

유전자재조합 콩 DP-356043-5
안전성 평가자료 심사결과 보고서

2010. 8. 6

식 품 의 약 품 안 전 청
유전자재조합식품등 안전성평가자료심사위원회

〈차례〉

1. 요약	1
2. 심사경위	2
3. 심사경과	2
4. 심사방법	3
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 독성 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 병원체와의 관련성)	5
라. 유전자재조합에 대한 자료	5
(1) 형질전환에 관한 정보	5
(2) 도입 유전자에 대한 정보	6
마. 유전자재조합체의 특성에 관한 자료	9
(1) 유전자재조합체 내 도입된 유전자에 관한 정보	9
(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 반응할 가능성)	17
(7) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황	18
6. 심사신청 자료 검토 결과	18
7. 기타	18

유전자재조합 콩 DP-356043-5 안전성 평가자료 심사결과 보고서

1. 요약

(유)듀폰은 유전자재조합 콩 DP-356043-5를 식품의약품안전청에 안전성 심사를 신청하였고, "유전자재조합식품등 안전성평가자료 심사위원회"는 「유전자재조합식품의 안전성평가 심사 등에 관한 규정」에 따라 안전성 심사를 수행하였다.

DP-356043-5는 토양 세균 유래 *gat4601* 유전자와 콩 유래 *gm-hra* 유전자를 입자총법으로 콩에 도입하여 만들어진다. 도입된 유전자의 발현에 의해 GAT4601 단백질과 GM-HRA 단백질이 생성되며, 이 단백질들은 콩이 농업용 제초제인 글리포세이트(glyphosate)와 아세토락테이트 합성효소 저해제(acetolactate synthase inhibitor)에 대해 내성을 각각 가지게 한다.

DP-356043-5에는 *gat4601* 유전자와 *gm-hra* 유전자가 각각 한개 씩 도입되었으며 도입된 유전자가 3 세대에 걸쳐 안정적으로 유전되는 것으로 나타났다.

새로 생성된 GAT4601 단백질과 GM-HRA 단백질에 대해 마우스(mouse)에서 단회투여 독성을 평가한 결과 독성이 없는 것으로 나타났으며, DP-356043-5에 대해 랫드(rat)에서 90일 반복투여독성실험을 실시한 결과 독성 징후가 나타나지 않았다. DP-356043-5의 알레르기성을 평가하기 위해 콩 단백질 추출물과 콩 알레르기 환자들의 혈청으로 시험한 결과, 일반 콩에 비해 알레르기성이 증가하지 않는 것으로 나타났다.

DP-356043-5와 일반 콩의 주요영양성분, 미량영양성분, 항영양소 등의 함량 차이를 비교한 결과 헵타데칸산(heptadecanoic acid), 헵타데센산(heptadecenoic acid), N-아세틸아스파테이트(N-acetyl aspartate), N-아세틸 글루타메이트(N-acetyl glutamate)가 증가하였으나 영양성 및 독성에 문제가 없는 것으로 나타났으며, 기타 다른 성분들은 생물학적으로 차이를 보이지 않았다. DP-356043-5의 대두박(약26%), 대두피(1%) 및 대두유(0.5%)를 브로일러(Broiler)에 42일 동안 계속해서 먹였을 때에도 일반 콩과 비교하여 영양성에 차이가 없는 것으로 나타났다.

결론적으로, DP-356043-5는 지금까지 식품으로 섭취해온 콩과 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

2. 심사경위

- (유)듀폰은 농업용 제초제인 글리포세이트와 아세토락테이트 합성효소 저해제에 대하여 내성을 갖는 DP-356043-5에 대해 식품위생법 제18조에 따른 안전성 평가 심사를 받기 위하여 2007년 10월 26일 식품의약품안전청에 「유전자재조합식품의 안전성평가심사등에 관한규정」(이하 '심사규정'이라고 함)에서 정한 관련 자료를 첨부하여 심사 신청하였다.
- 이에 식품의약품안전청은 본 제품이 심사규정에 따라 안전성 평가가 이루어졌는지 여부에 대하여 '유전자재조합식품등 안전성평가심사자료심사위원회'(이하 '심사위원회'라고 함)에 검토 의뢰하고,
- 심사위원회는 신청인이 제출한 자료에 근거하여 아래와 같이 심사규정에 따라 안전성 평가가 이루어졌음을 확인하였다.

3. 심사경과

○ 심사대상품목

대상품목	신청자	개발자	제외국의 안전성 승인 현황
유전자재조합 콩 DP-356043-5	(유)듀폰	Pioneer Hi-Bred International, Inc.	미국(2007년), 멕시코(2008년), 대만(2009년), 일본(2009년), 캐나다(2009), 호주/뉴질랜드(2009)

○ 심사경과

- 2007년 10월 26일 : 안전성 평가자료 심사신청
- 2007년 12월 4일 : 1차 심사위원회 개최
- 2008년 4월 30일 : 2차 심사위원회 개최
- 2008년 8월 26일 : 3차 심사위원회 개최
- 2008년 12월 9일 : 4차 심사위원회 개최
- 2009년 3월 24일 : 5차 심사위원회 개최
- 2009년 4월 21일 : 6차 심사위원회 개최
- 2009년 5월 19일 : 7차 심사위원회 개최
- 2009년 11월 : 환경위해성 심사 완료(농촌진흥청, 국립수산과학원, 국립환경과학원)
- 2009년 12월 3일 ~ 12월 22일 : 공개의견수렴
- 2010년 4월 20일 : 8차 심사위원회 개최
- 2010년 7월 20일 : 9차 심사위원회 개최

4. 심사방법

- 본 제품과 관련하여 심사 신청된 유전자재조합체가 심사규정의 적용대상인지를 검토하였고,
- 제출된 안전성 평가자료가 심사규정에서 요구하는 자료를 갖추었는지를 확인한 후 자료의 내용을 토대로 안전성 평가자료를 심사하였다.

5. 심사 신청 자료 검토

5-1. 심사 신청된 식품의 개요

- 유한회사 듀폰에서 심사 신청한 DP-356043-5는 *gat4601* 유전자 및 *gm-hra* 유전자가 도입된 것으로 제초제인 글리포세이트 및 아세토락테이트 합성효소 저해제에 내성을 나타낸다.

5-2. 식품으로의 적합성 검토

- 본 제품과 관련하여 제출된 안전성 평가 자료가 심사규정 제12조에서 요구하는 자료를 만족시키는지 여부를 검토하였으며,
- 자료의 내용을 토대로 다음과 같이 식품으로서의 안전성이 확보되어 있는지를 심사하였다.

5-3. 유전자재조합체의 안전성

가. 유전자재조합체의 개발목적 및 이용방법에 관한 자료

- (유)듀폰은 제초제인 글리포세이트 및 아세토락테이트 합성효소 저해제에 대해서 내성을 나타내도록 GAT4601 단백질 및 GM-HRA 단백질을 발현하는 콩을 개발하였다.
- 재배방법 및 이용방법은 기존의 콩과 동일하다.

나. 숙주에 관한 자료

(1) 분류학적 특성(일반명, 계통분류 등)

- 종(Species) : *max* (L.) Merr.
- 속(Genus): *Glycine*
- 과(Family): *Leguminosae*
- 일반명(Common Name): 콩, 대두

(2) 재배 및 품종개량의 역사

- 역사적, 지리학적 증거에 의하면 콩은 동부 중국에서 기원전 17세기와 11세기

사이에 토착화 되었다(Hymowitz, 1970). 1900년 이전에 콩은 동양에서 식용 및 약용으로 사용되었으며 오늘날 콩은 상품화된 작물로 전 세계 35개국 이상에서 재배되고 있다(Williams, 2005).

(3) 기지의 독성 또는 알레르기 유발성

- 인간은 오랜 세월 콩을 재배하고 섭취해왔으며 세계인구의 상당수가 콩 단백질을 함유한 식품을 소비한다. 콩에는 트립신 저해제(trypsin inhibitor), 렉틴(lectin)과 같은 항영양소를 함유한다. 트립신 저해제와 렉틴은 열에 약하므로 열을 가하면 분해된다.
- 콩은 과민한 사람에게는 부작용을 일으킬 수 있는 알레르기 유발 단백질을 함유한다고 보고되었다(OECD, 2001).

(4) 안전한 식경험의 유무

- 콩이 가지고 있는 항영양성과 알레르기성에도 불구하고, 콩은 기원전 3,000년부터 식품으로 이용되었다. 두부, 식용유, 간장 등의 형태로 섭취되고 있어 안전한 식품으로서의 오랜 역사를 가지고 있다. 콩은 작물들 중에 선두의 위치를 차지하고 있으며, 단백질 농축물과 식물성 기름의 가장 중요한 원료가 되었다.

다. 공여체에 관한 자료

(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)

① *gat4601* 유전자

gat4601 유전자는 *Bacillus licheniformis* (ST401, B6, DS3) 유래이다

- 종(Species): *licheniformis*
- 속(Genus): *Bacillus*
- 과(Family): *Bacillaceae*

② *gm-hra* 유전자

gm-hra 유전자는 콩 (*G. max*) 유래이다.

- 종(Species) : *max* (L.) Merr.
- 속(Genus): *Glycine*
- 과(Family): *Leguminosae*
- 일반명(Common Name): 콩, 대두

(2) 안전한 식경험의 유무

① *Bacillus licheniformis*

gat4601 유전자 공여체인 *Bacillus licheniformis*는 환경 중 흔히 발견되는 그람

양성 세균이며, 인간이 그 균체를 식품으로 직접 섭취한 경험은 없다.

② 콩 (*G. max*)

안전한 식품으로서의 오랜 이용의 역사를 가지고 있다.

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

① *Bacillus licheniformis*

*Bacillus licheniformis*는 사람에게 알레르기를 유발한다는 보고는 없었다.

*Bacillus licheniformis*는 병원균이 아니며, 일반적으로 식중독균으로 간주되지 않는다(US EPA).

② 콩 (*G. max*)

콩에는 알레르겐과 더불어 트립신 저해제(trypsin inhibitor), 렉틴(lectin), 라피노오스(raffinose), 스타키오스(stachyose) 및 피틴산(phytic acid)과 같은 항영양소가 포함되어 있음이 잘 알려져 있다. 하지만, 인류는 오랜 식경험을 통해 이 성분들을 적절한 조리·가공 방법에 의해 관리해 왔으며, 그 결과 식품으로서의 안전성이 확보될 수 있었다.

라. 유전자재조합에 대한 자료

(1) 형질전환에 관한 정보

(가) 형질전환방법

- *gat4601* 유전자와 *gm-hra* 유전자를 포함하고 있는 플라스미드 PHP20163을 제한효소 *NotI* 및 *AcsI*과 반응시켜 하이그로마이신(hygromycin) 내성 *hyg* 유전자를 절단한 후 입자총법을 사용하여 형질전환 하였다.

(나) 재조합에 사용된 벡터에 대한 정보

1) 기원

- DP-356043-5 개발을 위해 숙주에 도입된 DNA 절편 PHP20163A(*gat4601* 유전자 및 *gm-hra* 유전자 발현 카세트 포함)는 플라스미드 PHP20163의 일부를 절단한 것이며, 플라스미드 PHP20163은 플라스미드 pSP72를 기본 골격으로 제작되었다.

2) 숙주에서의 확인

- DP-356043-5에는 단일 유전자 자리에 1개의 *gat4601* 유전자 발현 카세트 및 1개의 *gm-hra* 유전자 발현 카세트가 삽입되어 있는 것이 확인되었다.

3) 숙주에서의 기능

- GAT4601 단백질과 GM-HRA 단백질를 발현하여 글리포세이트와 아세토락테이트 합성효소 저해제에 내성을 나타낸다.

(다) 중간숙주에 대한 정보

- 플라스미드 PHP20163은 *E. coli*에서 증식되었다.

(라) 전달성에 관한 정보

- 플라스미드 PHP20163은 숙주이외의 다른 생물체로 스스로 이동될 수 있는 전달성과 관련된 유전자를 포함하고 있지 않다.

(2) 도입 유전자에 대한 정보

(가) 구성 유전자의 특성

1) 선발표지유전자

① *gm-hra*

콩(*G. max*) 유래로 합성된 유전자이다. *gm-hra* 유전자는 GM-HRA 단백질을 암호화하여 아세토락테이트 합성효소 저해제에 대한 내성을 부여한다.

② *hyg*

하이그로마이신을 암호화하나 DP-356043-5 안에서 선발표지 유전자로 작용하지 않는다.

2) 조절인자

① 프로모터 (promoter)

gat4601 유전자 발현 카세트는 CaMV 유래의 SCP1 프로모터를 이용했고, *gm-hra* 유전자 발현 카세트는 콩(*G. max*) 유래의 SAMS 프로모터를 이용했다.

② 터미네이터 (terminator)

gat4601 유전자 발현 카세트는 감자(*Solanum tuberosum*) 유래의 *pin II* 터미네이터를 이용했다. *gm-hra* 유전자 발현 카세트는 콩(*G. max*) 유래의 *gm-als* 터미네이터를 이용했다.

3) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

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

(나) 크기 및 명칭

- DP-356043-5에 도입된 유전요소의 크기와 명칭은 [표 1]과 같다.

표 1. PHP20163A 구성 요소

구성요소	크기(bp)	유래 및 기능
<i>gat4601</i> 유전자 발현 카세트		
SCP1 프로모터	486	CaMV 유래 35S 프로모터 영역 (O'Dell et al., 1985)의 일부 및 Rsyn7-SynCoreII 프로모터 (Bowen et al., 2000 & 2003) 영역으로부터 구축된 전사개시를 위한 프로모터.
TMV omega 5'UTR	67	TMV omega 5'-비변역 영역의 전사 촉진기능을 가진 인핸서 (enhancer) 영역 (Gallie and Walbot, 1992).
<i>gat4601</i> 유전자	441	<i>B. licheniformis</i> (ST401, B6, DS3) 유래 N-아세틸트랜스퍼라아제(N-acetyltransferase) 유전자들의 셔플링(shuffling)을 통해 제작된 유전자로서 (Keenan et al., 2005)로서, 146개 아미노산으로 구성되는 GAT4601 단백질 (분자량 17 kDa)을 코딩함.
<i>pin</i> II 터미네이터	316	감자(<i>Solanum tuberosum</i>) 유래 단백질 저해제 II(<i>pin</i> II) 유전자의 전사정지를 위한 터미네이터(Keil et al., 1986; An et al., 1989).
<i>gm-hra</i> 유전자 발현 카세트		
SAMS 프로모터	645	콩(<i>G. max</i>) 유래 S-아데노실-L-메티오닌 합성효소(S-adenosyl-L-methionine synthetase, SAMS) 유전자의 전사개시를 위한 프로모터(Falco and Li, 2003).
SAMS intron	591	콩(<i>G. max</i>) 유래 S-아데노실-L-메티오닌 합성효소 유전자의 5'-비변역 영역 내에 존재하는 인트론(intron)(Falco and Li, 2003).
<i>gm-hra</i> 유전자	1,971	콩(<i>G. max</i>) 유래 아세토락테이트 합성효소(acetolactate synthase) 유전자 <i>als</i> 유래의 변형 (2개 위치 아미노산 치환, 183(proline→alanine), 560(tryptophan→leucine))된 유전자(<i>gm-hra</i>)로 아미노산 656개로 구성된 GM-HRA 단백질 (분자량 71 kDa)을 코딩함.
<i>gm-als</i> 터미네이터	652	콩(<i>G. max</i>)의 아세토락테이트 합성효소 유전자 <i>als</i> 의 전사정지를 위한 터미네이터 영역 (Falco and Li, 2003).

(다) 완성된 벡터내의 유전자 염기서열의 위치 및 방향성

- 제한효소지도, 벡터 내에서의 유전자위치, 방향성이 제시되었다.[그림 1]

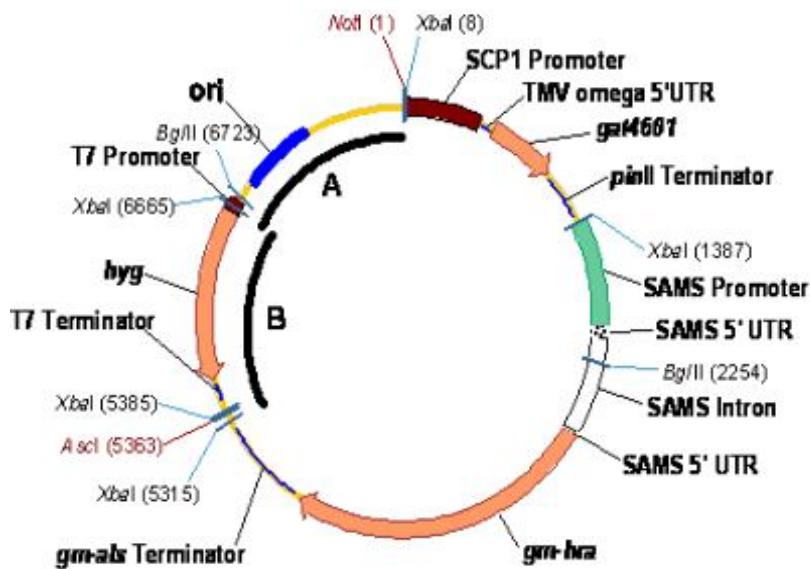


그림 1. 플라스미드 PHP20163 제한효소 절단 지도

(라) 구성 유전자의 기능

① *gat4601* 유전자

GAT4601 단백질은 글리포세이트의 NH기를 아세틸화하여 N-아세틸 글리포세이트(N-acetyl glyphosate)로 변형시켜, EPSPS에 작용하지 않도록 하여 식물에 글리포세이트 내성을 부여한다.

② *gm-hra* 유전자

GM-HRA 단백질은 아세토락테이트 합성효소 저해제의 영향을 받지 않으므로 해당 저해제가 존재하더라도 효소활성을 나타내서 분지 아미노산인 류신(Leucine), 발린(Valine) 및 이소류신(Isoleucine)이 합성될 수 있도록 하여, 제초제인 아세토락테이트 합성효소 저해제에 대한 내성을 식물체에 부여한다.

(마) 유해염기서열의 유무

- 공여체에서 받은 유전 요소들은 그 특성이 잘 알려져 있으며, 유해한 염기서열을 함유하고 있지 않았다.

(바) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현가능성

- 목적으로 하는 GAT4601 단백질과 GM-HRA 단백질의 발현과 관련된 서열 이외 전사 및 발현가능성이 있는 새로운 외래전사해독프레임(Open reading frame, ORF)이 존재하지 않는 것으로 나타났다.

(사) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입

- 목적하는 유전자 이외의 유전자는 혼입되지 않았다.

마. 유전자재조합체의 특성에 관한 자료

(1) 유전자재조합체 내 도입된 유전자에 관한 정보

(가) 유전자재조합체의 계놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

① *gat4601* 유전자

*Bacillus licheniformis*의 유전자를 기원으로 하는 *gat4601* 유전자는 146개 아미노산으로 구성된 분자량 약 17 kDa의 GAT4601 단백질을 코딩한다.

② *gm-hra* 유전자

콩 (*G. max*)의 유전자를 기원으로 하는 *gm-hra* 유전자는 656개의 아미노산으로 구성되는 분자량 약 71 kDa의 GM-HRA 단백질을 코딩한다.

(나) 삽입부위의 수

- DP-356043-5에는 단일 유전자 자리에 1개의 *gat4601* 유전자 발현 카세트 및 1개의 *gm-hra* 유전자 발현 카세트가 삽입되어 있는 것이 확인되었다[그림 2].

(다) 각 삽입부위의 삽입유전자의 구성

1) 복제수, 염기서열(주변염기서열 포함)

- 삽입 유전자의 복제수 : 서던 블롯(Southern blot) 분석 결과 DP-356043-5의 계놈에는 완전한 *gat4601* 유전자 발현 카세트 및 *gm-hra* 유전자 발현 카세트로 구성된 1 copy의 PHP20163A가 도입되었음이 확인되었다.

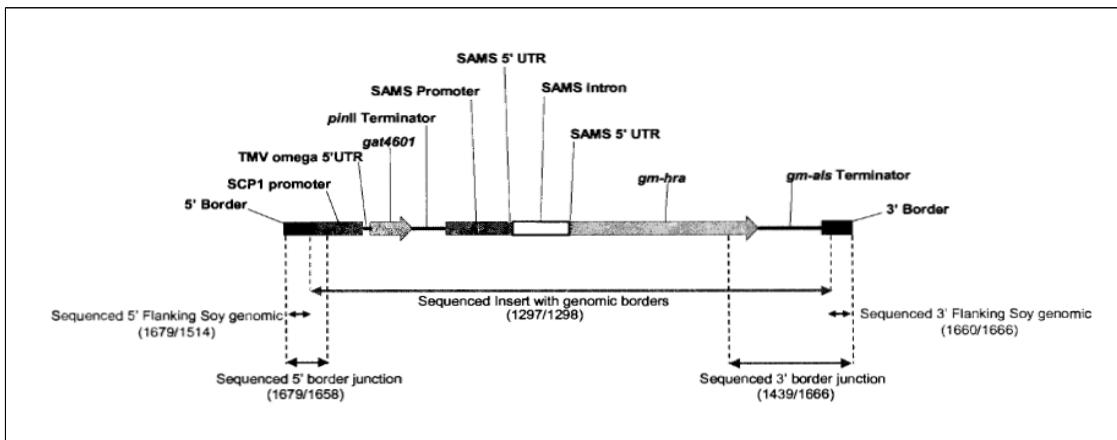


그림 2. 유전자재조합 콩 DP-356043-5에서 플라스미드의 삽입 모식도

- 2) 기지의 독성이나 항영양소를 암호화하는 유전자가 없음을 입증하는 자료
- 기지의 독성이나 항영양소를 암호화하는 것으로 알려진 유전인자는 DP-356043-5의 삽입 DNA에 존재하지 않는다. 또한 DP-356043-5 콩에서 발현된 GAT4601 단백질과 GM-HRA 단백질 모두 알려진 알레르겐과 독소 단백질의 아미노산 서열과의 상동성을 조사한 결과, 알려진 알레르겐 또는 독소 단백질과의 상동성이 없었다.

- (라) 삽입유전자 및 인접하는 숙주 게놈 유전자의 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현가능성
- DP-356043-5에 삽입된 유전자와 인접한 염기서열에 전사 및 발현가능성이 있는 새로운 외래전사해독프레임(Open reading frame, ORF)이 존재하지 않는 것으로 나타났다.

(마) 안정성에 관한 사항

- 1) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기
- DP-356043-5에 존재하는 삽입 DNA의 안정성을 평가하기 위해 DP-356043-5의 DNA를 사용하여 3세대(T4, T5, F3)에 걸친 서던 블롯(Southern blot) 분석을 실시한 결과, 3세대에 걸쳐 DP-356043-5의 삽입 DNA가 유지됨이 확인되었다.
- 2) 복수 세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량
- DP-356043-5에서의 GAT4601 단백질 및 GM-HRA 단백질의 식물 조직별[경엽(착협기), 뿌리(착협기), 알곡(수화기)] 발현량을 2세대(T5, T6)를 대상으로 ELISA 시험법에 의해 실험한 결과, 각 단백질 모두 안정적으로 발현됨이 확인되었다.

(2) 유전자산물에 관한 정보

(가) 유전자산물의 화학적 성질

- GAT4601 단백질을 구성하는 아미노산은 146개이며, GM-HRA 단백질은 656개의 아미노산으로 되어 있다.

(나) 유전자산물의 기능

① GAT4601 단백질

글리포세이트의 NH기를 아세틸화하여 N-아세틸 글리포세이트로 변형시켜, EPSPS에 작용하지 않도록 하여 식물에 글리포세이트 내성을 부여한다.

② GM-HRA 단백질

아세토락테이트 합성효소 저해제의 영향을 받지 않으므로 이 저해제가 존재하더라도 효소활성이 나타나서 분자 아미노산인 류신, 발린 및 이소류신이 합성되어, 제초제인 아세토락테이트 합성효소 저해제에 대한 내성을 식물체에 부여한다.

(다) 발현단백질의 아미노산 서열의 변역 후 변이 유무

- GAT4601 단백질 및 GM-HRA 단백질에 대해 각각 당화 분석을 실시한 결과, 당화되지 않았음을 확인하였다.

(라) 발현단백질의 구조적 변화 여부

① GAT4601 단백질

웨스턴 블로트 분석에 의한 분자량 분석, 트립신 처리 후 MALDI-MS에 의한 펩티드 질량 측정, N-말단 서열 결정, 당화 여부 시험을 통해 *E.coli* 유래 GAT4601 단백질과 DP-356043-5 유래 GAT4601 단백질 사이의 동등성이 입증되어 구조적 변화가 없는 것으로 판단되었다.

② GM-HRA 단백질

웨스턴 블로트 분석에 의한 분자량 분석, 트립신 처리 후 MALDI-MS에 의한 펩티드 질량 측정, N-말단 서열 결정, 당화 여부 시험을 통해 *E.coli* 유래 GAT4601 단백질은 DP-356043-5 유래 GAT4601 단백질과 비교하여 N-말단에 글리신이 부가 되었지만, 구조적 변화는 없는 것으로 판단되었다.

(마) 새로운 특성의 표현형

- GAT4601 단백질이 콩의 유리 아미노산 중 아스파트산(aspartic acid) 및 글루탐산(glutamic acid)의 N-아세틸화에 영향을 주는 것으로 확인되었다.

(바) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- DP-356043-5의 T5세대에서 GAT4601 단백질 및 GM-HRA 단백질의 식물 조직별 발현량은 [표 2]와 같으며, 경엽의 착협기에서 두 단백질 모두 발현량이 가장 높았다.

표 2. 유전자재조합 콩 DP-356043-5 부위별 GAT4601 단백질 및 GM-HRA 단백질 발현량(T5)

조사 부위	조사 시기	단백질 발현량 ($\mu\text{g/g dry weight}$)	
		GAT4601 단백질	GM-HRA 단백질
알곡	수확기	0.24±0.07	0.91±0.17
경엽 (forage)	착협기	1.6±0.32	27±8.0
뿌리	착협기	1.6±0.39	3.2±2.2

(3) 독성

(가) 생산물이 단백질인 경우

1) 안전한 식경험의 유무

① GAT4601 단백질

Bacillus licheniformis(ST401, B6, DS3) 유래 N-아세틸전이효소 유전자들의 셔플링을 통해 제작한 것이므로, 이 변형된 단백질 자체에 대한 직접적 식경험은 없다.

② GM-HRA 단백질

GM-HRA 단백질은 콩 유래 아세토락테이트 합성효소의 2개 아미노산이 치환된 단백질이며, 이 변형된 단백질을 직접 섭취한 경험은 없다.

2) 기지의 독성 및 항영양소와의 아미노산 서열 유사성

- GAT4601 단백질과 GM-HRA 단백질을 NCBI(National Center for Biotechnology Information) 데이터베이스와 비교한 결과 기지의 독소 단백질 및 항영양소의 아미노산 서열과 상동성이 없는 것으로 확인되었다.

3) 유전자 산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 인공위액 안정성 : GAT4601 단백질과 GM-HRA 단백질 모두 인공위액에서 쉽게 소화(모두 30초 이내)되는 것으로 확인되었다.
- 인공장액 안정성 : GAT4601 단백질과 GM-HRA 단백질 모두 인공장액에서 쉽게 소화(각각 120초, 30초 이내)되는 것으로 확인되었다.
- 열 안정성 : 70°C에서 15 분간 가열한 후 웨스턴 블롯(western blot) 분석을 실시한 결과 검출 가능한 GAT4601 단백질과 GM-HRA 단백질이 관찰되지 않았다. 이 처리 조건에서 각각 90% 이상의 면역반응성을 잃는 것으로 확인되었다.

4) 안전한 식경험이 없는 단백질인 경우 경구독성실험

- 미리 절식시킨 암수 Crl:CD-1®(ICR)BR 마우스 (암수 각 5마리)을 대상으로 GAT4601 단백질과 GM-HRA 단백질을 각각 2,000 mg/kg body wt. 단회 강제 경구투여 한 결과, 모두 14일 후에도 생존했고, 검체 투여에 따른 임상 징후 및 체중에 대한 영향은 나타나지 않았으며, 부검에서도 이상 소견이 관찰되지 않았다.
- Crl:CD®(SD)IGS BR 랫드(암수 각 12마리)를 이용하여 유전자재조합 콩 DP-356043-5와 일반 콩의 대두박 및 대두피를 20%, 1.5%씩 배합한 사료를 13주 동안 섭취시킨 결과 체중, 중체량, 사료 섭취량, 사료효율, 임상적 독성

소견, 안과적 평가 결과 등 모든 항목에서 특이적 영향은 관찰되지 않았다.

(4) 알레르기성

(가) 유전자산물이 알레르겐으로 알려지고 있는가에 관한 자료

- GAT4601 단백질과 GM-HRA 단백질 모두 알레르겐이라는 보고는 없다.

(나) 유전자 산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성 (대체산물의 경우 유전자 산물과의 생화학적, 구조적, 기능적 동질성에 관한 자료 포함)

- GAT4601 단백질과 GM-HRA 단백질 모두 열처리에 쉽게 면역반응성을 잃으며, 인공위액 또는 인공장액과 같은 소화효소에 의해 쉽게 분해됨이 확인되었다.

① GAT4601 단백질

웨스턴 블로트 분석에 의한 분자량 분석, 트립신 처리 후 MALDI-MS에 의한 펩티드 질량 측정, N-말단 서열 결정, 당화 여부 시험을 통해 *E.coli* GAT4601 단백질과 DP-356043-5에서 분리 정제한 GAT4601 단백질 사이의 동등성이 입증되었다.

② GM-HRA 단백질

웨스턴 블로트 분석에 의한 분자량 분석, 트립신 처리 후 MALDI-MS에 의한 펩티드 질량 측정, N-말단 서열 결정, 당화 여부 시험을 통해 DP-356043-5에서 분리 정제한 GM-HRA 단백질의 아미노산 서열과 *E.coli* GM-HRA 단백질 서열의 아미노산 서열을 비교하면, N-말단의 글리신의 부가 되어 있음이 확인되었다. 그러나 면역반응성, 비당화 등의 특성에 대한 차이가 없어 *E.coli* 유래 GM-HRA 단백질을 물리화학적 처리시험에 이용해도 문제가 없음이 입증되었다.

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

- GAT4601 단백질과 GM-HRA 단백질을 FARRP(Food Allergy Research and Resource Program) 알레르겐 데이터베이스를 통해 비교한 결과 이미 알려진 알레르겐 및 글루텐 과민성 장질환에 관여하는 단백질과 연속하는 8개의 아미노산 잔기와 일치하는 아미노산 서열 및 80개 이상의 아미노산 잔기 중 35 % 이상의 상동성을 가지는 아미노산 서열이 없음을 확인하였다.

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

- 콩 및 콩 가공품을 모두 DP-356043-5로 대체한다고 가정할 경우,
- 보건복지부의 국민건강영양조사 3기(2005) 통계를 바탕으로 콩을 가장 많이 섭취하는 만 1~2세의 단백질 1인 1일 섭취량 중 GAT4601 단백질 및

GM-HRA 단백질이 차지할 수 있는 비율은 각각 $4.5 \times 10^{-5}\%$, $1.7 \times 10^{-4}\%$ 로 계산되었다.

- 한국농촌경제연구원의 식품수급표(2005) 통계를 바탕으로, 한국인의 단백질 1인 1일 평균 섭취량 중 GAT4601 단백질 및 GM-HRA 단백질이 차지할 수 있는 비율은 각각 $7.7 \times 10^{-6}\%$, $2.9 \times 10^{-5}\%$ 로 계산되었다.
- 이상의 추정에 따르면 DP-356043-5가 상업화되어 한국에서의 모든 콩 수요량을 DP-356043-5로 대체한다고 가정하더라도, 한국 소비자의 1일 GAT4601 단백질 및 GM-HRA 단백질 섭취량은 한국 소비자의 1일 단백질 섭취량과 비교하면 매우 낮을 것으로 판단되었다.

(마) (가) 내지 (라)의 자료에 의해 알레르기성을 판단하기 어려울 경우 다음 자료

- ① 구조 유사성이 확인된 알레르겐에 대한 환자 IgE 항체와 유전자산물과의 결합력에 관한 자료
 - 해당사항 없음
- ② 주요 알레르겐에 대한 환자 IgE 항체와 유전자산물과의 결합력에 관한 자료
 - 해당사항 없음

(5) 숙주와의 차이

(가) 주요 영양성분

- 2005년 총 6개 지역(미국 아이오와 주, 일리노이 주, 미네소타 주, 네브래스카 주 및 캐나다 온타리오 주 2곳)에서 3반복으로 DP-356043-5 알곡과 일반 콩 알곡을 수확하여 성분 분석을 실시했다.
- 통계방법으로는 linear mixed model을 사용하였고, 통계학적으로 유의적 차이가 나는 성분에 대해 생물학적 유의적 차이가 있는지 여부 확인을 위해 허용범위(tolerance interval)를 사용하였다.

① 주요 성분

- 콩 일반성분(단백질, 지질, 조섬유, 회분, 탄수화물) 분석 결과 지질이 통계학적으로 유의적 차이를 보였지만, 함량 범위가 허용범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

② 지방산

- 지방산 중 미리스트산(myristic acid), 팔미트산(palmitic acid), 올레산(oleic acid), 리놀레산(linoleic acid), 리놀렌산(linolenic acid), 아이코사디에노익산(eicosadienoic acid), 헵타데칸산(Heptadecanoic acid), 헵타데센산(Heptadecenoic acid)이 통계적 유의적 차이를 보였지만, 헵타데

칸산과 헵타데센산을 제외하고 함량 범위가 허용범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

- 헵타데칸산 및 헵타데센산 함량이 허용범위의 최대치를 상회하였으나,
- 두 지방산 모두 주요한 지방산이 아니며 DP-356043-5 콩의 총 지방산 중 각각 0.332 % 및 0.191 % 수준으로 매우 적었다.
- 쇠고기, 소시지 및 버터 등 지방 함유 식품에서 헵타데칸산과 헵타데센산 함량이 비슷하거나 높은 것으로 나타났다.
- 콩 및 콩 가공품을 모두 DP-356043-5 콩으로 대체한다고 가정하여도 헵타데칸산과 헵타데센산의 예상 섭취증가량은 한국인의 1일 평균 총지방섭취량의 0.034%, 0.019% 정도이기 때문에 헵타데칸산 및 헵타데센산 함량의 유의적 증가에 따른 영양성 및 독성에 영향이 없을 것으로 판단된다.

③ 아미노산

- 분석한 아미노산 중 아르기닌(arginine)과 알라닌(alanine)이 통계적 유의적 차이를 보였지만, 함량 범위가 허용범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.
- GAT4601 단백질은 N-아세틸 전이효소로 분류되는 효소 단백질로서 아스파트산 및 글루탐산이 N-아세틸화 될 가능성에 따라 DP-356043-5의 유리 아미노산 중 N-아세틸 아스파테이트(N-acetyl aspartate, NAA), N-아세틸 글루타메이트(N-acetyl glutamate, NAG), N-아세틸 글리신(N-acetyl glycine), N-아세틸 세린(N-acetyl serine), N-아세틸 트레오닌(N-acetyl threonine)등을 분석한 결과 NAA와 NAG가 문현 최대치를 상회하는 것으로 나타났으나,
- NAA와 NAG를 각각 Sprague-Dawley Crl:CD (SD) 랫드 (암수 각 5 마리)에 2,000 mg/kg용량으로 단회 경구투여 후 14일간 사망, 임상 징후, 이상행동 여부를 관찰하였으나, 급성독성 증상이 없는 것으로 확인되었다.
- Sprague-Dawley Crl:CD (SD) 랫드 (암수 각 10 마리)에 10, 100, 1,000 mg/kg/day body wt. 용량으로 14일 반복 경구 투여했고, 15일 이후에는 100, 500, 1,000 mg/kg/day body wt. 용량으로 14일 반복 경구투여 한 결과 체중, 사료섭취, 임상징후 등에 있어서 처리구 사이에 차이가 없었으며, NAA 및 NAG 투여에 따른 임상증상 및 체중에 대한 영향이 나타나지 않았고, 부검에서도 이상 소견은 없었다. 이상의 결과에 따라 NAA와 NAG의 NOAEL 값은 모두 1,000 mg/kg/day이다.
- 콩 및 콩 가공식품이 모두 DP-356043-5로 이용됐다고 가정할 때의 한국 소비자의 NAA, NAG 예상섭취량은 각각 0.063 mg/kg/day, 0.009 mg/kg/day이다. 이 값은 반복투여 경구독성 시험에서 얻어진 NOAEL의 $1/(1.6 \times 10^4)$, $1/(1.1 \times 10^5)$ 정도 수준으로 독성에 영향이 없을 것으로 판단된다.

(나) 미량영양성분

① 무기질

- 분석한 무기질 중 칼슘과 마그네슘이 통계적 유의적 차이를 보였지만, 함량 범위가 허용범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

② 비타민

- 분석한 비타민 중 비타민 B₁, 엽산 및 α-토코페롤이 통계적 유의적 차이를 보였지만, 함량 범위가 허용범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

(다) 내재성독소

- 콩에 대한 오랜 기간의 안전한 식경험에서 내재성 독소가 존재함으로써 인간과 동물의 건강에 부정적인 영향을 주었다는 보고는 없었다.

(라) 영양억제인자 (항영양소)

- 이소플라본 분석결과 다이아진(daizin), 말로닐다이아진(malonyldaizin), 글리시틴(glycitin)이 통계적 유의적 차이를 보였지만, 함량 범위가 허용범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.
- 라피노오스, 스타키오스, 렉틴, 피틴산 및 트립신 저해제 분석결과, 트립신 저해제만 통계적 유의적 차이를 보였지만, 함량 범위가 허용범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

(마) 알레르기유발성분

- DP-356043-5의 단백질 추출물과 콩 알레르기 환자(5명)들의 전체 혈청(pool sera)으로 시험(1-D immunoblot, ELISA inhibition)한 결과 및 DP-356043-5의 단백질 추출물과 콩 알레르기 환자(8명)들의 각각 혈청(individual serum)으로 시험(2-D immunoblot, ELISA inhibition)한 결과, 일반 콩에 비해 알레르기성이 증가하지 않는 것으로 확인되었다.

(바) 삽입된 유전자의 대사산물

- GAT4601 단백질의 대사산물인 N-아세틸 글리코세이트는 글리코세이트보다 낮은 독성을 가지는 것으로 보고되었다(US EPA).
- GAT4601 단백질에 의해 NAA와 NAG 함량이 증가하였으나, 콩 및 콩 가공식품 모두 DP-356043-5로 이용됐다고 가정할 때 한국 소비자의 NAA, NAG 예상섭취량은 반복투여 경구독성 시험에서 얻어진 NOAEL의 $1/(1.6 \times 10^4)$, $1/(1.1 \times 10^5)$ 정도 수준으로 독성에 영향이 없을 것으로 판단된다.
- GM-HRA에 의해 햅타데칸산 및 햅타데센산 함량이 증가하였으나 두 지방

산은 일상적으로 섭취해오고 있는 지방산이며, 여러 지방 함유 식품 등의 두 지방산의 함량이 DP-356043-5와 비슷하거나 높고, 예상 섭취 증가량이 미미하기 때문에 영양성 및 독성에 영향이 없을 것으로 판단된다.

(사) 영양성

- 주요 구성성분, 지방산, 아미노산, 무기질, 비타민 및 항영양소 등에 대한 분석결과, 헵타데칸산 및 헵타데센산, NAA 및 NAG를 제외하고는 통계적으로 유의적 차이가 없거나, 허용범위에 속하는 것으로 확인되었다.
- Ross×Cobb 브로일러(암수 각 60마리)를 이용하여 표 4와 같이 DP-356043-5와 일반 콩의 대두박과 대두피 및 대두유를 배합한 사료를 42 일간 섭취시킨 결과 폐사율, 증체량, 사료효율, 간장 및 신장 중량, 도체수율, 도체 대비 가슴, 허벅지, 다리, 날개, 복부지방 등 모든 항목에서 특이적 영향은 관찰되지 않았다.

표 4. 브로일러 실험 사료 배합비

	대두박(%)	대두피(%)	대두유(%)
Starter	30.0	1.0	0.5
Grower	26.0		
Finisher	21.5		

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

① GAT4601 단백질

- GAT4601 단백질의 기질 반응성 실험 결과 제초제인 글리포세이트에 대해서 매우 높은 기질 특이성을 있으며, NAA와 NAG 함량 증가를 제외하고는 대사경로에 다른 영향을 미칠 가능성성이 매우 낮을 것으로 판단된다.

② GM-HRA 단백질

- GM-HRA 단백질은 제초제인 아세토락테이트 합성효소 저해제에 의해 저해되는 내재성 아세토락테이트 합성효소를 대신하여 분자 아미노산인 류신, 발린, 이소류신 합성경로에 작용한다. DP-356043-5에 대한 아미노산 조성분석에서 류신, 발린, 이소류신 함량은 일반 콩 대조군과 차이가 없는 것으로 나타났다. 이는 GM-HRA 단백질이 내재성 아세토락테이트 합성효소처럼 분자 아미노산 합성경로에서 피드백 제어되며, 헵타데칸산 및 헵타데센산 함량 증가를 제외하고는 숙주의 대사경로에 다른 영향을 미칠 가능성이 매우 낮다는 것으로 판단된다.

(7) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황

- 현재 미국(2007), 멕시코(2008), 대만(2009), 일본(2009), 캐나다(2009) 및 호주/뉴질랜드(2009)에서 승인되었다.

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 제출되었으며, 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 DP-356043-5의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성을 농촌진흥청, 국립환경과학원, 국립수산과학원에서 심사 완료하였다.