pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 31, No. 6, pp. 445~450 (2016)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2016.31.6.445

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

돈지육 및 돈육 중 열안정성 단백질의 존재 확인과 이의 항원성 확인

김정숙[1] · 이정은[1] · 심원보[2,3]*

[1]경상대학교 응용생명과학부, [2]경상대학교 농화학식품공학과, [3]경상대학교 농업생명과학연구원

Thermal Stable Soluble Proteins in Pork Fat and Meat, and Their Antigenicity

Jeong-Sook Kim[1], Jeong-Eun Lee[1], and Won-Bo Shim[2,3]*

[1]*Division of Applied Life Science, Graduate School, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 52828, Korea*
[2]*Department of Agricultural Chemistry and Food Science & Technology, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 52828, Korea*
[3]*Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 52828, Korea*
(Received August 30, 2016/Revised September 15, 2016/Accepted October 14, 2016)

ABSTRACT - Thermal-stable soluble proteins (TSSP) in livestock products has been recently reported. Therefore, the development of antibodies and immunoassay using a TSSP is useful because the presence of TSSP can be measured on processed food. In this study, the existence of TSSPs in pork fat and meat was confirmed and their antigenicity was investigated. The extracts from pork fat and meat by heating method were analyzed by SDS-PAGE with 5% stacking and 12% separating gels. The protein profiles from the raw pork fat and meat extracts (major band ranged 25 to 100 kDa) without cooking and heating treatments were significantly different compared to those from cooked and heated pork fat and meat extracts (several major bands > 100 kDa and < 30 kDa). This meant that non thermal-stable soluble proteins ranged from 25 to 100 kDa may be denaturated to insoluble proteins by cooking and heating treatments, and TSSPs were in pork fat and meat at kept their properties. The confirmed TSSPs were used as an immunogen to investigate their antigenicity. Eight mice (5 mice for pork fat and 3 mice for pork meat) were separately immunized with the TSSPs of pork fat and meat, and the anti-sera obtained from the immunized mice showed high titer values. Polyclonal antibodies against each target protein showed the specific reaction to pork fat and meat, individually. These indicated that TSSP could be used as an immunogen to produce antibodies such as monoclonal and polyclonal antibodies. In addition, antibodies specific to TSSP from pork fat and meat may be used as a bio-receptor in immunoassays for the identification of fraudulent adulteration with pork fat and meat in livestock products.

Key words: pork fat and meat, thermal-stable soluble protein, immunogen

최근 우리나라뿐만 아니라 전 세계적으로 경제적인 이득을 목적으로 주원료에 값싼 원료를 혼합사용하거나 표기사항을 허위로 표기하는 등의 불량식품 제조 발생건수가 증가하고 있다[1]. 식육을 원료로 하는 불량식품 사건의 대표적인 예로 우리나라에서는 소고기 육포 제조 시 돈육을 혼합하여 제조・판매한 사례가 있으며[2], 국외의 경우 유럽에서 유통되던 소고기 햄버거 패티에서 말고기와 돼지의 DNA가 검출되거나, 할랄 인증을 받은 초콜릿에서 돼지 DNA가 검출되어[3,4] 이슈화 된 사례가 있다. 이러한 종류의 불량식품은 할랄 식품의 섭취만 허용하는 무슬림들과 특정 육류에 대한 알러지가 있는 소비자들에게는 치명적인 문제를 야기 시킬 수 있기 때문에[5] 이러한 소비자들을 보호하기 위해서는 신속하고 정확하게 혼입여부를 확인할 수 있는 분석방법이 필요하다.

식육 및 식육가공식품에 함유된 식육의 종 분석을 위한 다양한 방법들이 개발되고 있으며, 특히 돈지육 및 돈육을 확인하기 위한 방법으로는 유전자를 기반으로 한 PCR법[6,7]과 LC/MS[8], FT-Raman spectroscopy[9], electronic nose[10] 등의 기기분석법이 주로 이용되고 있다. 최근 우리나라에서는 식육 및 식육가공품에서 돈육을 포함한 다양한 식육원료의 혼입여부를 판별할 수 있는 Real-time PCR법이 개발되어 분석 kit의 상용화를 준비하고 있다[11]. 하지만 이러한 방법들은 고가의 장비가 필요하고 시료전처리 및 분

*Correspondence to: Won-Bo Shim, Department of Agricultural Chemistry and Food Science & Technology, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 52828, Korea
Tel: 82-55-772-1902, Fax: 82-55-772-1909
E-mail: wbshim@gnu.ac.kr

석에 많은 시간이 소요되며, 실험실 내에서만 분석이 가능한 단점이 있어 현장에서 바로 사용이 가능하며 신속하고 간편한 간이 진단법의 개발이 필요하다. 대표적인 간이 진단법으로 항체를 기반으로 하는 면역분석 바이오센서를 들 수 있다. 다국적 진단키트 개발 기업에서는 현장 신속 분석을 위해 항체기반 면역크로마토그래피 strip kit를 개발하여 판매하고 있긴 하나 대부분이 돈육 진단용이며, 돈지육에 대해서는 돈육 진단 kit에 미치지 못하는 수준이다. 또한 국내에서는 이와 관련한 연구가 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다.

면역분석 바이오센서의 중요한 구성 요소 중 하나는 대상 물질을 인지하는 항체로, 축육 및 지방육의 경우 원료육 외에는 제품의 가공 시 대부분 열처리가 수반되어 원료육 내 단백질이 변성되기 때문에[11] 특이성 높은 바이오센서를 개발하기 위해서는 열처리가 이루어지더라도 축육 및 지방육을 인지할 수 있는 항체의 확보가 중요하다. 이러한 항체의 개발을 위해 열안정성 단백질의 존재를 확인한 연구결과들이 보고되고 있고[12,13,14], 더 나아가 일부 식육 및 부산물에 대해서는 열처리된 가공식품에서의 분석을 위해 조직 내 존재가 확인된 열안정성 단백질을 항원으로 한 항체 개발에 대한 연구가 보고되고 있다[15,16,17]. 본 연구에서는 돈지육과 돈육 조직 내에 존재하는 열에 안정한 수용성 단백질을 확인하고 이들의 최적 추출 조건을 확립하였다. 추가로 추출한 열안정성 수용성 단백질을 마우스에 면역하여 이들의 항원성과 생산된 다클론성(polyclonal) 항체의 특이성을 확인하였다.

Materials and Methods

돈지육 및 돈육 조직 내의 열안정성 수용성 단백질 추출

돈지육 및 돈육 조직 내에 존재하는 열안정성 수용성 단백질을 추출하기 위해 시료는 생(raw) 시료와 조리된(cooked) 시료로 구분하여 준비하였다. 생(raw) 시료의 경우 각 시료를 5 g 씩 칭량하여 유리 tube에 담아 준비하였고, 조리된(cooked) 시료의 경우 시료를 5 g 씩 칭량하여 유리 tube에 담은 후 중탕으로 15분간 가열하여 준비하였다. 단백질 추출은 Chen 등[18]의 방법을 변형하여 비열처리(non-heating)와 열처리(heating)를 통해 추출하였다. 비열처리(non-heating) 추출의 경우 준비된 시료에 0.5 M NaCl을 10 mL씩 첨가하여 30초간 강하게 진탕 혼합한 다음 실온에 15분간 방치하여 단백질을 추출하고, 원심분리관에 옮겨 담아 3, 220 × g 에서 15분간 원심분리 하였다. 열처리(heating) 추출의 경우 시료에 0.5 M NaCl을 10 mL씩 첨가하여 30초간 강하게 진탕 혼합한 다음 끓는 물에 중탕으로 15분간 가열하여 단백질을 추출하고, 추출 혼합액을 냉각시킨 다음 원심분리관에 옮겨 담아 3,220 × g 에서 15분간 원심분리 하였다. 원심분리된 상등액은 Whatman No. 4 filter paper (Whatman, Buckinghamshire, UK)를 사용하여 여과하고 Bradford protein assay dye (Bio-rad Laboratories Inc., Hercules, CA, U.S.A.) 용액을 사용하여 단백질을 정량한 다음 1 mg/mL의 농도가 되도록 조정하여 –20ºC에 보관하면서 실험에 사용하였다.

추출 버퍼에 따른 열안정성 수용성 단백질 추출효율 비교

추출 버퍼의 종류에 따라 시료에서 추출되는 열안정성 수용성 단백질량과 그 패턴을 비교하기 위해 0.5 M NaCl, carbonate buffer (pH 9.6), 25 mM TBS (pH 7.4), 20 mM Tris-HCl (pH 7.4) 및 0.05 M PBS (pH 7.4)를 추출 버퍼로 사용하여 비교하였다. 시료의 추출은 생(raw) 시료를 5 g 씩 칭량하여 각 추출 버퍼를 10 mL 첨가한 후 15분간 끓는 물에 중탕하는 방법으로 추출하였으며, 이를 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)와 protein assay를 실시하여 단백질 추출 효율을 비교하였다. 추가로 돈지육 및 돈육 조직을 비열처리(non-heating) 또는 열처리(heating) 법으로 추출한 추출액 내에 존재하는 단백질의 패턴과 열처리에 따른 패턴 변화를 비교하기 위하여 SDS-PAGE를 실시하였다. SDS-PAGE는 Laemmli의[19] 방법에 따라 5% stacking gel (pH 6.8)과 12% separating gel (pH 8.8)을 사용하였으며, 각 추출 시료와 sample loading buffer를 혼합한 용액 10 μL씩을 loading하여 150 V에서 90분간 전기영동을 실시하였다. 전기영동 후 gel은 EZblue^{TM}gel staining (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 용액으로 염색하고 증류수로 탈색하여 밴드형성 유무를 확인하였다.

열안정성 수용성 단백질의 항원성 확인

면역

돈지육 및 돈육의 조직에서 추출한 열안정성 수용성 단백질의 항원으로서의 사용 가능 여부를 확인하기 위해 마우스에 면역을 실시하였다. 추출한 각각의 열안정성 수용성 단백질을 면역 항원으로 하여 complete freund's adjuvant (Sigma)와 1:1(v/v)로 유화시켜 생후 7주된 암컷 BALB/C female mouse (Samtacobiokorea, Korea)에 마리당 100 μg/200 μL씩 복강에 주입하여 1차 면역을 실시하였다. 1차 면역 후 2주 간격으로 1차 면역과 동일한 면역원을 incomplete freund's adjuvant (Sigma)와 동량 혼합하여 2회 추가 면역을 실시하였다. 추가 면역 실시 후 마우스 꼬리 정맥에서 혈액을 1 μL씩을 채취하여 500 μL의 PBS 용액에 희석하여 이후 실험에 사용하였다.

항원성 확인을 위한 항혈청 역가측정

면역한 마우스에 대한 항체생성 여부는 indirect ELISA 법으로 확인하였다. 간략히 설명하면, 돈지육 및 돈육의

열안정성 수용성 단백질 추출물을 0.05 M phosphate buffer saline (PBS, pH 7.4)를 사용하여 5 μg/100 μL가 되도록 각각 희석하여 96 well microplate (Nunc Inc., Roskilde, Denmark)에 분주한 후 4°C에서 12시간 동안 코팅시킨 다음 0.05% Tween 20-PBS (PBST, pH 7.4)로 3회 세척하였다. 비특이적인 반응을 방지하기 위해 1% skim milk를 well당 200 μL씩 첨가하여 37°C에서 1시간 동안 blocking 시킨 후 PBST로 well을 4회 세척하였다. 세척된 well에 마우스 꼬리정맥에서 채혈한 혈액을 0.05 M PBS buffer로 1/500, 1/1,000, 1/5,000, 1/10,000, 1/50,000, 1:100,000배 희석하여 100 μL씩 분주하고, 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 다시 PBST로 5회 세척하였다. 이후 goat anti-mouse IgG-HRP conjugate (Sigma)를 1/4,000배 희석하여 100 μL씩 세척된 well에 분주하여 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 PBST로 6회 세척하였다. 마지막으로 기질용액인 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline- 6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS, Sigma)를 각 well에 100 μL씩 첨가하여 37°C에서 30분 반응시킨 다음 405 nm에서 흡광도를 측정하여 항체 생성 여부를 확인하였다.

생산된 다클론성(polyclonal) 항체의 특이성 확인

면역한 마우스의 심장으로부터 혈액을 100 μL 채취하여 원심분리(3,000 rpm, 15분) 한 후 혈청부분을 취하여 다클론성(polyclonal) 항체로 사용하였고, indirect ELISA법을 이용하여 특이성을 확인하였다. ELISA 분석은 앞서 설명한 항혈청 역가측정 방법과 동일한 방법으로 실시하였으며, 돈지육 혈청의 경우 돈지육, 소지방, 닭지방, 오리지방에 대해 반응성을 확인하였고, 돈육 혈청의 경우 돈육, 소고기, 닭고기, 오리고기에 대해 반응성을 확인하였다.

Results and Discussion

돈지육 및 돈육의 열안정성 수용성 단백질 확인

돈지육 및 돈육의 조직 내에 열안정성 수용성 단백질의 존재여부 확인을 위해 준비된 생(raw) 시료와 조리된(cooked) 시료를 비열처리(non-heating) 또는 열처리(heating)하여 단백질을 추출하였다. 각 추출액 내의 단백질 양을 측정하여 열안정성 수용성 단백질의 존재를 확인하였고, SDS-PAGE를 실시하여 추출된 단백질의 패턴을 비교하였다. 그 결과 Table 1 에서 보는 바와 같이 시료의 형태 및 추출방법에 따른 농도 차이는 있지만 돈지육 뿐만 아니라 돈육에서도 열안정성 수용성 단백질이 존재하는 것을 확인하였다. 생(raw) 시료를 비열처리(non-heating) 하여 추출하였을 때 단백질 농도가 가장 높은 것으로 확인되었고, 그 다음으로는 생(raw) 시료를 열처리(heating) 하여 추출한 경우였으며, 조리된(cooked) 시료의 경우 생(raw) 시료 보다 낮은 농도이기는 하나 단백질이 존재하는 것을 확인할 수 있었다. 시료에 한 번 이상의 열처리가 되었음에도 불구하고 수용성 단백질이 확인되는 것으로 볼 때 열에 안정한 수용성 단백질이 존재한다는 것을 알 수 있다. 또한 이들 단백질의 패턴을 확인하기 위해 SDS-PAGE를 실시한 결과 돈지육과 돈육 모두 생(raw) 시료를 비열처리(non-heating) 법으로 추출한 시료의 경우 25~100 kDa 사이의 단백질과 15 kDa 이하의 일부 단백질이 확인되었다. 반면 시료를 조리(cooked) 하거나 추출 시 열처리(heating)를 한 경우 돈지육에는 100 kDa 이상의 단백질과 70 kDa, 30 kDa 와 15 kDa 이하의 일부 단백질이 확인되었고, 돈육의 경우 100 kDa 이상과 30 kDa 이하의 단백질이 확인되었다(Fig. 1). 이러한 단백질 패턴은 Chen 등[12,18]의 연구에서 보고된 돈지육과 돈육의 열안정성 수용성 단백질 패턴과도 동일한 것으로 확인되었다. 전체적으로 열처리를 한 번도 하지 않은 시료와 비교해 볼 때 열처리가 한 번이라도 이루어진 시료에서도 일정량의 단백질이 존재하고, 단백질 패턴에도 차이가 있는 것으로 보아 돈지육및 돈육 조직 내에는 열에 안정한 수용성 단백질이 존재하는 것으로 판단된다.

Table 1. Concentration of soluble protein from raw and cooked pork fat and meat extracted by heating and non-heating methods

Samples	Protein concentration (mg/mL)			
	Non-heating extraction		Heating extraction	
	Raw	Cooked	Raw	Cooked
Pork fat	1.792	0.149	1.471	0.188
Pork meat	32.930	0.979	2.511	1.261

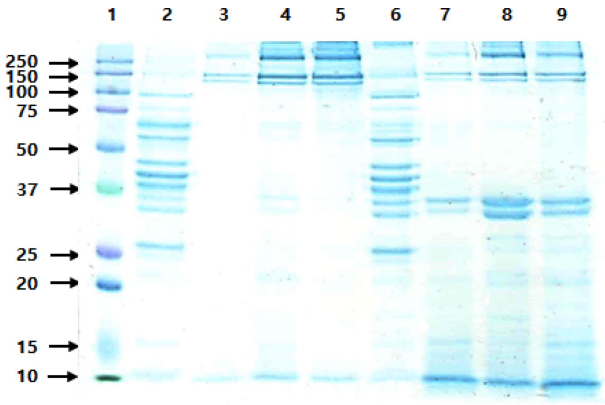

Fig. 1. SDS-PAGE pattern of pork fat and meat extracts using 0.5 M NaCl buffer. Lane 1: Marker, Lane 2: raw pork fat - non-heating extraction, Lane 3: cooked pork fat - non-heating method, Lane 4: raw pork fat - heating method, Lane 5: cooked pork fat - heating method, Lane 6: raw pork meat - non-heating method, Lane 7: cooked pork meat - non-heating method, Lane 8: raw pork meat - heating method, Lane 9: cooked pork meat - heating method.

Table 2. Concentration of soluble protein from raw pork fat and meat extracted by heating method with different buffers

Extract buffers	Concentration of protein (mg/mL)	
	Pork fat	Pork meat
0.5M NaCl	1.354	2.355
Carbonate buffer (pH 9.6)	5.206	3.949
25 mM TBS (pH 7.4)	0.273	0.823
20 mM Tris-HCl (pH 7.4)	0.182	0.268
0.05M PBS (pH 7.4)	1.900	2.042

버퍼에 따른 열안정성 단백질 추출 효율 비교

일반적으로 단백질 추출 및 반응 용액으로 사용되는 버퍼를 이용하여 열안정성 단백질을 각각 추출하였고, 그 추출 효율을 비교 분석하였다. 즉, 추출버퍼 carbonate buffer (pH 9.6), 0.05 M PBS (pH 7.4), 0.5 M NaCl, 25 mM TBS (pH 7.4) 및 20 mM Tris-HCl (pH 7.4)를 이용하여 앞서 설명한 방법으로 열안정성 단백질을 추출하였으며, 단백질 정량 및 SDS-PAGE를 이용하여 분석한 결과 Table 2에서 보는바와 같이 돈지육과 돈육 모두 carbonate buffer (pH 9.6)로 추출하였을 때 가장 많은 단백질이 추출되는 것으로 확인되었고, 그 다음으로는 돈지육의 경우 0.05 M PBS (pH 7.4), 0.5 M NaCl 순으로, 돈육의 경우 0.5 M NaCl, 0.05 M PBS (pH 7.4) 순으로 추출량이 많았다. 단백질의 패턴은 추출 버퍼에 따른 차이는 없는 것으로 확인되었다(Fig. 2). 추출되는 단백질의 양을 비교하였을 때는 carbonate buffer (pH 9.6)가 가장 효과적인 것으로 확인되었으나, 열안정성 수용성 단백질을 이용하여 항체를 개발한 연구들에서는 주로 NaCl 또는 PBS를 사용하여 단백질을 추출하였으며, 특히 돈육의 경우에는 NaCl을 사용하여 단백질을 추출한 것으로 보고되고 있어[12,16,17,18] 본 연구에서는 0.5 M NaCl로 추출된 열안정성 수용성 단백질의 추출액을 이후 실험에 사용하였다. 그러나 차후 열안정성 단백질의 항체 개발과 이를 이용한 면역분석법 개발에 따른 시료 전처리법 확립에 있어서는 추출 효율이 가장 높은 carbonate buffer (pH 9.6)의 이용이 기대된다.

열안정성 수용성 단백질의 항원으로 활용가능성 확인

돈지육 및 돈육으로부터 추출한 열안정성 수용성 단백질이 항원으로서의 활용 가능성을 확인하기 위해 마우스에 3차례 각각 면역시킨 후 마우스의 꼬리정맥에서 1 μL의 혈액을 채취하여 indirect ELISA법으로 항혈청 역가를 측정하였다. 그 결과 대조군 마우스와 비교하여 돈육 열안정성 수용성 단백질로 면역한 마우스의 경우 높은 흡광도 값을 나타내는 것을 통해 항체를 생성하는 것을 알 수 있었다. 또한 돈지육의 열안정성 수용성 단백질로 면역한 마우스의 경우도 대조군과 비교하여 모두 항혈청 역가가 높은 것으로 확인되었다(Fig. 3). 이전의 연구결과에서 열처리를 통해 추출한 열안정성 수용성 단백질을 항원으로 사용하여 항체를 개발한 연구가 다양하게 보고되고 있는 것을 볼 때[15,16,17,18] 본 연구에서 추출된 돈지육 및 돈육 조직 내에 존재하는 열안정성 수용성 단백질은 바이오리셉터로 잘 알려진 항체를 생산하는데 항원으로 사용이 가능한 것으로 판단된다.

생산된 다클론성(polyclonal) 항체의 특이성 확인

돈지육과 돈육의 열안정성 수용성 단백질을 각각 면역한 마우스의 혈청으로부터 얻은 다클론성(polyclonal) 항체의 특이성을 확인한 결과는 Fig. 4와 같이 나타났다. 돈지육에 대한 다클론성(polyclonal) 항체는 돈지육에, 돈육에 대한 다클론성 항체는 돈육에 특이적으로 반응하였고, 다른 축육과 지방육에도 교차반응을 하는 것으로 확인되었으나 그 반응성은 비교적 낮은 것으로 확인이 되었다. 현

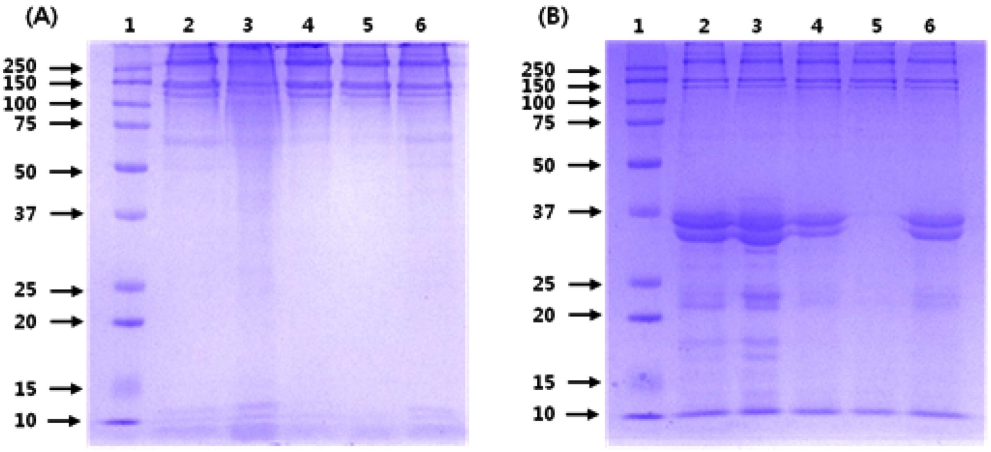

Fig. 2. SDS-PAGE pattern of pork fat (A) and meat (B) extracts with various different buffers. Lane 1: Maker, Lane 2: 0.5M NaCl, Lane 3: Carbonate buffer (pH 9.6), Lane 4: 25 mM TBS (pH 7.4), Lane 5: 20 mM Tris-HCl (pH 7.4), Lane 6: 0.05 M PBS (pH 7.4).

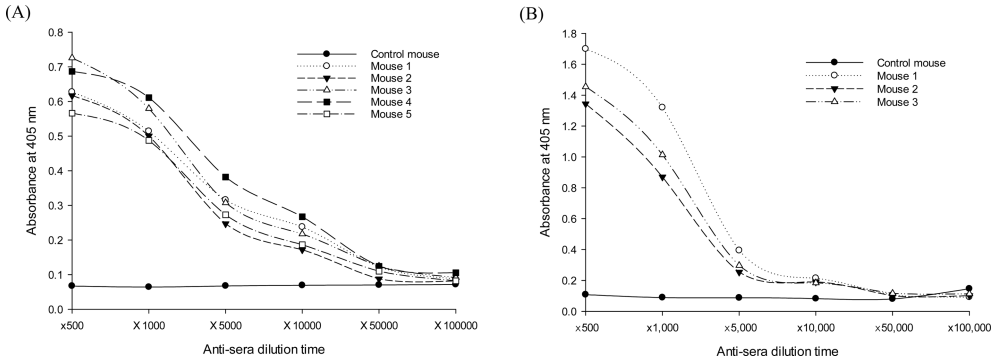

Fig. 3. Anti-sera titration for immunized mice with pork fat (A) and pork meat extracts (B) by the indirect ELISA.

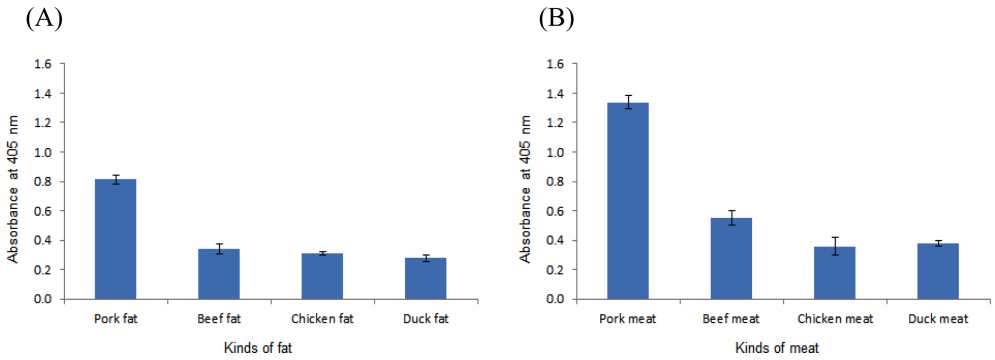

Fig. 4. Specificity of polyclonal antibodies against pork fat (A) and pork meat (B) to other meat and fat samples.

재 식품 중 돈육을 분석하기 위한 특이 항체 및 분석용 kit는 개발되어 시판되고 있으나 돈지육의 경우 시판되고 있는 항체 및 kit가 거의 없다. 또한 시판되고 있는 돈육 분석용 kit의 경우도 열처리 된 가공 식품의 분석에는 한계가 있다. 따라서 본 연구에서 확인된 돈지육과 돈육에 존재하는 열안정성 수용성 단백질을 마커로 사용한다면 돈지육과 돈육에 대한 다클론성(polyclonal) 항체 뿐만 아니라 보다 높은 특이성을 가지는 단클론성(monoclonal) 항체 또한 개발이 가능할 것으로 판단된다. 이렇게 개발된 항체는 돈지육과 돈육이 의도적으로 혼입된 식품 및 열처리 가공식품에서 이들을 효과적으로 분석하는데 이용되어 소비자들을 보호하는데 기여할 것이다.

Acknowledgement

본 연구는 농림축산식품부 수출전략기술개발사업 및 산업통상자원부 산업융합기술산업핵심기술개발사업 (과제번호 1060155, 금속 나노패턴 센서 기반 식품유해화학물질 현장 정량검사기기 제품화 기술개발)에 의해 이루어진 것임.

국문요약

본 연구에서는 돈지육 및 돈육 조직 내에 열안정성 수용성 단백질의 존재 여부를 확인하고 항체 생산에 있어 항원으로의 사용 가능 여부를 확인하고자 하였다. 이를 위해 돈지육 및 돈육을 생(raw) 시료와 조리된(cooked) 시료로 구분하여 비열처리 및 열처리법으로 단백질을 추출한 후 단백질 존재여부를 단백질 정량과 SDS-PAGE로 확인하였다. 그 결과 돈지육과 돈육 모두 생 시료를 비열처리법으로 추출한 시료의 경우 25~100 kDa 사이의 다양한 단백질이 확인된 반면 시료를 가열하거나 추출 시 열처리를 한 경우 돈지육에는 100 kDa 이상의 단백질과 30 kDa 및 15 kDa 이하의 일부 단백질이, 돈육에는 100 kDa 이상과 30 kDa 이하의 단백질이 확인되어 돈지육과 돈육에 열안정성 수용성 단백질이 존재하는 것으로 확인되었다. 이들 열안정성 수용성 단백질을 마우스에 면역 후 항혈청 역가를 측정한 결과 면역한 모든 마우스에서 높은 역가를 나타내었고, 생산된 혈청은 돈지육과 돈육에 각각 특이적인 반응성을 보인 반면 다른 축육과 지방육에 대해서는 반응성이 상대적으로 낮았다. 이러한 연구결과를 볼 때 돈지육 및 돈육에 존재하는 열안정성 수용성 단백질이 돈지육과 돈육에 특이적으로 반응하는 항체를 개발하는데 유용한 마커로서 활용이 가능하며, 열안정성 수용성 단백질에 대한 항체개발은 열처리된 축육 가공품 중 돈지육 및 돈육의 분석에도 매우 유용하게 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

References

1. MFDS, A study for quantitative analysis method of meat and meat products. *research report* (2013).
2. Available from http://www.mt.co.kr/view/mtview.php?type=1&no=2011070512384035352 &outlink=1, Accessed Jul. 14 (2016).
3. Available from http://www.foodsafetynews.com/2013/02/uk-stepping-up-hunt-for-horse-pig-dna-in-the-beef/#.V4eWXIaweUk, Accessed Jul. 14 (2016).
4. Available from http://www.foodsafetynews.com/2014/05/recall-pork-nda-traces-found-incadbury-chocolate-in-malaysia/#.V4eWvYaweUk, Accessed Jul. 14 (2016).
5. Heo, E.J., Ko, E.K., Seo, K.H., Kim, Y.J., Park, H.J., Wee, S.H. and Moon, J.S.: Validation of PCR and ELISA test kits for identification of domestic animal species in raw meat and meat products in Korea. *J. Fd Hyg. Safety,* **29**, 158-163 (2014).
6. Soares, S., Amaral, J.S., Mafra, I. and Oliveira, M.B.P.: Quantitative detection of poultry meat adulteration with pork by a duplex PCR assay. *Meat Sci*., **85**, 531-536 (2010).
7. Aida, A.A., Man, Y.C., Wong, C.M.V.L., Raha, A.R. and Son, R.: Analysis of raw meats and fats of pigs using polymerase chain reaction for Halal authentication. *Meat Sci*., **69**, 47-52 (2005).
8. Aristoy, M.C. and Toldra, F.: Histidine dipeptides HPLC-based test for the detection of mammalian origin proteins in feeds for ruminants. *Meat Sci*., **67**, 211-217 (2004).
9. Abbas, O., Pierna, J.F., Codony, R., Von Holst, C. and Baeten, V.: Assessment of the discrimination of animal fat by FT-Raman spectroscopy. *J. Mol. Struct.,* **924**, 294-300 (2009).
10. Man, Y.C., Gan, H.L., NorAini, I., Nazimah, S.A.H. and Tan, C.P.: Detection of lard adulteration in RBD palm olein using an electronic nose. *Food Chem*., **90**, 829-835 (2005).
11. Kim, K.H., Kim, M.R., Park, Y.E., Kim, Y.S., Lee, H.Y., Park, Y.C., Kim, S.Y., Choi, J.D. and Jang, Y.M.: Detection and differentiation of intentional and unintentional mixture in raw meats using real-time PCR. *J. Fd Hyg. Safety*, **29**, 340-346 (2014).
12. Chen, F.C. and Hsieh, Y-H.P.: Porcine troponin I: a thermostable species marker protein. *Meat Sci*., **61**, 55-60 (2002).
13. Ofori, J.A. and Hsieh, Y-H.P.: Characterization of a 12 kDa thermal-stable antigenic protein in bovine blood. *J. Food Sci*., **76**, C1250-C1256 (2011).
14. Ofori, J.A. and Hsieh, Y-H.P.: Characterization of a 60-kDa thermally stable antigenic protein as a marker for the immunodetection of bovine plasma-derived food ingredients. *J. Food Sci*., **80**, C1654-C1660 (2015).
15. Hsieh, Y-H.P., Ofori, J.A., Rao, Q. and Bridgman, R.C.: Monoclonal antibodies specific to thermostable proteins in animal blood. *J. Agric. Food Chem.,* **55**, 6720-6725 (2007).
16. Hsieh, Y-H.P. and Ofori, J.A.: Detection of horse meat contamination in raw and heat-processed meat products. *J. Agric. Food Chem*., **62**, 12536-12544 (2014).
17. Nhari, R., Hafidz, R.M., Hamid, M., Rasli, N.M., Omar, A.R., Sheikha, E. and Mustafa, S.: Monoclonal antibodies specific to heat-treated porcine blood. *J. Sci. Food Agric*., **96**, 2524-2531 (2015).
18. Chen, F.C., Hsieh, Y-H.P. and Bridgman, R.C.: Monoclonal antibodies to porcine thermal-stable muscle protein for detection of pork in raw and cooked meats. *J. Food Sci*., **63**, 201-205 (1998).
19. Laemmli, U. K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680-685 (1970).