고기 판매점의 오염된 한 덩어리의 고기로 인하여 칼, 도마 등의 기구를 오염시킬 수 있고 이로 인하여 또 다른 고기 등에 2차, 3차 오염이 파급될 수 있다. 이렇게 미생물의 오염은 급속도로 확산될 수 있기 때문에 육류의 수입개방이라는 체제하에 위생적으로 안전한 쇠고기를 공급하기 위해서는 검역 및 유통단계의 재정립 등을 통한 철저한 위생관리가 이루어져야 하겠다.

국문요약

시장개방화로 수입쇠고기의 물량은 급증하여 최종 유통과정에서 수입쇠고기가 한우로 판매되어 소비자가 피해를 보는 등 사회적 물의를 일으키는 경우가 종종 있다. 따라서 본 연구에서는 한우와 수입쇠고기의 과학적 판별을 위하여 시중에 유통 중인 한우와 수입쇠고기를 최근 유전자 기법인 PCR-RAPD를 이용하여 연구하였으며 아울러 위생에 대한 안전성 문제를 점검하기 위하여 장관출혈성 대장균과 식중독 세균에 대한 미생물 시험을 실시하였다. PCR 분석에 사용된 DNA 증폭조건은 1×Taq polymerase buffer, 1.5 mM $MgCl_2$, 50 μM dNTP, 100 ng primer, 2.5 unit Taq polymerase(Perkin Elmer AmpliTaq), 5~20 ng template DNA이며 최종 반응용액은 50 μl이다. 증폭산물의 크기는 대개 0.5 kbp~2.0 kbp 사이의 범위에서 검출되었다. 수입쇠고기에서만 DNA 크기가 약 1.2 kbp인 유전자 표지인자가 확인되었으며 이 유전자표지인자의 확인으로 한우와 수입쇠고기가 90% 이상 구별되었으며 이는 한우육과 수입우육간의 품종판별에 유용하리라 생각된다. 위생시험 결과 최근 사회적으로 문제가 있었던 장관출혈성 대장균 O157:H7, O26, 등을 비롯하여 주요 식중독균인 *Salmonella* spp.과 *Listeria monocytogenes*은 전혀 검출되지 않았다.

참고문헌

1. 농림수산부, 농림수산통계, p. 298 (1996).
2. 이창수, 오홍록: PCR법을 이용한 쇠고기의 성판별과 근육부위별 한우와 젖소의 DNA 다형성 분석, 한국축산학회지, **15**(1), 26-30 (1995).
3. 신형두, 이득찬, 신억익, 양일석, 권종국: 혈액단백다형에 의한 지역별 한우의 유전거리에 관한 연구, 한국축산학회지, 35(50), 347 (1993).
4. Krawetz, S.A., Bricker, R.A., Connor, W., Church, R.B. and Dixon, G.H.: Restrction fragment length polymorphism (RFLP) analysis of bovine nuclear protein genes, *Theor. Appl. Genet.*, **75**, 402 (1988).
5. 유익종: 한우로 둔갑한 수입쇠고기의 과학적 판별법, 식품기술속보, 한국식품개발연구원, **31**, (1991).
6. 박병성, 유익종: 한우, 홀스타인 및 수입쇠고기의 지방산 조성 비교, 한국축산학회지, **36**(1), 69 (1994).
7. Gill, P., Jeffreys, A.J. and Werrett, D.J.: Forensic application of DNA 'fingerprints', *Nature*, **318**, 577 (1985).
8. Jeffreys, A.J., Wilson V., Thein, S.L., Weatherall, D.J. and Ponder, B.A.: DNA 'fingerprints' and segregation analysis of multiple markers in human pedigrees, *Am. J. Hum. Genet.*, **39**(1), 11 (1986).
9. Guthrie, P.A.I., Magill, C.W., Frederiksen, R.A. and Odvody, G.N.: Random amplification of polymorphic DNA markers (a system for identifying and differentiation isolates of Collectotrichum graminicola), *Phytopathology*, **82**, 832 (1992).
10. Waugh, R. and Powell, W.: Using RAPD markers for crop improvement, *TIBTECH*, **10**, 186 (1992).
11. Kemp, S.J. and Teale, A.J.: Randomly primed PCR amplification of pooled DNA reveals polymorphism in a ruminant repetitive DNA sequence which differentiates, *Bos. indicus and B. taurus. Animal. Genetics*, **25**, 83 (1994).
12. Gwakisa, P.S., Kemp, S.J. and Teale, A.J.: Characterization of zebu cattle breeds in Tanzania using random amplified polymorphic DNA markers, *Animal. Genetics*, **25**, 89 (1994).
13. 한석현, 박성현, 이정렬, 김인정, 김창규, 이승배, 권명상, 김봉배: DNA의 RFLP 방법을 이용 한 한우육과 젖소육(수입육) 구별방법 개발에 관한 연구, 한국축산학회지, **35**(4), 329 (1993).
14. 민병록, 한재용, 이무하: RAPD 기법을 이용한 쇠고기의 품종(한우육, 유우육, 수입우육) 구분, 한국축산학회지, **37**(6), 651 (1995).
15. 이창수, 유영복, 나기준, 조병대, 조병규: 핵산분석법에 의한 한우의 판별, 한국축산학회지, **36**(4), 369 (1994).
16. 보건복지부, 국립보건원, 감염병 발생정보 제8권 제10호 (1997).
17. Blin, N. and Stafford, D.W.: A general method for isolation of high molecular weight DNA from eukaryotes, *Nuc. Acids. Res.*, **3**, 2303 (1976).
18. Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston, R.E., More, D.D., Seidman, J.F., Smith, J.A. and Struhl, K.: Short protocols in molecular biology (3rd edition). Wiley-Interscience, New York, (1995).
19. 김범기, 정미정, 이창수, 이희경, 유영복, 류진창: 느타리버섯속의 DNA 다형성 분석에 영향을 미치는 PCR 조건, 한국균학회지, **23**(3), 202 (1995).
20. Brandt, M.E., Hutwgner, L.C., Kuydendall, R.J. and Pinner, R.W.: Comparison of multilocus enzyme electrophoresis and random amplification of polymorphic DNA analysis for molecular subtyping of *Cryptococcus neoformans*, *J. Clini. Microbiol.*, **33**(7), 1890 (1995).
21. Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T.: Molecular cloning. A Laboratory Manual. (Vol. 1, 2, 3, 2nd ed.), Cold-spring Harbor, New York (1989).
22. 농촌진흥청, 국립수의과학연구소, 축산물 중 미생물 검사방법, p.21 (1997).
23. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Infectious Diseases, Division of Bacterial and Mycotic Diseases, Foodborne and Diarrheal Diseases Branch, Standardized Molecular Subtyping of *Escherichia coli* O157:H7 by Pulsed-Field Gel Electrophoresis (1996).
24. 보건복지부, 식품공전 별책, p.105 (1996).
25. 보건복지부, 감염병 실험실 진단지침, p.109 (1996).
26. United States Department of Agriculture, National Forum on Animal Production Food Safety, p.1 (1996).
27. AOAC International, Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual, 8th ed., Chapter 5, 10 (1995).
28. 이창수, 유영복, 오성종, 정태영, 류진창: DNA 다형성 분석에 의한 한우고기와 수입쇠고기의 육질판별, 농업과학논문집, **36**(1), 222 (1994).
29. 박용호: 낙농축산에서의 안전 축산물 생산 방안, 안전축산물 생산 실천 대책보고서 (1996).
30. 소비자 시대, 한국소비자보호원, (1997. 12월).