

유전자재조합 콩 MON87708
안전성평가자료 심사결과 보고서

2013. 10. 2.

식품의약품안전처
유전자재조합식품등 안전성평가자료 심사위원회

〈차례〉

1. 요약	1
2. 심사경위	2
3. 심사경과	2
4. 심사방법	2
5. 심사 신청 자료 검토	3
5-1. 심사 신청된 식품의 개요	3
5-2. 식품으로의 적합성 검토	3
5-3. 유전자재조합체의 안전성	3
가. 유전자재조합체의 개발목적 및 이용방법에 관한 자료	3
나. 숙주에 관한 자료	3
(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)	3
(2) 재배 및 품종개량의 역사	3
(3) 기지의 독소 또는 알레르기 유발성	4
(4) 안전한 식경험의 유무	4
다. 공여체에 관한 자료	4
(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)	4
(2) 안전한 식경험의 유무	4
(3) 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성(미생물의 경우 병원성 및 기지의 병 원체와의 관련성)	4
라. 유전자재조합에 대한 자료	5
(1) 형질전환 과정에 대한 정보	5
(2) 도입 유전자에 대한 정보	6
마. 유전자재조합체의 특성에 관한 자료	8
(1) 유전자재조합체 내 도입된 유전자에 관한 정보	8
(2) 유전자산물에 관한 정보	10
(3) 독성	12
(4) 알레르기성	13
(5) 숙주와의 차이	14
(6) 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향(숙주가 함유한 고유의 성분을 기질로 하여 반 응할 가능성)	16
(7) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황	16
6. 심사 신청 자료 검토 결과	16
7. 기타	17

유전자재조합 콩 MON87708

안전성평가자료 심사결과 보고서

1. 요약

몬산토코리아(유)는 유전자재조합 콩 MON87708을 식품의약품안전처에 안전성 심사를 신청하였고, “유전자재조합식품등 안전성평가자료 심사위원회”는 「유전자재조합식품등의 안전성평가 심사등에 관한 규정」에 따라 안전성 심사를 수행하였다.

MON87708은 일반 콩에 *S. maltophilia* strain 유래 *dmo* 유전자가 아그로박테리움법으로 도입되어 만들어진 다. 도입된 유전자에 의해 DMO 단백질이 생성되며, DMO 단백질은 디캄바(dicamba) 제초제에 대한 내성을 가지게 한다.

MON87708은 한 개의 *dmo* 유전자가 도입되었으며, 도입된 유전자가 5세대에 걸쳐 안정적으로 유지되는 것이 확인되었다.

DMO 단백질의 아미노산 서열과 이미 알려진 독소 및 항영양소의 아미노산 서열을 각각 TOX_2010 데이터베이스를 이용하여 생물정보학적으로 비교분석한 결과, 서열 상동성이 없는 것으로 확인되었다. 또한 DMO 단백질로 각각 마우스(mouse) 단회투여독성(140 mg/kg 체중/일)을 평가한 결과 독성이 없는 것으로 확인되었으며, 랫드(rat)에서 MON87708을 식이 중 최대 30%(w/w)의 농도로 90일 반복투여독성을 평가한 결과에서도 독성이 없는 것으로 확인되었다.

DMO 단백질의 아미노산 서열과 이미 알려진 알레르겐 아미노산 서열을 FARRP 2010(Food Allergy Research and Resource Program) 알레르겐 데이터베이스를 이용하여 생물정보학적으로 비교 분석한 결과, 80개 이상의 아미노산 절편에서 35% 이상의 상동성을 보이는 서열은 없었으며, 8개씩의 인접 아미노산과 일치하는 서열도 확인되지 않았다.

MON87708과 일반 콩의 주요영양성분, 미량영양성분, 항영양소 등의 함량을 비교한 결과 통계적 또는 생물학적으로 차이가 없었다. 또한 MON87708을 42일 동안 육계에 먹였을 때에도 일반 콩과 비교하여 영양성에 차이가 없다는 것이 확인되었다.

결론적으로, MON87708은 지금까지 식품으로 섭취해온 콩과 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

2. 심사경위

- 몬산토코리아(유)는 dicamba(3,6-dichloro-2-methoxybenzoic acid) 제초제에 내성을 나타내는 유전자재조합 콩 MON87708에 대해 식품위생법 제18조에 따른 안전성 평가 심사를 받기 위하여 2011년 2월 23일 식품의약품안전처에 「유전자재조합 식품등의 안전성평가심사등에 관한규정」(이하 ‘심사규정’이라고 함)에 규정한 관련 자료를 첨부하여 심사 신청하였다.
- 이에 식품의약품안전처장은 본 제품이 심사규정에 따라 안전성 평가가 이루어졌는지 여부에 대하여 '유전자재조합식품등 안전성평가자료 심사위원회' (이하 ‘심사위원회’라고 함)에 검토 의뢰하고,
- 심사위원회는 신청인이 제출한 자료에 근거하여 아래와 같이 심사규정에 따라 안전성평가가 이루어졌는지 여부를 확인하였다.

3. 심사경과

○ 심사대상품목

대상품목	신청자	개발자	제외국의 안전성 승인 현황
유전자재조합 콩 MON87708	몬산토코리아(유)	Monsanto company	미국(2011), 호주/뉴질랜드(2012)

○ 심사경과

- 2011년 2월 23일 : 안전성 평가자료 심사신청
- 2011년 2월 24일 : 심사위원회 서류심사 의뢰
- 2011년 7월 26일 : 1차 심사위원회 개최
- 2012년 1월 17일 : 2차 심사위원회 개최
- 2012년 7월 17일 : 3차 심사위원회 개최
- 2013년 1월 15일: 4차 심사위원회 개최
- 2013년 3월 19일: 5차 심사위원회 개최
- 2013년 5월 21일: 6차 심사위원회 개최
- 2013년 8월 20일: 7차 심사위원회 개최
- 2013년 9월 11일~ 10월 1일 공개의견 수렴

4. 심사방법

- 본 품목과 관련하여 심사 의뢰된 유전자재조합체가 심사규정의 적용대상인지를 검토하고,

- 제출된 안전성 평가자료가 심사규정에서 요구하는 자료를 갖추었는지를 확인한 후 자료의 내용을 토대로 안전성 평가자료를 심사한다.

5. 심사 신청 자료 검토

5-1. 심사 신청된 식품의 개요

- 몬산토코리아(유)에서 심사 신청한 유전자재조합 콩 MON87708은 *dmo* 유전자를 가져 제초제인 디캄바(dicamba)에 내성을 나타낸다.

5-2. 식품으로의 적합성 검토

- 본 품목과 관련하여 제출된 안전성 평가자료가 심사규정 제12조에서 요구하는 자료를 만족시키는지 여부를 검토하였으며,
- 자료의 내용을 토대로 다음과 같이 식품으로서의 안전성이 확보되어 있는 지를 심사하였다.

5-3. 유전자재조합체의 안전성

가. 유전자재조합체의 개발목적 및 이용방법에 관한 자료

- 몬산토코리아(유)는 제초제 디캄바에 내성을 나타내도록 DMO 단백질을 발현하는 유전자재조합 콩 MON87708을 개발하였다.
- 재배방법 및 이용방법은 기존의 일반 콩과 동일하다.

나. 숙주에 관한 자료

(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)

- 종(Species): *max* (L.) Merr.
- 속(Genus): *Glycine* Willd.
- 과(Family): Fabaceae

(2) 재배 및 품종개량의 역사

- 콩의 원산지는 중국이며, 기원전 11세기 무렵 주 시대에 이미 콩이 재배되고 있었다고 알려지고 있다(OECD, 2000). 콩의 재배는 서기 1세기에서 15~16세기까지 동아시아의 다른 지역으로 전파되었으며, 토속 품종이 개발되었다(Hymowitz and Newell, 1981).
- 콩은 35개국 이상에서 상업적 작물로 재배되고 있다(OECD, 2000). 주요 콩 생산국은 미국, 브라질, 아르헨티나, 중국, 인도로 2008/2009년 이들 국가에서 생산된 콩은 세계 콩 생산량의 약 91%를 차지하였다(Soyatech, 2009).

(3) 기지의 독성 또는 알레르기 유발성

- 가공하지 않은 콩은 렉틴(lectin), 트립신 저해제(trypsin inhibitor) 등 항영양소 등이 포함되어 있기 때문에(OECD, 2001) 적당한 열처리 가공이 요구된다.
- 콩은 과민한 사람에게는 부작용을 일으킬 수 있는 알레르기 유발 단백질을 함유한다고 보고되었다(OECD, 2001).

(4) 안전한 식경험의 유무

- 콩은 식용유, 두부, 간장, 두유, 육류 제품 등 다양한 식품에서 사용되고 있다. 특히 콩기름의 경우 세계적으로 소비되는 전체 식물성유의 약 30%를 차지하며, 시장점유율이 약 32%인 팜유에 이어 전세계적으로 두 번째로 큰 식물성유의 공급원이다(The American Soybean Association, 2008).

다. 공여체에 관한 자료

(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)

- 종(Species): *maltophilia*
- 속(Genus): *Stenotrophomonas*
- 과(Family): Xanthomonadaceae
- 학명(Scientific name): *S. maltophilia* strain DI-6

(2) 안전한 식경험의 유무

- *S. maltophilia*는 직접적으로 식용으로 이용된 적은 없다. 그러나 *S. maltophilia*는 보편적으로 식물과 관련되며, 밀, 옥수수, 풀, 근대, 오이, 치커리, 감자, 딸기, 사탕수수, 유채 등의 근권(rhizosphere)에서 분리되었다. 따라서 *S. maltophilia*는 다양한 식품과 사료에서 발견될 수 있다.
- *S. maltophilia*는 가정 환경에서도 널리 분포되어 있으며, 식기세척기, 스펀지, 칫솔, 꽃, 식물, 과일, 채소, 냉동 생선, 우유, 가금류에서 발견될 수 있다.

(3) 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성(미생물의 경우 병원성 및 기지의 병원체와의 관련성)

- *S. maltophilia*는 위장관의 토착세균과 마찬가지로 기회감염균이기 때문에, 면역결여증 환자에게는 낮은 병원성을 가질 수 있으나, 건강한 개체내에서도 인체 무해한 상태로 발견이 가능하다. 또한 *S. maltophilia*의 알레르기 유발성과 관련된 보고는 없다.

라. 유전자재조합에 대한 자료

(1) 형질전환 과정에 대한 정보

(가) 형질전환방법 (아그로박테리움법, 입자충법, 원형질체법 등)

- 아그로박테리움법을 사용하였다.

(나) 재조합에 사용된 벡터에 대한 정보

1) 기원

- 플라스미드 벡터 PV-GMHT4355는 Vector E의 *NotI* 제한효소 절편을 Vector F의 *NotI* 제한효소 자리에 삽입함으로써 만들어졌다. Vector E의 *dmo* 발현카세트(*NotI* 제한효소 절편)가 존재하며, Vector F에는 *cp4 epsps* 발현카세트 및 backbone인자들이 포함되어 있다.

2) 숙주에서의 확인

- 플라스미드 벡터 PV-GMHT4355에는 좌측경계영역과 우측경계영역에 의해 각각 구획된 T-DNA가 2개 포함되어 있으며, 각각의 T-DNA에는 하나씩의 유전자 카세트가 존재한다.

T-DNA I : *dmo* 유전자 카세트

T-DNA II : *cp4 epsps* 유전자 카세트

- 형질전환체를 선발한 후, 선발표지를 인코딩하는 T-DNA II의 *cp4 epsps* 유전자 카세트는 전통적인 육종법과 유전자 선발과정을 통해 분리되어 없어지고, MON87708에는 *dmo* 유전자 발현카세트는 유지된다. 삽입된 DNA 서열은 상응하는 재조합 플라스미드 DNA 서열과 동일함을 확인하였다.

3) 숙주에서의 기능

- *dmo* 유전자는 DMO 단백질 및 DMO+ 27 단백질로 분리되는 두 가지 형태의 dicamba mono-oxygenase(DMO) 단백질로 번역 후 과정이 진행되는 DMO 전구단백질을 발현한다.
- 디캄바 제초제에 내성을 나타내는 단백질의 활성 형태는 3개의 단량체로 이루어진 삼합체로서, 구성은 DMO 단백질 및 DMO+ 27 단백질, 또는 이들의 결합으로 이루어진다.
- *cp4 epsps* 유전자는 MON87708에 존재하지 않는다. 이 유전자는 형질전환 과정에서 선발표지로서 사용되었으나, 관행육종법에 의해 분리.제거되었다.

(다) 중간숙주에 대한 정보

- 무력화된 *Agrobacterium tumefaciens* 계통이 중간숙주로 사용되었다.

(라) 전달성에 관한 정보

- 플라스미드 벡터 PV-GMHT4355에는 숙주 이외의 다른 생물체로 스스로 이동될 수 있는 전달성과 관련된 유전자를 포함하고 있지 않다.

(2) 도입 유전자에 대한 정보

(가) 구성 유전자의 특성

1) 선발 표지 유전자

- *cp4 epsps* : *A. tumefaciens* strain CP4의 *aroA* 유전자 서열에서 유래되어 합성된 것이다. *cp4 epsps* 유전자는 CP4 EPSPS 단백질을 암호화하며 글리포세이트에 대한 내성을 부여한다.
이 유전자는 MON87708 생성을 위한 형질전환 과정에서 형질전환 표지유전자로 사용되었으나, R₁ 세대에서 관행육종법에 의해 분리, 제거되었다.

2) 조절인자

- *dmo* 유전자 발현카세트에는 peanut chlorotic streak caulimovirus에서 유래한 프로모터 및 tobacco etch virus에서 유래한 5'비번역영역(리더), *pea*(*Pisum sativum*) *RbcS* 유전자의 엽록체 표적서열과 성숙단백질의 처음 24개 아미노산, *pea*에서 유래한 3'비번역영역이 사용되었다.
- *cp4 epsps* 유전자 발현카세트에는 figmora mosaic virus에서 유래한 프로모터 및 *Petunia hybrida*에서 유래한 5'비번역영역(리더), *Arabidopsis thaliana shkG* 유전자의 엽록체 표적서열, *pea*에서 유래한 3'비번역영역이 사용되었다.

3) 기타 DNA 기능에 영향을 미치는 요인

- 삽입유전자의 발현과 관련된 인자 이외의 다른 염기 서열은 삽입되지 않았다.

(나) 크기 및 명칭

- 플라스미드 벡터 PV-GMHT4355로 통합된 개별 유전인자의 크기와 명칭은 [표 1]과 같다.

[표 1] PV-GMHT4355 플라스미드 벡터의 주요 구성 요소

명칭	벡터 내 위치	기능
T-DNA I (Present in MON87708)		
RB	8290-8646	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 에서 유래하여 T-DNA의 transfer에 관여하는 염기서열부분
<i>PC1SV</i> - promoter	8692-9124	peanut chlorotic streak caulimovirus Full-Length Transcript(FLt)의 프로모터
<i>TEV</i> - leader	9145-9276	Tobacco Etch virus 계통에서 유래한 5' NTR(non-translated region)
<i>RbcS</i> - targeting sequence	9278-9520	<i>Pisum sativum RbcS</i> 유전자의 염록체 표적서열 및 성숙한 단백질의 처음 24개 아미노산을 포함하는 염기서열
<i>dmo</i> - coding sequence	9530-10552	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 에서 유래한 dicamba mono-oxygenase를 암호화하는 서열
<i>E9</i> - terminator	10621-11263	<i>Pisum sativum RbcS2</i> 유전자로부터 유래한 3' NTR
LB	1-442	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 에서 유래하여 T-DNA의 transfer에 관여하는 염기서열부분
T-DNA II (Not present in MON87708)		
LB	4385-4795	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 에서 유래하여 T-DNA의 transfer에 관여하는 염기서열부분
<i>E9</i> - terminator	4810-5452	<i>Pisum sativum RbcS2</i> 유전자로부터 유래한 3' NTR
<i>cp4 epsps</i> - coding sequence	5459-6826	<i>Agrobacterium</i> sp. strain CP4에서 CP4 EPSPS 단백질을 암호화하는 <i>aroA</i> 유전자의 codon-optimized 암호 서열
<i>CTP2</i> - targeting sequence	6827-7054	<i>Arabidopsis thaliana shkG</i> 유전자의 염록체 표적서열을 암호화하는 염기서열
<i>DnaK</i> - leader	7064-7159	<i>Petunia hybrida Hsp70</i> 유전자로부터 유래한 5' NTR
<i>FMV</i> - promoter	7163-7714	figwort mosaic virus 35S RNA의 프로모터
RB	7762-8118	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 에서 유래하여 T-DNA의 transfer에 관여하는 염기서열부분

(다) 완성된 벡터내의 유전자 염기서열의 위치 및 방향성

- 벡터 PV-GMHT4355내 유전인자의 위치 및 방향성은 [그림 1]과 같다.

(라) 구성 유전자의 기능

- *dmo* 유전자는 DMO 전구단백질을 암호화하며, 3개의 DMO 단량체로 구성된

삼합체(활성형태)를 형성하여 디캄바 제초제에 내성을 나타낸다.

(마) 유해염기서열의 유무

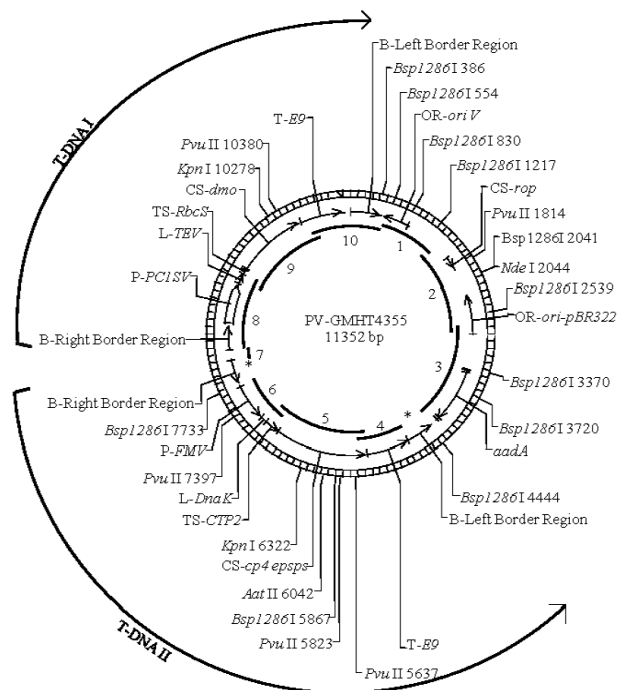
- 유해염기서열은 존재하지 않는다.

(바) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현가능성

- 목적으로 하는 DMO 단백질의 발현과 관련된 서열 이외의 전사 및 발현가능성이 있는 새로운 외래전사해독프레임이 존재하지 않는 것으로 나타났다.

(사) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입 (유전자의 순도)

- 목적하는 유전자 이외의 유전자는 혼입되지 않았다.



[그림 1] PV-GMHT4355의 유전자 위치 및 제한효소 위치

마. 유전자재조합체의 특성에 관한 자료

(1) 유전자재조합체 내 도입된 유전자에 관한 정보

(가) 유전자재조합체의 계놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

- 유전자재조합 콩 MON87708에 도입된 *dmo* 유전자는 DMO 단백질을 발현하여 디캄바 제초제에 내성을 나타낸다.

(나) 삽입부위의 수

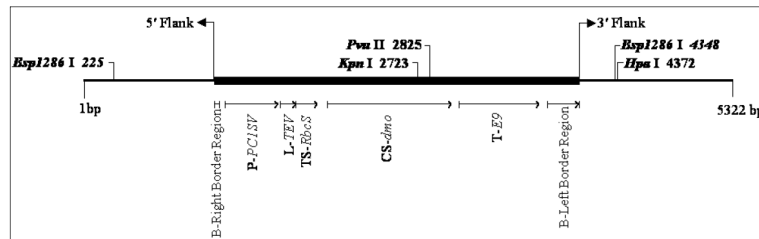
- MON87708에는 단일 유전자 자리에 한 개의 *dmo* 유전자 카세트가 삽입되어

있는 것이 확인되었다.

(다) 각 삽입부위의 삽입유전자의 구성

1) 복제수, 염기서열(주변염기서열 포함)

- 서던분석(Southern blot) 결과, MON87708의 게놈에는 한 개의 *dmo* 유전자 카세트가 도입되었음이 확인되었다.
- 아래의 [그림 2]는 유전자재조합 콩 MON87708 안에 플라스미드 삽입 유전자의 모식을 나타내고 있다.



[그림 2] 유전자재조합 콩 MON87708에서 삽입유전자의 모식도

2) 기지의 독성이나 항영양소를 암호화하는 유전자가 없음을 입증하는 자료

- 기지의 독성물질이나 항영양소를 암호화하는 것으로 알려진 유전인자는 유전자재조합 콩 MON87708의 삽입 DNA에 존재하지 않는다.

(라) 삽입유전자 및 인접하는 숙주 게놈 유전자의 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현가능성

- MON87708 삽입유전자의 5' 및 3' 말단과 콩 내재 유전자 사이 접합부에서 종결코돈에서 종결코돈까지의 검색에 의해 잠재적인 외래전사해독프레임(ORF)은 20개가 확인되었으나, 동 ORF는 프로모터 또는 개시코돈이 존재하지 않아 발현가능성이 희박하며, 발현되더라도 이미 알려진 알레르겐 및 독소와 상동성이 없는 것으로 확인되었다.

(마) 안정성에 관한 사항

1) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

- MON87708에 존재하는 삽입 DNA의 안정성을 평가하기 위해 MON87708 DNA를 사용하여 5세대(R₂, R₃, R₄, R₅, R₆)에 걸친 서던분석(Southern blot)을 실시한 결과, 5세대에 걸쳐 MON87708의 삽입 DNA가 유지됨이 확인되었다.

2) 복수세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- MON87708 잎에서의 DMO 단백질과 DMO+ 27 단백질을 웨스턴분석

(Western blot)으로 확인한 결과, 발현 단백질은 5세대(R₂, R₃, R₄, R₅, R₆)에 걸쳐 안정적으로 발현됨이 확인되었다.

(2) 유전자산물에 관한 정보

(가) 유전자산물의 화학적 성질 (단백질이나 전사되지 않은 RNA)

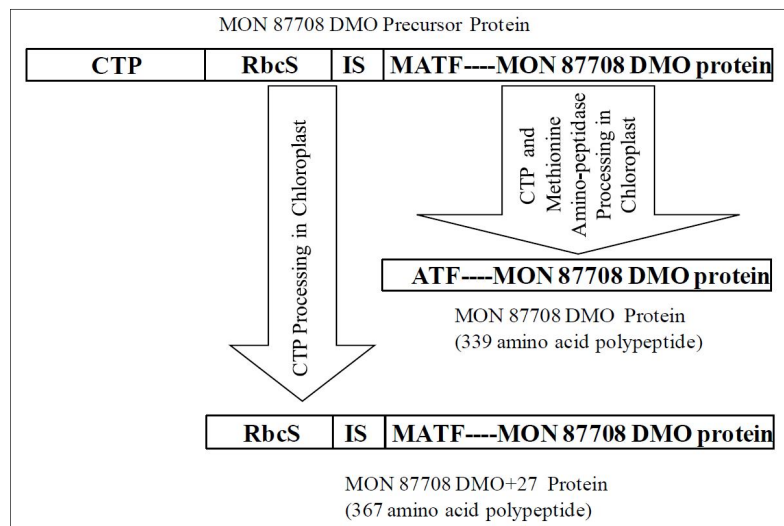
- MON87708에 도입된 *dmo* 유전자는 엽록체에서 활성화되기 때문에 엽록체 이동서열이 추가되었다. 그로인해 생산되는 DMO 전구단백질은 DMO 단백질서열, 엽록체 이동서열, 매개서열(intervening sequence)을 포함한다.
- 본 전구단백질은 엽록체 이동후의 변형 과정을 통하여 다음과 같은 두가지 형태의 단백질로 나뉘게 된다 [그림 3].

1) DMO 단백질 (339개 아미노산, 약 39.8kDa의 분자량)

: DMO 단백질서열만 포함

2) DMO+ 27 단백질 (367개의 아미노산, 약 42kDa의 분자량)

: DMO 단백질서열, 엽록체 이동서열, 매개서열 포함

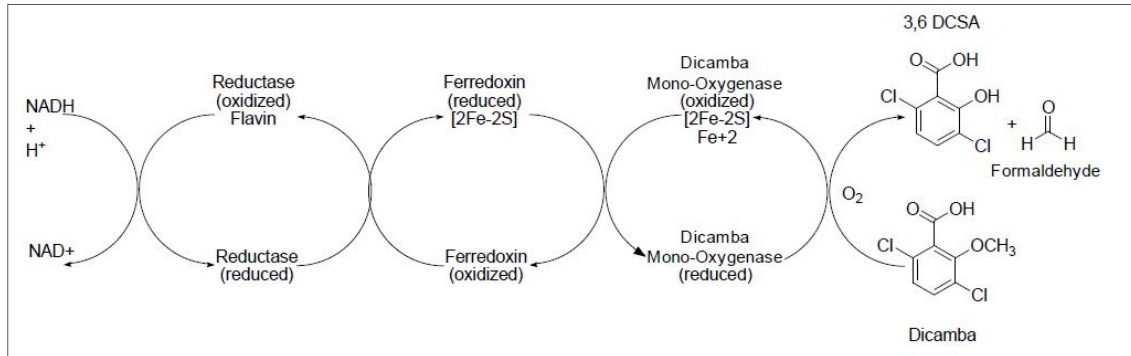


[그림 3] MON87708 DMO 전구 단백질의 변형(processing) 모식도

(나) 유전자산물의 기능

- DMO 단백질 및 DMO+ 27 단백질은 기능성 삼합체를 형성하여, 제초제 디캄바를 탈메틸화하여 비제초제 화합물 DCSA와 formaldehyde로 축매함으로써 디캄바 제초제에 대한 내성을 나타낸다.
- DMO는 reductase, ferredoxin 및 말단 oxygenase로 구성된 3요소 체계의 일부를 구성하는 Rieske형 non-heme iron oxygenase이다. 이들 세개의 단백질은 NADH로부터 산소로 전자를 전달하고 전자 수용체 기질(본 경우는 dicamba)의 탈메틸화를 촉매하는 다른 많은 oxygenase와 유사하게 산화환원반응 체계에서 함께 작용한다. 상기 3요소 산화환원반응 체계는 아래의 [그림 4]와 같다.

림 4]와 같다.



[그림 4] DMO oxygenase 시스템의 3요소 모식

- 디캄바의 탈메틸화를 촉매하기 위하여 NADH로부터 이동한 전자는 내인성 reductase와 ferredoxin을 통해 말단의 DMO로 이동한다. 전자는 ferredoxin 으로부터 삼합체의 DMO단량체 중 하나의 Rieske [2Fe-2S] 클러스터에 의해 수용되어, 인접한 단량체의 촉매자리에서 non-heme iron 영역으로 전달되는데, 여기서 디캄바의 마지막 탈메틸화를 촉매하도록 산소를 환원적으로 활성화시킨다. 이 과정에서 DMO의 인접한 단량체들간에 발생하는 전자 이동에 있어서 세 개의 단량체 사이에 정확한 공간성과 방향성을 갖는 삼합체 구조가 필요하다.

(다) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

- DMO 단백질 및 DMO+ 27 단백질에 대해 당화분석을 실시한 결과, 당화되지 않았음이 확인되었다.

(라) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- SDS-PAGE 및 웨스턴 분석, N-말단 서열분석, MALDI-MS 분석에 의한 펩타이드 질량 측정을 통하여 MON87708 유래 DMO 단백질 및 DMO+ 27 단백질의 성질을 파악하였다.

DMO+ 27 단백질의 N-말단 서열분석에서 N-말단 메티오닌의 메틸화변이가 관찰되었으나, *RbcS*의 N-말단 메티오닌은 pea와 다른 식물종의 생체내(*in vivo*)에서 N-메틸메티오닌으로 번역 후 변이가 일어나는 것으로 보고된 바있다.

- DMO 기능 활성화는 대사산물인 DCSA의 생성을 측정하여 결정하였다 [표 2]. 세 번의 독립적 평가의 평균은 62.21 nmol/min/DMO mg으로 나타났다. 동 결과는 MON87708에 존재하는 DMO 단백질이 기능적으로 활성상태임을 증명한다.

[표 2] MON87708 유래 DMO 단백질의 기능활성 측정 결과

Assay#	Specific activity (nmol/min/mg)	Average (nmol/min/mg) ±Standard Deviation
1	61.92	62.21 ± 11.03
2	51.33	
3	73.39	

(마) 새로운 특성의 표현형

- 활성 상태의 DMO 단백질(DMO 단백질 및 DMO+ 27 단백질이 삼량체로 결합된 형태)은 제초제 디캄바에 내성을 부여한다.

(바) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- 두가지 형태(DMO 단백질 및 DMO+ 27 단백질)를 모두 포함하는 DMO 단백질의 양을 ELISA방법에 의해 분석한 결과, 잎(R5-V16)에서의 발현량이 69 $\mu\text{g/g}$ DW로 가장 많이 측정되었다. 알곡(R6)에서의 발현량은 47 $\mu\text{g/g}$ DW로 측정되었다.

(3) 독성

(가) 생산물이 단백질인 경우

1) 안전한 식경험의 유무

- MON87708 유래 DMO 단백질 및 DMO+ 27 단백질에 대한 직접적인 식경험은 없으나, 환경 및 동물의 사료, 인간의 음식에 흔히 존재하는 oxygenase 단백질과 높은 상동성을 가진다.

2) 기지의 독소 및 항영양소와의 아미노산 서열 유사성

- TOX_2010 데이터베이스(8,448개 서열 포함)를 통해 이미 알려진 독소 및 항영양소의 아미노산 서열과 DMO 단백질 및 DMO+ 27 단백질의 아미노산 서열을 생물정보학적으로 비교 분석한 결과, 서열 상동성이 없는 것으로 확인되었다.

3) 유전자 산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 인공위액 안정성: DMO 단백질 및 DMO+ 27 단백질은 인공 위액에서 30초 이내에 검출한계(LOD) 미만으로 분해되었다.
- 인공장액 안정성: DMO 단백질 및 DMO+ 27 단백질은 인공 장액에서 5분 이내에 검출한계(LOD) 미만으로 분해되었다.

- 열 안정성: DMO 단백질 및 DMO+ 27 단백질의 열 안정성을 평가한 결과, 55℃ 이상의 온도 · 15분 이상의 가열처리 조건은 동 단백질의 기능적 활성을 제거시키는 것으로 확인되었고, 95℃의 온도 · 30분의 가열처리 이후에는 SDS-PAGE를 통해 예상분자량의 밴드를 관찰할 수 없는 것으로 확인되었다.

4) 발현단백질의 단회투여독성

- CD-1 mouse(암수 각5마리)를 대상으로 140 mg/kg bw 수준의 MON87708 유래 DMO 단백질(DMO 및 DMO+ 27 포함)을 단회투여한 결과, 투여와 관련하여 생존률, 임상 관찰소견, 체중, 체중증가, 사료섭취량, 육안 병리소견에 부정적인 영향은 발견되지 않았다.

5) MON87708가 포함된 사료의 90일 독성실험

- 암수 각 12마리의 Sprague Dawley(Crl:CD[SD][®]) 쥐(rat)에게 MON87708 유래 대두박이 약 15% 또는 30%(w/w) 들어간 사료를 약 90일간 섭취시킨 결과, 처리에 따른 폐사율 확인, 임상소견, 체중, 사료섭취량, 임상병리지표, 장기중량, 육안소견관찰, 조직병리 검사결과에 대한 부정적인 영향은 발견되지 않았다.

(4) 알레르기성

(가) 유전자산물이 알레르겐으로 알려지고 있는가에 관한 자료

- *dmo* 유전자의 공여체인 *S. maltophilia*는 채소, 냉동생선, 우유, 가금류와 같은 식품에 존재하며, 알레르겐의 원인으로 보고된 바 없다.

(나) 유전자 산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 앞서 기술한 바와 같이 DMO 및 DMO+ 27 단백질은 열처리에 의해 쉽게 기능적 활성을 잃으며, 인공위액 또는 인공장액 같은 소화효소에 의해 쉽게 분해됨이 확인되었다.

(다) 유전자산물 중 이미 알려져 있는 알레르겐과 상동성에 관한 자료

- DMO 단백질 및 DMO+ 27 단백질의 아미노산 서열과 FARRP(Food Allergy Research and Resource Program) 알레르겐 데이터베이스를 이용하여 생물정보학적으로 비교 분석한 결과, 80개 이상의 아미노산 절편에 걸쳐 35% 이상의 상동성을 보이는 알레르겐 서열은 없었으며, 8개씩의 인접 아미노산과 일치하는 서열도 확인되지 않았다.

(라) 유전자산물이 1일 단백섭취량의 유의한 양을 차지하고 있는지에 관한 자료

- MON87708이 상업화되어 한국에서의 모든 콩 수요량을 MON87708로 대체한다고 가정하더라도,
- 보건복지부의 국민건강영양조사 3기(2005) 통계를 바탕으로 kg 체중 당 콩을 가장 많이 섭취하는 만 1~2세의 단백질 1인 1일 평균 섭취량 중 DMO 단백질이 차지할 수 있는 비율은 $8.8 \times 10^{-3}\%$ 로 계산되었다.
- 한국농촌경제연구원의 식품수급표(2007) 통계를 바탕으로 한국인의 단백질 1인 1일 평균 섭취량 중 DMO 단백질이 차지할 수 있는 비율은 $1.5 \times 10^{-3}\%$ 로 계산되었다.
- 한국 소비자의 1일 DMO 단백질 섭취량은 한국 소비자의 1일 단백섭취량과 비교하면 매우 낮은 것으로 판단되었다.

(5) 숙주와의 차이

- 2008년 미국의 총 5개 장소 (아이오와주, 일리노이주(2곳), 인디애나주, 펜실베이니아주)에서 MON87708 알곡 및 경엽과 일반 콩 알곡 및 경엽을 수확하여 성분 분석을 실시하였다.
- 통계방법으로는 mixed model을 사용하였고, 통계학적으로 유의적인 차이는 성분 분석에 대해 생물학적으로 유의적인 차이가 있는지 여부 확인을 위해 문헌범위 및 ILSI 범위, 상업적 참조군 허용범위를 사용하였다.

(가) 주요영양성분

① 알곡의 주요영양성분

- 일반성분: 분석한 일반성분(회분, 탄수화물, 수분, 단백질, 지방) 및 섬유질(ADF, NDF, 조섬유) 중 회분, 탄수화물, 단백질, ADF, NDF, 조섬유에서 통계적인 유의차가 확인되었다.
그 중에서, 회분의 평균값은 ILSI 범위에 포함되는 것이 확인되었고, 탄수화물, 단백질, ADF, NDF, 조섬유는 성분 측정 범위가 상업적 참조군 허용범위에 포함되는 것이 확인되었다.
- 아미노산: 분석한 아미노산(18종) 중 12개 아미노산(Arg, Asp, Cys, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Phe, Pro, Tyr, Val)에서 통계적인 유의차가 확인되었다.
그 중에서, 10개 아미노산(Asp, Cys, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Phe, Pro, Val)은 성분 측정 범위가 상업적 참조군 허용범위에 포함되는 것이 확인되었고, Tyr은 평균값이 ILSI 범위에 포함되는 것이 확인되었다.
허용범위 및 ILSI 범위에 포함되지 않은 Asp의 경우는 개별장소

분석에서 총 5개 지역 중, 2개 지역에서만 통계적인 유의차가 확인되었다.

- 지방산: 분석한 지방산(7종) 중 팔미트산(16:0), 올레산(18:1), 리놀레산(18:2), 리놀렌산(18:3), 베헨산(22:0)에서 통계적인 유의차가 확인되었으나, 모든 성분 측정 범위가 상업적 참조군 허용범위에 포함되는 것이 확인되었다.

② 경엽의 주요영양성분

- 일반성분 : 분석한 일반성분(회분, 탄수화물, 수분, 단백질, 지방) 및 섬유질(ADF, NDF) 중 ADF에서 통계적인 유의차가 확인되었으나, 평균값이 문헌범위에 포함되는 것이 확인되었다.

(나) 미량영양성분

① 알곡의 미량영양성분

- 비타민: 비타민 E에서 통계적인 유의차가 확인되었으나, 성분 측정 범위가 상업적 참조군 허용범위에 포함되는 것이 확인되었다.

(다) 내재성독소

- 콩을 안전하게 사용한 오랜 역사에서 내인성 독소가 존재함으로써 인간이나 동물 건강에 위해영향을 끼쳤다고 보고된 바 없다.

(라) 영양억제인자 (항영양소)

- 콩 알곡에 존재하는 항영양물질(lectin, phytic acid, raffinose, stachyose, 트립신 저해제) 중 phytic acid, raffinose, stachyose에서 통계적인 유의차가 확인되었다.
그 중에서, phytic acid와 raffinose는 성분 측정 범위가 상업적 참조군 허용범위에 포함되는 것이 확인되었고, stachyose는 평균값이 문헌범위에 포함되는 것이 확인되었다.
- 콩 알곡에서의 Isoflavone(daidzein, genistein, glycitein) 중 daidzein에서 통계적인 유의차가 확인되었으나, 성분 측정 범위가 상업적 참조군 허용범위에 포함되는 것이 확인되었다.

(마) 알레르기유발성분

- MON87708 단백질 추출물과 콩 알레르기 환자(13명)들의 혈청을 사용하여 콩 특이 IgE 결합을 ELISA로 분석한 결과, MON87708과 관행 대조군의 추출물에 대한 모든 IgE 결합수치는 상업적 참조군 허용범위에 포함되는 것이 확인되었다.

(바) 삽입된 유전자의 대사산물

- *dmo* 코딩서열 및 발현 단백질 DMO의 도입을 제외하면 관행 콩과 비교하여 MON87708에서 유래된 식품의 성분에 대한 의도된 변화는 없었다. 따라서 MON87708에 T-DNA를 삽입함으로써 기대되는 대사 변화는 없다.

(사) 영양성

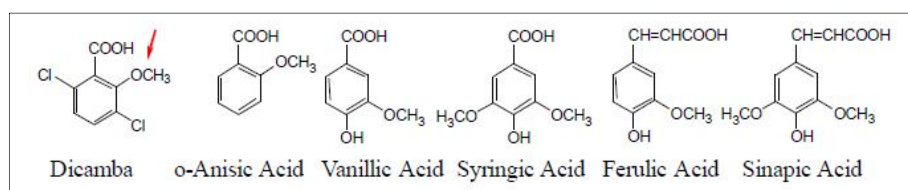
- 암수 각50마리의 Cobb × Cobb 500 육용계를 대상으로 아래표의 함량과 같이 MON87708의 대두박이 포함된 사료를 42일간 섭취 시킨 후 대조군과의 차이를 비교하는 육계사양실험을 실시하였다.

	대두박 (%)
Starter	32 % (w/w)
Grower/Finisher	30 % (w/w)

- 실험결과, 관행 콩 대조군 대두박 사료를 급이한 육용계와 비교하여 MON87708 대두박 사료를 급이한 육용계에서는 닭가슴육 중량(kg/bird, 냉동 도체육 중량의 백분율 %)과 드립 중량(냉동 도체육 중량의 백분율%)에서 통계적인 유의차가 확인되었다.
- 그러나, 관행 대조군을 포함한 상업적 관행 콩 품종의 대두박 사료군의 개체와 통계분석한 결과에서는 동 항목에서 통계적인 유의차가 확인되지 않았다.

(6) 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향 (숙주가 함유한 고유의 성분을 기질로 하여 반응할 가능성)

- DMO의 기질특이성 평가를 위하여 디캄바와 구조가 비슷한 물질(메톡시 부분을 포함하는 페닐카르복시산)을 고려하여, 아래 그림과 같이 6개의 물질을 선정하였다.



- 시험결과, 양성 대조군으로 사용된 디캄바를 제외한 모든 시험물질은 DMO와 반응하지 않는 것으로 확인되었다.

(7) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황

- 현재까지 미국(2011), 호주/뉴질랜드(2012)에서 식품으로 승인받았다.

6. 심사신청 자료 검토 결과

- 이상의 검토 내용과 같이 심사규정에 따라 제출된 안전성 평가 자료를 심사한 결과, 사용된 공여체, 숙주 및 유전자재조합 과정 등이 식품으로 이용 시 안전성

문제를 유발하지 않는다고 판단되었다.

- 유전자재조합체에 관해서도 도입된 유전자, 유전자산물, 알레르기성, 독성 및 영양성 등에서 안전성 평가에 필요한 적절한 자료가 제출되었다. 이 자료를 토대로 검토한 결과 지금까지 식품으로 섭취해온 콩과 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

7. 기타

- 「유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률」에 의하여 유전자재조합 콩 MON87708의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성을 농촌진흥청, 국립환경과학원, 국립수산물과학원에서 심사 완료하였다.