

유전자재조합 카놀라 MS8
안전성평가자료 심사결과 보고서

2013. 8. 2

식품의약품안전처
유전자재조합식품등 안전성평가자료 심사위원회

<차 례>

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 품종개발의 역사	4
(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	5
(3) 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성(미생물의 경우 병원성 및 기지의 병 원체와의 관련성)	5
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	9
(3) 독성	11
(4) 알레르기성	11
(5) 숙주와의 차이	12
(6) 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향(숙주가 함유한 고유의 성분을 기질로 하여 반 응할 가능성)	13
(7) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황	13
6. 심사 신청 자료 검토 결과	13
7. 기타	14

유전자재조합 카놀라 MS8

안전성평가자료 심사결과 보고서

1. 요약

바이엘크롭사이언스(주)는 유전자재조합 카놀라 MS8을 식품의약품안전처에 안전성심사를 신청하였고, “유전자재조합식품등 안전성평가자료 심사위원회”는 「유전자재조합식품등의 안전성평가 심사 등에 관한 규정」에 따라 안전성 심사를 수행하였다.

MS8은 일반 카놀라에 *B. amylioliquefaciens* 유래 *barnase* 유전자와 *S. hygroscopicus* 유래 *bar* 유전자가 아그로박테리움법으로 도입되어 만들어진다. 도입된 유전자에 의해 Barnase와 PAT단백질이 생성된다. *barnase* 유전자는 꽃밥 특이적 유전자 TA29의 프로모터(Pta29)에 조절을 받아 화분낭(pollen sac)의 용단조직(tapetum)에서 Barnase 단백질을 발현하여 웅성불임 형질을 나타낸다. 또한, *bar* 유전자는 PAT 단백질을 발현하여 제초제 글루포시네이트에 내성을 나타낸다.

웅성불임계통인 유전자재조합 카놀라 MS8은 수분 가능한 화분을 만들지 못하고 자가수분 또한 불가능하므로 ribonuclease inhibitor를 발현하는 임성회복계통(fertility restore line) 카놀라와의 교배를 통해 화분생산과 수분이 가능한 F1 hybrid(MS8/RF3) 카놀라를 생산하는 모본으로 이용된다.

PAT 단백질의 전체 아미노산 서열을 공용 단백질 데이터베이스(Swissprot, trEMBL, GeneSeq-Port, PRI, PDB, DAD, GenPept)에 있는 모든 단백질 서열과 비교한 결과, 80개의 아미노산으로 이루어진 절편에 걸쳐 35% 이상의 상동성을 보이는 알레르겐 서열은 없었으며, 8개씩의 인접 아미노산과 일치하는 서열도 확인되지 않았다.

MS8과 일반 카놀라의 주요영양성분, 미량영양성분, 항영양소 등의 함량을 비교한 결과 통계적 또는 생물학적으로 차이가 없었다.

결론적으로, MS8은 지금까지 식품으로 섭취해온 카놀라와 비교하여 안전성이 입증되었다고 결론 내릴 수 있다.

2. 심사경위

- 바이엘크롭사이언스(주)는 웅성불임계통(male sterility line)으로서 제초제 글루포시네이트(glufosinate)에 내성을 나타내는 유전자재조합 카놀라 MS8을 식품위생법 제18조에 따른 안전성 평가심사를 받기 위하여 2010년 11월 10일 식품의약품안전처에 「유전자재조합식품등의 안전성평가 심사 등에 관한 규정」(이하 ‘심사규정’이라고 함)에서 규정한 관련 자료를 첨부하여 심사 신청하였다.
- 이에 식품의약품안전처장은 본 품목이 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 이루어졌음을 확인하였다.

3. 심사경과

- 심사대상품목

대상품목	신청자	개발자	제외국의 안전성 승인 현황
유전자재조합 카놀라 MS8	바이엘크롭 사이언스(주)	Bayer CropScience	캐나다(1997), 미국(1998), 일본(1998), 호주(2002), 멕시코(2004), 유럽(2005)

- 심사경과

- 2010년 11월 10일 : 안전성 평가자료 심사신청
- 2010년 11월 16일 : 심사위원회 서류심사 의뢰
- 2011년 5월 17일 : 1차 심사위원회 개최
- 2011년 11월 15일 : 2차 심사위원회 개최
- 2012년 9월 18일 : 3차 심사위원회 개최
- 2012년 11월 9일 : 환경위해성 심사완료(농촌진흥청, 국립수산물품질관리원, 국립환경과학원)
- 2013년 4월 16일 : 4차 심사위원회 개최
- 2013년 7월 2일 ~ 7월 22일 : 공개의견수렴 실시
- 2013년 7월 30일 : 5차 심사위원회 개최

4. 심사방법

- 본 품목과 관련하여 심사 신청된 유전자재조합체가 심사규정의 적용대상인지를 검토하고,
- 제출된 안전성 평가 자료가 심사규정에서 요구하는 자료를 갖추었는지를 확인한 후 자료의 내용을 토대로 안전성 평가 자료를 심사하였다.

5. 심사 신청 자료 검토

5-1. 심사 신청된 식품의 개요

- 바이엘크롭사이언스(주)가 심사 신청한 유전자재조합 카놀라 MS8은 *bar* 유전자를 가져 제초제인 글루포시네이트에 내성을 나타내며, *barnase* 유전자를 가져 ribonuclease를 발현함으로써 화분 생성 및 종자생산이 불가능하게 된다. 그리하여, 유전자재조합 카놀라 MS8은 F1 hybrid 종자생산시스템의 모본 용도로만 사용된다.

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 있는지를 심사하였다.

5-3. 유전자재조합체의 안전성

가. 유전자재조합체의 개발목적 및 이용방법에 관한 자료

- 바이엘크롭사이언스(주)는 음성불임 형질을 나타내도록 Barnase 단백질(ribonuclease)을 발현하고, 제초제 글루포시네이트에 내성을 나타내도록 PAT 단백질을 발현하는 유전자재조합 카놀라 MS8을 개발하였다.
- 음성불임계통인 유전자재조합 카놀라 MS8은 수분가능한 화분을 만들지 못하고 자가수분 또한 불가능하므로, ribonuclease inhibitor를 발현하는 임성회복계통(fertility restore line) 카놀라와의 교배를 통해 화분생산과 수분이 가능한 F1 hybrid (MS/RF) 카놀라를 생산하는 모본으로서만 이용된다.
- 재배방법은 기존의 일반 카놀라와 동일하다.

나. 숙주에 관한 자료

(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)

- 아종명(Subspecies) : *olifera*
- 종(Species) : *napus*
- 속(Genus) : *Brassica*
- 과(Family) : Brassicaceae
- 일반명(Common Name) : 유채 또는 카놀라 (oilseed rape or canola)

(2) 재배 및 품종개량의 역사

- 유채는 유럽에서 중세 초기부터 재배된 것으로 알려져 있다. 유채의 상업적 재배는 네덜란드에서 16세기 초에 주로 램프 기름으로 사용된 기록이 있다. 현재 최대 생산국가는 중국, 인도, 유럽 및 캐나다이다(OECD, 1997).
- 에루신산(erucic acid)을 많이 함유한 유채유는 디젤엔진에 좋은 윤활유 및 연료대체제의 상업적 용도로 사용된다. 이와 반대로, 식용 유채유는 에루신산이 적게 함유되어 있으며, 낮은 함량의 글루코시놀레이트(glucosinolate)를 박(meal) 단백질에 포함한다. 유채종자로부터 기름을 추출한 후에 남은 잔여물은 고단백질의 동물사료로 사용된다(OGTR, 2002).

(3) 기지의 독소 또는 알레르기 유발성

- 겨자군에 속하는 글루코시놀레이트는 황을 함유한 물질로서 분쇄 및 사료 제조 과정에서 미로시나아제(myrosinase) 효소에 의해 유독한 고이트로젠(goitrogenic)계의 물질들로 분해된다. 그로인해, *Brassica napus*의 사료용 단백질은 가축과 가금류의 사료로 사용하는데 한계가 있어왔다 (MacDonald, 2003).
- 미로시나아제 효소는 열처리를 해 줌으로써 불활성화가 가능하다. 또한 유채종자 내 글루코시놀레이트 함량을 측정할 수 있는 방법들이 개발되어, 에루신산 및 글루코시네이트의 함량이 낮은 품종이 개발되었다.
- 근래에는 오일에 에루신산이 2%이하로 함유되어 있고, 지방이 제거된 박 내 지방성 글루코시놀레이트 조합이라도 30 μ mol/g이하로 함유되어 있는 유채품종에 대해서만 카놀라라고 명명할 수 있다. 1985년 미국 FDA에서는 카놀라를 GRAS로 승인한 바 있다(MacDonald, 2003).

(4) 안전한 식경험의 유무

- 카놀라는 대두유와 야자유에 이어 세계에서 3번째로 많이 사용되는 유지식물이다. 식물성 기름이 식용으로 사용된 이래로, 카놀라유는 지금까지 시행된 식품안전성평가에서 어떤 우려할만한 점도 발견되지 않았다(OGTR, 2002).
- 카놀라유는 저지방식품, 의약품, 영양보조식품, 과자류, 마가린과 쇼트닝, 셀러드와 쿠킹오일, 마요네즈, 샌드위치 스프레드, 크림과 커피분말크림의 제조에 사용된다.

다. 공여체에 관한 자료

(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)

- ① *barnase* 유전자
- 종(Species) : *anyloliquefaciens*
- 속(Genus) : *Bacillus*
- 과(Family) : Bacillaceae

② *bar* 유전자

- 종(Species) : *hygroscopicus*
- 속(Genus) : *Streptomyces*
- 과(Family) : Streptomycetae

(2) 안전한 식경험의 유무

- *B. amyloliquefaciens*와 *S. hygroscopicus*는 직접적으로 식용으로 이용된 적은 없다.

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

- *B. amyloliquefaciens*와 *S. hygroscopicus*의 병원성에 대해서는 보고된 바 없다.

라. 유전자재조합에 대한 자료

(1) 형질전환 과정에 관한 정보

(가) 형질전환방법(아그로박테리움법, 입자총법, 원형질체법 등)

- 아그로박테리움법을 사용하였다.
- 유전자재조합 카놀라 MS8은 수정 가능한 화분을 생성하지 못하므로, 비유전자재조합 대조군인 Drakkar와의 역교배를 통하여 유지된다.

(나) 재조합에 사용된 벡터에 대한 정보

1) 기원

- MS8 카놀라 형질전환에 사용되는 벡터는 binary Ti 플라스미드 벡터 pTHW107를 이용하였다.

2) 숙주에서의 확인

- 삽입된 DNA 서열은 상응하는 재조합 플라스미드 DNA 서열과 동일함이 확인되었다.

3) 숙주에서의 기능

- *barnase* 유전자는 꽃밥 특이적 유전자 TA29의 프로모터(Pta29)에 조절을 받아 화분낭(pollen sac)의 융단조직(tapetum)에서 Barnase 단백질(ribonuclease)을 발현하여 응성불입 형질을 나타낸다.
- *bar* 유전자는 PAT 단백질을 발현하여 제초제 글루포시네이트에 내성을 나타낸다.

(다) 중간숙주에 대한 정보

- *Agrobacterium tumefaciens* strain C58C1^{Rf}가 중간숙주로 사용되었다.

(라) 전달성에 관한 정보

- 플라스미드 벡터 pTHW107은 숙주이외의 다른 생물체로 스스로 이동될 수 있는 전달성과 관련된 유전자를 포함하고 있지 않다.

(2) 도입 유전자에 대한 정보

(가) 구성 유전자의 특성

1) 선발표지유전자

- *bar* : *S. hygroscopicus*의 *bar* 유전자 서열에서 유래되어 합성된 것이다. *bar* 유전자는 PAT 단백질을 암호화하며 글루포시네이트에 대한 내성을 부여한다.

2) 조절인자

① *barnase* 유전자

*Nicotianan tabacum*으로부터 유래한 꽃밥 특이적 유전자 TA29의 프로모터인 Pta29와 *A. tumefaciens*로부터 유래된 *nopaline synthase* 유전자의 3'nos 터미네이터에 의하여 조절된다.

② *bar* 유전자

*Arabidopsis thaliana*로부터 유래된 *rubisco subunit* 유전자의 항시발현 프로모터(constitutive promoter)인 PssuAt와 *A. tumefaciens*로부터 유래한 TL-DNA 7번 유전자의 3'g7 터미네이터에 의하여 조절된다.

3) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

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

(나) 크기 및 명칭

- 플라스미드 pTHW107을 구성하는 개별 유전인자의 크기와 명칭은 아래에 제시하였다.

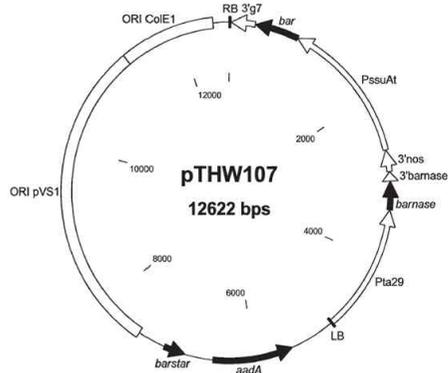
pTHW107 벡터의 주요 구성 요소

명칭	벡터 내 위치 (bp)	기능
RB	1-25	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 에서 유래하여 T-DNA의 이동에 관여하는 염기서열부분
3'g7	26-331	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 유래, TL-DNA 유전자 의 3'비번역영역
<i>bar</i>	332-883	글루포시네이트 제초제에 내성을 나타내게하는 유전자
PssuAt	884-2658	<i>A. thaliana</i> 유래, 주로 녹색조직에서 발현될 수 있도록 조절된 Constitutive promoter

3' nos	2659-2919	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 유래, 종결코돈
3' barnase	2920-3033	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> 유래, RNase를 암호화하는 유전자
barnase	3034-3369	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> 유래, RNase를 암호화하는 유전자
Pta29	3370-4922	<i>N. tabacum</i> 유래, 꽃밥 특이적 담배유전자 TA29를 조절함.
LB	4923-4947	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 에서 유래하여 T-DNA의 이동에 관여하는 염기서열부분

(다) 완성된 벡터내의 유전자 염기서열의 위치 및 방향성

- 플라스미드 pTHW107의 유전인자 위치와 방향성은 아래와 같다.



pTHW107의 유전인자 위치 및 방향성

(라) 구성 유전자의 기능

① barnase 유전자

barnase 유전자의 꽃밥특이적 발현에 의하여, 꽃밥형성과정시 융단조직세포들이 파괴되므로, 화분의 생성이 저해되고, 응성불임을 나타낸다.

② bar 유전자

유전자재조합체에서 발현하여 글루포시네이트 제조제에 내성을 나타낸다.

(마) 유해염기서열의 유무

- 유해염기서열은 존재하지 않는다.

(바) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현가능성

- 목적하는 단백질의 발현과 관련된 서열이외의 전사 및 발현 가능성이 있는 새로운 외래전사해독프레임이 존재하지 않는 것으로 나타났다.

(사) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입 (유전자의 순도)

- 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

- 유전자재조합 카놀라 MS8에 도입된 barnase 유전자는 꽃밥특이적으로 Barnase 단백질(ribonuclease)을 발현하여, 꽃밥형성과정 동안만 화분낭의 융단조직층에서 RNase를 생성하여, 융단조직층을 파괴함으로써 화분의 생성을 저해한다. 이로 인해 유전자재조합 카놀라 MS8은 응성불임을 나타낸다.
- bar 유전자는 PAT 단백질을 발현하여 식물에 글루포시네이트 내성을 부여한다.

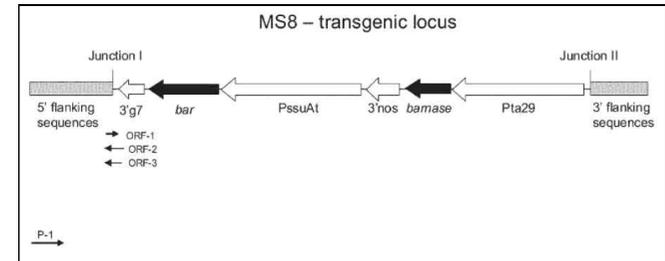
(나) 삽입부위의 수

- MS8 카놀라에는 단일 유전자 자리에 각각 한 개의 barnase 유전자 카세트 및 bar 유전자 카세트가 삽입되어 있는 것이 확인되었다.

(다) 각 삽입부위의 삽입유전자의 구성

1) 복제수, 염기서열(주변염기서열 포함)

- Southern 및 염기서열 분석 결과 MS8의 계놈에는 각각 한 개의 barnase 유전자 카세트 및 bar 유전자 카세트가 도입되었음이 확인되었다.
- 유전자재조합 카놀라 MS8 안에 플라스미드 삽입 유전자의 전체적인 모식을 나타내고 있다.



유전자재조합 카놀라 MS8에서 플라스미드의 삽입 모식도

2) 기지의 독성이나 항영양소를 암호화하는 유전자가 없음을 입증하는 자료

- 기지의 독성물질이나 항영양소를 암호화하는 것으로 알려진 유전인자는 유전자재조합 카놀라 MS8의 삽입 DNA에 존재하지 않는다.

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

- MS8 삽입유전자의 5' 및 3' 말단과 카놀라 내재 유전자 사이 접합부에서 잠재적인 외래전사해독프레임(ORF)은 3개가 확인되었으나, 모두 번역 가능성이 없는 것으로 확인되었다.

(마) 안정성에 관한 사항

1) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

- 융성불입계통 MS8 카놀라는 화분을 생성하지 않으므로 자가수분을 통한 종자생성이 불가능한 것으로 확인되었다.

2) 복수세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- 자가수분을 통한 종자생성이 불가능한 MS8 카놀라의 특성상 단일세대에서 실시된 생장 단계별 다양한 조직내 단백질 발현분석으로 대체하였다.

(2) 유전자산물에 관한 정보

(가) 유전자산물의 화학적 성질 (단백질이나 전사되지 않은 RNA)

- Barnase 단백질은 112개의 아미노산으로 구성되어 있으며, 분자량은 ~12kDa 이다.
- PAT 단백질은 183개의 아미노산으로 구성되어 있으며, 분자량은 ~22kDa 이다.

(나) 유전자산물의 기능

- Barnase 단백질은 꽃밥특이적인 발현을 통하여, 꽃밥형성과정동안만 화분낭의 용단조직층에서 ribonuclease를 생성함으로써, 융성불입형질을 부여한다.
- PAT 단백질은 식물에 글루포시네이트 암모늄 제초제를 살포하였을 때에 이에 대한 내성을 부여한다.

(다) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

- MS8 유래 PAT 단백질과 *E. coli* 유래 PAT단백질의 당화실험을 통해서 모두 당화 (glycosylation)가 일어나지 않은 것으로 확인되었다.

(라) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- 카놀라 종자는 카놀라에서 유일하게 식품으로 가공되어 사용되는 부위이다. western 분석을 통한 발현부위별 발현량 조사 결과, MS8 카놀라 종자에는 Barnase 단백질이 발현되지 않는 것으로 확인되었고, 새롭게 발현되는 단백질

은 PAT만 존재한다.

- MS8 유래 PAT 단백질과 *E. coli* 유래 PAT단백질의 구조적·기능적 동등성 비교를 통해 MS8 카놀라에 도입된 PAT 단백질의 성질을 유추할 수 있다.
- SDS-PAGE, western 분석 결과, MS8 유래 PAT 단백질은 *E. coli* 유래 PAT 단백질과 분자량이 같으며, 동등한 면역 반응성을 보이는 것으로 확인되었다.

(마) 새로운 특성의 표현형

- MS8 카놀라는 두 가지 표현형질을 가진다.
 - 1) 꽃 발달단계에서 Barnase 단백질의 발현으로 융성불입이 된다.
 - 2) PAT 단백질의 발현으로 제초제 글루포시네이트에 내성을 가진다.

(바) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- 1) 생장 단계별 여러 조직에서의 Barnase 단백질 발현분석
 - 어린 잎과 뿌리 (3-5 leaf stage에서 추출), 성숙한 잎, 꽃 봉오리 (2-3mm 꽃 봉오리), 건조된 종자에서 총 단백질을 추출하여 Barnase 단백질의 발현 유무를 확인하기 위한 western blot을 실시하였다.
 - 분석에 사용된 종자는 비유전자재조합 대조군인 Drakkar와의 여교배를 통해 생산되었다.
 - MS8/RF3의 경우는 프로모터 (Pta29)의 특이성으로 인하여, Barnase 단백질이 꽃 봉오리 조직에서만 검출이 가능하였던 반면, MS8에서는 Barnase가 발현되는 약벽세포 (tapetal cell)들이 파열되므로 검출되지 않았다.

2) 생장 단계별 여러 조직에서의 PAT 단백질 발현분석

- 어린 잎과 뿌리 (3-5 leaf stage에서 추출), 성숙한 잎, 꽃 봉오리 (2-3mm 꽃 봉오리), 건조된 종자에서 총 단백질을 추출하여 PAT 단백질의 발현 유무를 확인하기 위한 western blot을 실시하였다.
- PAT 단백질은 분석한 모든 시료에서 검출이 가능하였다.
- ELISA를 통하여 MS8 카놀라의 잎과 종자에서 PAT 단백질 함량을 측정된 결과, PAT 단백질의 발현량은 잎에서 높게 나타나는 것으로 확인되었다.

ELISA 분석방법을 이용한 PAT 단백질 발현분석 결과

Tissue	Average PAT protein contents (µg/g fresh weight ± SD)	Range of PAT protein contents (µg/g fresh weight ± SD)
Leaf (v5-6)	10.0 ± 1.5	7.3 - 12.1
Seed	2.63 ± 0.18	2.30 - 2.93

(3) 독성

(가) 생산물이 단백질인 경우

1) 안전한 식경험의 유무

- *lar* 유전자는 phosphinothricin acetyltransferase (PAT)를 암호화하고 있다. 일반적으로 Acetyl-transferase는 식품으로 고려되지는 않지만, 식품의 구성성분으로 섭취 및 사용되고 있다.

2) 기지의 독소 및 항영양소와의 아미노산 서열 유사성

- PAT 단백질의 전체 아미노산 서열을 단백질 데이터베이스 (Swissprot, trEMBL, GeneSeq-Prot, PRI, PDB, DAD, GenPept)에 있는 모든 단백질 서열과 비교한 결과 (연속하는 80개의 아미노산 대비 35%의 상동성 검색), 기지의 독소 및 항영양소와의 상동성이 확인되지 않았다.

3) 유전자 산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 열에 대한 민감성
 - PAT 단백질은 90 °C에서 60분간의 열처리에도 분해되지 않았지만, 10분 동안 55 °C 또는 그 이상의 열에 의해 완전히 불활성화 된다는 것이 보고된 바 있다.
- 단백질 분해성 시험
 - PAT 단백질은 펩신 (pepsin)이 포함된 인공 위액에서 노출 후 30초 이내에 분해되었다. 판크레아틴 (pancreatin)이 포함된 인공 장액에서는 30초 이후에 완전 분해되는 것으로 확인되었다.

4) 발현단백질의 단회투여독성

- PAT 단백질:
 - PAT단백질을 이용한 마우스 급성경구독성시험에서 처리와 관련된 독성 반응은 관찰되지 않았으며, LD₅₀은 2500 mg/kg 이상으로 측정되었다 (US EPA, 1997a).
 - 5마리의 암컷 OF1 마우스에게 1 또는 10 mg/kg의 PAT 단백질을 주입하는 정맥 독성 시험을 실시한 결과, 처리에 따른 독성 반응이 관찰되지 않았다 (Herouet et al., 2005).

(4) 알레르기성

(가) 유전자산물이 알레르겐으로 알려지고 있는가에 관한 자료

- PAT 단백질은 알레르겐에 전형적으로 나타나는 특징이 없으며, 작용기작은 잘 알려져 있고, 기질 특이성이 높기 때문에 글루포시네이트에만 작용한다. L-글루포시네이트와 구조적으로 가장 유사한 글루타메이트에는 작용하지 않는다.

(나) 유전자 산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 열에 대한 민감성

- PAT 단백질은 55 °C 또는 그 이상의 온도에서 10분 이상 열처리했을 때, 완전히 불활성화 된다는 것이 확인되었다.

○ 단백질 분해성 시험

- PAT 단백질은 인공 위액과 인공 장액에서 1분 이내의 반응시간 안에 완전 분해가 일어나는 것으로 확인되었다.

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

- 바이엘크롭사이언스가 보유한 알레르겐 데이터베이스에 있는 모든 알려진 알레르겐과 PAT 단백질 사이의 아미노산 서열 유사성에 대하여 검색을 실시하였다.
- PAT 단백질은 알려진 알레르겐과의 상동성 비교에서, 연속하는 80개 이상의 아미노산 대비 35%의 상동성이 검색된 바 없으며, 연속하는 8개 이상의 아미노산과 일치하는 서열은 확인되지 않았다.

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

- 웅성블임계통인 MS8 카놀라는 자가수분을 통한 종자생산이 불가능하다. 단독적인 상품화가 아닌, F1 hybrid (MS/RF) 종자 시스템의 모본 용도로만 제배된다.

(5) 숙주와의 차이

(가) 주요영양성분

① 일반성분

- 분석한 일반성분(회분, 탄수화물, 수분, 단백질, 지방, 산성세제불용성섬유(ADF), 중성세제불용성섬유(NFD)중 지방, 단백질 및 산성세제불용성섬유(ADF)에 대해서는 통계적 유의차가 확인되었으나, 허용범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음이 확인되었다.

② 아미노산

- 분석한 아미노산(18개) Alanine, Arginine, Aspartic acid, Cystine, Glutamic acid, Glycine, Histidine, Isoleucine, Leucine, Lysine, Methionine, Phenylalanine, Proline, Serine, Threonine, Tryptophan, Tyrosine, Valine은 통계학적으로 유의차를 보였으나, 모두 허용범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음이 확인되었다.

③ 지방산

- 분석한 지방산(12개) 4개 지방산myristic acid(14:0), oleic acid(18:1), gadoleic acid(20:1) 및 linolenic acid에서 통계적으로 유의차가 확인되었지만, 허용범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음이 확인되었다.

(나) 미량영양성분

- 분석한 구리는 허용범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음이 확인되었다.

(다) 영양억제인자 (항영양소)

- 분석한 영양억제인자(5개)는 모두 통계적으로 유의차를 보이지 않았다.

(라) 알레르기유발성분

- 카놀라는 주된 알레르기 유발체로 알려져 있지 않다.

(마) 삼입된 유전자의 대사산물

- 글루포시네이트에 대한 PAT 효소의 기질 특이성은 사람이나 동물 또는 식물에 중요한 성분이 비특이적으로 아세틸화되어 비의도적으로 대사경로에 영향을 미칠 가능성을 배제한다 (Wehrmann et al., 1996).
- 1998년 Joint meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group 에서는 N-acetyl glufosinate의 독성이 parent compound인 glufosinate ammonium과 비교하여 비슷하거나 더 낮고, 두가지 성분 모두 포유류에 대한 낮은 독성을 보인다는 결론이 내려진 바 있다 (JMPR, 1999).

(바) 영양성

- MS8 카놀라는 단독으로 상품화 되지 않기 때문에 본 항목은 해당사항이 아니다.

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

- PAT 단백질은 구조적으로 가장 닮은 기질 유사체인 glutamate (숙주의 대사 작용에 중요한 아미노산)에 대해서도 친화성을 보이지 않기 때문에, 숙주가 함유한 고유의 성분을 기질로 하여 반응할 가능성은 없다고 판단된다.

(7) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황

- 현재까지 캐나다 (1997), 미국 (1998), 일본 (1998), 호주 (2002), 멕시코 (2004), 유럽 (2005)에서 식품용으로 승인된 바 있다.

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 이용시 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 카놀라와 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

7. 기타

- 「유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률」에 의하여 유전자재조합 카놀라 MS8의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성을 농촌진흥청, 국립환경과학원, 국립수산물과학원에서 심사 완료하였다.