

유전자재조합 콩 MON87769
안전성평가자료 심사결과 보고서

2013. 4. 10.

식품의약품안전처
유전자재조합식품등 안전성평가자료 심사위원회

<차 례>

1. 요약	1
2. 심사경위	3
3. 심사경과	3
4. 심사방법	3
5. 심사 신청 자료 검토	4
5-1. 심사 신청된 식품의 개요	4
5-2. 식품으로의 적합성 검토	4
5-3. 유전자재조합체의 안전성	4
가. 유전자재조합체의 개발목적 및 이용방법에 관한 자료	4
나. 숙주에 관한 자료	4
(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)	4
(2) 재배 및 품종개량의 역사	5
(3) 기지의 독성 또는 알레르기 유발성	5
(4) 안전한 식경험의 유무	5
다. 공여체에 관한 자료	5
(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)	5
(2) 안전한 식경험의 유무	6
(3) 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성(미생물의 경우 병원성 및 기지의 병 원체와의 관련성)	6
라. 유전자재조합에 대한 자료	6
(1) 형질전환 과정에 대한 정보	6
(2) 도입 유전자에 대한 정보	7
마. 유전자재조합체의 특성에 관한 자료	10
(1) 유전자재조합체 내 도입된 유전자에 관한 정보	10
(2) 유전자산물에 관한 정보	11
(3) 독성	13
(4) 알레르기성	14
(5) 숙주와의 차이	15
(6) 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향(숙주가 함유한 고유의 성분을 기질로 하여 반 응할 가능성)	17
(7) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황	17
6. 심사 신청 자료 검토 결과	17
7. 기타	17

유전자재조합 콩 MON87769

안전성평가자료 심사결과 보고서

1. 요약

몬산토코리아(유)는 유전자재조합 콩 MON87769를 식품의약품안전처에 안전성 심사를 신청하였고, '유전자재조합식품등 안전성평가자료심사위원회'는 「유전자재조합식품의 안전성 평가 심사 등에 관한 규정」에 따라 안전성 심사를 수행하였다.

MON87769는 일반 콩에 *Primula juliae* 유래 *Pj.D6D* 유전자와 *Neurospora crassa* 유래 *Nc.FadB* 유전자가 아그로박테리움법으로 도입되어 만들어진다. 도입된 유전자에 의해 *PjΔ6D* 단백질과 *NcΔ15D* 단백질이 생성된다. 이들은 각각 지방산의 카르복실 말단으로부터 6번째 및 15번째 위치에 이중결합을 생성하는 desaturase로서 일반 콩에는 존재하지 않는 스테아리돈산(18:4 stearidonic acid, SDA)이 생성된다.

MON87769에는 각각 한 개의 *Pj.D6D* 유전자와 *Nc.FadB* 유전자가 도입되었으며, 도입된 유전자는 4세대에 걸쳐 안정적으로 유지되는 것이 확인되었다.

PjΔ6D 단백질과 *NcΔ15D* 단백질의 아미노산 서열을 이미 알려진 독소 및 항영양소의 아미노산 서열과 TOX_2009 데이터베이스를 이용하여 생물정보학적으로 비교 분석한 결과, 서열 상동성이 없는 것으로 확인되었다. 또한 *PjΔ6D* 단백질과 *NcΔ15D* 단백질로 마우스(mouse) 단회투여독성을 평가한 결과 독성이 없는 것으로 확인되었으며, MON87769로 랫드(rat)에서 90일 반복투여독성을 평가한 결과에서도 독성이 없는 것으로 확인되었다.

PjΔ6D 단백질의 아미노산 서열을 AD_2009 알레르겐 데이터베이스를 이용하여 이미 알려진 알레르겐의 아미노산 서열과 생물정보학적으로 비교 분석한 결과, 80개의 아미노산으로 이루어진 절편에 걸쳐 35%이상의 상동성을 보이는 알레르겐 서열은 없었으며, 8개씩의 인접 아미노산과 일치하는 서열도 확인되지 않았다. *NcΔ15D* 단백질의 아미노산 서열을 AD_2009 알레르겐 데이터베이스를 이용하여 이미 알려진 알레르겐의 아미노산 서열과 생물정보학적으로 비교 분석한 결과, 80개 아미노산으로 이루어진 절편에 걸쳐 35%이상의 상동성을 보이는 서열은 없었다. *NcΔ15D* 단백질은 밀에 존재하는 알레르겐인 carboxypeptidase와 8개의 인접 아미노산 단위로 일치하는 서열(SSSSSSSS)이 확인되었으나, 밀 알레르기 환자 혈청과의 반응 여부를 확인한 결과 알레르기 유발성이 없는 것으로 확인되었다.

MON87769과 일반 콩의 주요영양성분, 미량영양성분, 항영양소 등의 함량을 비교

한 결과 통계적 또는 생물학적으로 차이가 없었다. 단, MON87769에서는 일반 콩에서 존재하지 않는 지방산인 스테아리돈산, γ -리놀렌산이 의도된 수준으로 포함되어 있으며, 이들의 전구물질인 리놀레산은 일반 콩에 비해 낮은 수준으로 포함되어 있으나 안전성에 문제가 없음이 확인되었다. 그 외 미량영양성분, 항영양소등의 함량은 통계적 또는 생물학적으로 일반 콩과 차이가 없었다. 또한 MON87769를 42일 동안 육계에 계속해서 먹었을 때에도 일반 콩과 비교하여 영양성에 차이가 없는 것이 확인되었다.

한국인이 섭취하는 콩 및 콩 유래 제품을 MON87769로 대체하였을 경우를 가정하여 섭취량 평가를 실시한 결과, n-6 지방산은 FAO/WHO에서 권장하는 n-6 다중 불포화지방산 에너지적정비율(에너지섭취량의 2.5~9%)의 범위 내에서 현행 식이섭취량보다 낮게 확인되었고, n-3 지방산은 WHO에서 권장하는 n-3 지방산의 식사목표범위(에너지섭취량의 1~2%) 내에서 증가하는 것으로 확인되었다.

결론적으로, MON87769는 지금까지 식품으로 섭취해온 콩과 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

2. 심사경위

- 몬산토코리아(유)는 n-3 지방산의 식이함량 증진을 위해 스테아리돈산(stearidonic acid, SDA)이 포함된 유전자재조합 콩 MON87769를 식품위생법 제18조에 따른 안전성 평가 심사를 받기 위하여 2010년 6월 18일 식품의약품안전처에 「유전자재조합식품의 안전성 평가 심사 등에 관한 규정」(이하 '심사규정'이라 함)에서 규정한 관련 자료를 첨부하여 심사 신청하였다.
- 이에 식품의약품안전처장은 본 품목이 심사규정에 따라 안전성 평가가 이루어졌는지 여부에 대하여 '유전자재조합식품등 안전성평가자료심사위원회' (이하 '심사위원회'라 함)에 심사 의뢰하였다.

3. 심사경과

- 심사대상품목

대상품목	신청자	개발자	식품으로서 제외국의 안전성 확인(승인) 현황
유전자재조합 콩 MON87769	몬산토코리아(유)	MONSANTO	호주/뉴질랜드(2011), 캐나다(2011), 미국(2012), 멕시코(2012)

- 심사경과

- 2010년 6월 18일 : 안전성 평가자료 심사신청
- 2010년 6월 23일 : 심사위원회 서류심사 의뢰
- 2010년 11월 16일 : 1차 심사위원회 개최
- 2011년 5월 17일 : 2차 심사위원회 개최
- 2011년 10월 18일 : 3차 심사위원회 개최
- 2012년 3월 20일 : 4차 심사위원회 개최
- 2012년 8월 21일 : 5차 심사위원회 개최
- 2012년 8월 : 환경위해성 심사완료(농촌진흥청, 국립수산물과학원, 국립환경과학원)
- 2013년 1월 15일 : 6차 심사위원회 개최
- 2013년 2월 19일 ~ 3월 11일 : 공개의견수렴 실시
- 2013년 3월 19일 : 7차 심사위원회 개최

4. 심사방법

- 본 품목과 관련하여 심사 신청된 유전자재조합체가 심사규정의 적용대상인지를 검토하였다.
- 제출된 안전성 평가 자료가 심사규정에서 요구하는 자료를 갖추었는지를 확인하고 자료의 내용을 토대로 안전성 평가 자료를 심사하였다.

5. 심사 신청 자료 검토

5-1. 심사 신청된 식품의 개요

- 몬산토코리아(유)가 심사 신청한 유전자재조합 콩 MON87769는 *Pj.D6D* 유전자와 *Nc.FacB* 유전자를 가져 일반 콩에서는 존재하지 않는 스테아리돈산(SDA)를 포함한다.
- SDA는 α -linolenic acid(ALA)로부터 긴사슬 n-3 지방산인 eicosapentaenoic acid(EPA)를 생성하는 대사과정의 중간산물이다.

5-2. 식품으로의 적합성 검토

- 본 품목과 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

- 몬산토는 *PjΔ6D*($\Delta 6$ desaturase) 단백질과 *NcΔ15D*($\Delta 15$ desaturase) 단백질을 발현하여 일반 콩에서는 존재하지 않는 SDA를 포함하는 유전자재조합 콩 MON87769를 개발하였다.
- 재배방법 및 이용방법은 기존의 일반 콩과 동일하다.

나. 속주에 관한 자료

(1) 분류학적 특성(일반명, 계통분류 등)

- 종(Species) : *max*
- 속(Genus) : *Glycine*
- 과(Family) : Leguminosae
- 일반명(Common Name) : 콩

(2) 재배 및 품종개량의 역사

- 콩의 재배는 중국 은나라(기원전 1500~1027년경) 혹은 그 이전부터 시작된 것으로 사료되나, 역사적·지리적 증거는 중국 동북부의 주나라(기원전 1027~221년)에서만 찾을 수 있다. 유럽에서는 16세기 후반부터 사용하기 시작했으며, 북아메리카에는 18세기에 도입되었다.
- 콩은 미국에 도입된 후 관행육종 프로그램을 통해 개량되어 식품 및 사료에서 주요 영양소 공급원으로 사용되고 있다.

(3) 기지의 독성 또는 알레르기 유발성

- 인간은 오랜 세월 콩을 재배하고 섭취해왔으며 세계인구의 상당수가 콩 단백질을 함유한 식품을 소비한다. 콩 알곡에는 트립신 저해제 및 렉틴과 같은 항 영양소가 포함되어 있다.
- 이러한 물질로 인해 인간이나 동물에게 위해한 영향이 발견된 사례는 보고된 바 없으나, 콩에 과민한 사람에게에는 부작용을 일으킬 수 있는 알레르기 유발 단백질을 함유한다고 보고되었다.

(4) 안전한 식경험의 유무

- 콩이 가지고 있는 항영양성과 알레르기성에도 불구하고, 콩은 오래전부터 식품으로 이용되었다. 두부, 식용유, 간장 등의 형태로 섭취되며, 안전한 식품으로서의 오랜 역사를 가지고 있다. 또한, 콩은 식물성 기름의 가장 중요한 원료이다.

다. 공여체에 관한 자료

(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)

① *Primula juliae* $\Delta 6$ desaturase 유전자(*Pj.D6D*)

- 종(Species) : *juliae*
- 속(Genus) : *Primula*
- 과(Family) : Primulaceae
- 일반명(Common Name) : 앵초

② *Neurospora crassa* $\Delta 15$ desaturase 유전자(*Nc.Fad3*)

- 종(Species) : *crassa*
- 속(Genus) : *Neurospora*
- 과(Family) : Sordariaceae
- 일반명(Common Name) : 붉은빵곰팡이

(2) 안전한 식경험의 유무

① *Primula juliae*

- *Primula juliae*는 일반적으로 앵초(Primrose)로 알려진 광범위한 식물 속의 일원이다. 앵초식물은 어린 잎은 날것이나 익힌 상태로 스프에 사용되며, 생잎이나 말린 잎은 차 대용품으로 사용된다.

② *Neurospora crassa*

- 진균류인 *Neurospora crassa*는 환경에 편재하며, 세계 각지에서 식품 조리에 사용되어 왔다. 인도네시아에서는 콩을 원료로 하는 케이크의 주성분으로 사용되었으며, 브라질에서는 카사바를 가공하여 발효음료를 만드는데 사용되었고, 프랑스 남부에서는 전통방식으로 만든 로크포르 치즈에 포함되어 있다.

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

- *Primula juliae*와 *Neurospora crassa*는 인간이나 동물에 대한 병원성 생물체로 알려지지 않았다.

라. 유전자재조합에 대한 자료

(1) 형질전환에 관한 정보

(가) 형질전환방법

- 아그로박테리움(*Agrobacterium*) 매개 형질전환법을 사용하였다.

(나) 재조합에 사용된 벡터에 대한 정보

1) 기원

- 유전자재조합 콩 87769를 개발하는데 사용된 PV-GMPQ1972 벡터는 Vector E의 *NotI* 제한효소 자리에 Vector F의 *NotI* 제한효소 절편을 삽입함으로써 만들어졌다. Vector E는 *Pj.D6D* 유전자 카세트와 *cp4 epsps* 유전자 카세트 및 backbone 인자들을 포함하고 있으며, Vector F는 *Nc.FadB* 유전자 카세트를 포함하고 있다.

2) 숙주에서의 확인

- Southern 분석에서 T-DNA I의 *Pj.D6D* 유전자 카세트와 *Nc.FadB* 유전자 카세트가 확인되었다.
- 삽입된 DNA 서열은 상응하는 재조합 플라스미드 DNA 서열과 동일함을 확인하였다.

3) 숙주에서의 기능

- *Pj.D6D* 유전자는 Pj Δ 6D 단백질을 발현하여 지방산의 카르복실말단으로부터 6번째 위치에 이중결합을 생성하는 Δ 6 desaturase 기능을 한다.
- *Nc.FadB* 유전자는 Nc Δ 15D 단백질을 발현하여 지방산의 카르복실말단으로부터 15번째 위치에 이중결합을 생성하는 Δ 15 desaturase 기능을 한다.

(다) 중간숙주에 대한 정보

- 아그로박테리움을 매개로 삽입유전자가 식물체로 전달되었다.

(라) 전달성에 관한 정보

- 플라스미드 벡터 PV-GMPQ1972는 숙주이외의 다른 생물체로 스스로 이동될 수 있는 전달성과 관련된 유전자를 포함하고 있지 않다.

(2) 도입 유전자에 대한 정보

(가) 구성 유전자의 특성

1) 선발표지유전자

- *cp4 epsps* : *A. tumefaciens* strain CP4에서 식물의 EPSPS 단백질과 동일한 기능을 나타내는 단백질을 발현하는 *aroA* 유전자 서열에서 유래되어 합성된 것이다. *cp4 epsps* 유전자는 CP4 EPSPS 단백질을 암호화하며 글리포세이트에 대한 내성을 부여한다. 이 유전자는 MON87769 생성을 위한 형질전환 과정에서 선발표지유전자로 사용되었으나, R₁ 세대에서 관행육종법에 의해 분리·제거되었다.

2) 조절인자

① *Pj.Δ6D* 유전자 발현 카세트(T-DNA I)

- *7Sα'* 프로모터 : 종자 특이적으로 *Pj.D6D* 유전자의 전사를 일으킨다.
- *tml 3'* 터미네이터 : *Pj.D6D* 전사체의 polyadenylation을 지시한다.

② *Nc.FadB* 유전자 발현 카세트(T-DNA I)

- *7Sα* 프로모터 : 종자 특이적으로 *Nc.FadB* 유전자의 전사를 일으킨다.
- *E9 3'* 터미네이터 : *Nc.FadB* 전사체의 polyadenylation을 지시한다.

③ *cp4 epsps* 유전자 발현 카세트(T-DNA II)

- *35S* 프로모터 : *cp4 epsps* 유전자의 전사를 일으킨다.
- *E9 3'* 터미네이터 : *CTP2-cp4 epsps* 전사체의 polyadenylation을 지시한다.

3) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

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

(나) 크기 및 명칭

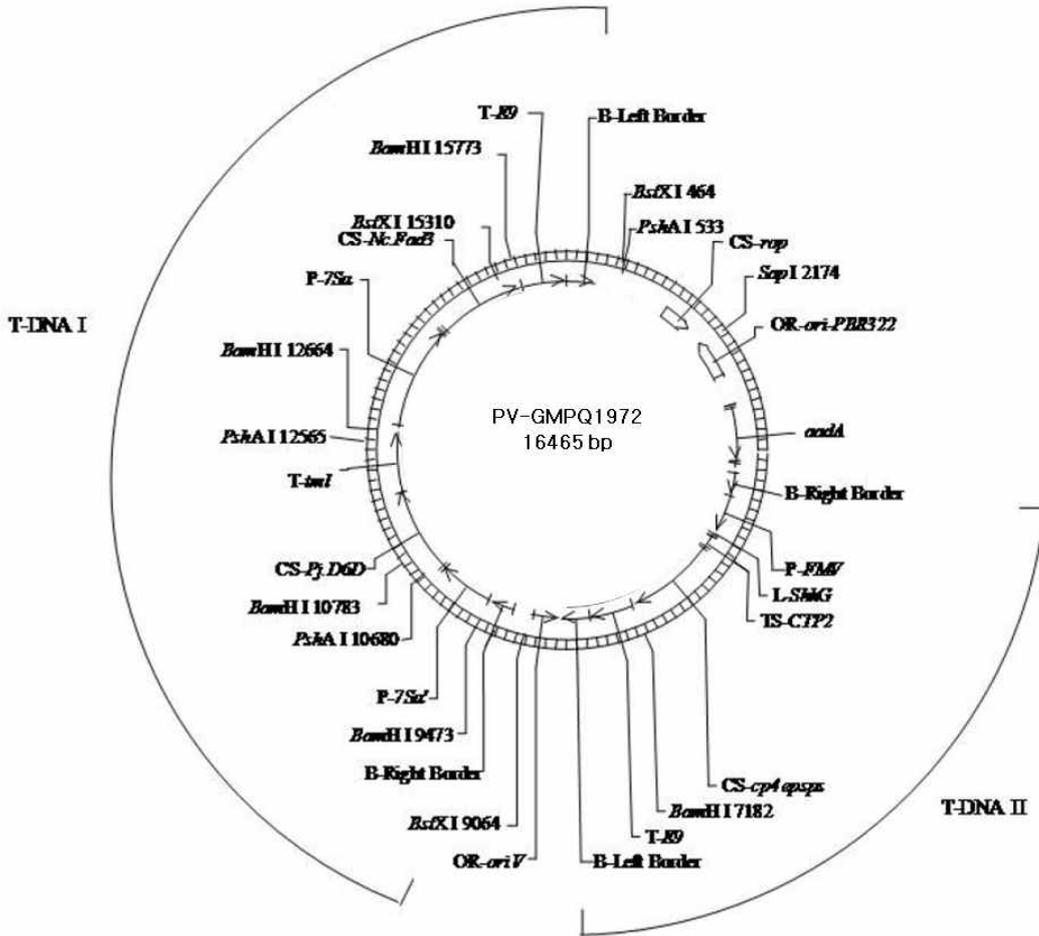
- 플라스미드 벡터 PV-GMPQ1972의 개별 유전인자의 위치와 명칭은 [표 1]과 같다.

[표 1] PV-GMPQ1972 플라스미드 벡터의 주요 구성 요소

명칭	벡터 내 위치	유전적 요소
T-DNA I		
RB	9073-9429	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 에서 유래하여 T-DNA의 transfer에 관여하는 염기서열부분
7Sα' - promoter	9481-10321	<i>Glycine max Sphas1</i> 유전자에서 유래한 종자 특이적 프로모터와 리더
Pj.D6D - coding sequence	10338-11678	<i>Primula juliae</i> 에서 Δ6 desaturase를 암호화하는 염기서열
tml - terminator	11687-12636	<i>Agrobacterium tumefaciens tml</i> 유전자의 3'비번역영역
7Sα - promoter	12738-14417	<i>Glycine max Sphas2</i> 유전자에서 유래한 종자 특이적 프로모터와 리더
Nc.Fad3 - coding sequence	14446-15735	<i>Neurospora crassa</i> 에서 Δ15 desaturase를 암호화하는 염기서열
E9 - terminator	15788-16430	<i>Pisum sativum rbcS2</i> 유전자의 3'비번역영역
LB	15-456	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 에서 유래하여 T-DNA의 transfer에 관여하는 염기서열부분
T-DNA II		
RB	4495-4851	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 에서 유래하여 T-DNA의 transfer에 관여하는 염기서열부분
35S - promoter	4885-5448	Figwort Mosaic virus(FMV) 35S RNA의 프로모터
ShkG - leader	5492-5558	<i>Arabidopsis thaliana ShkG</i> 유전자의 5'비번역서열
CTP2 - targeting sequence	5559-5786	<i>Arabidopsis thaliana ShkG</i> 유전자에서 유래한 엽록체 운반 펩타이드 서열
cp4 epsps - coding sequence	5787-7154	<i>Agrobacterium sp.</i> strain CP4에서 CP4 EPSPS 단백질을 암호화하는 <i>aroA</i> 유전자의 코돈을 변형시킨 서열
E9 - terminator	7197-7839	<i>Pisum sativum rbcS2</i> 유전자의 3'비번역영역
LB	7887-8328	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 에서 유래하여 T-DNA의 transfer에 관여하는 염기서열부분

(다) 완성된 벡터내의 유전자 염기서열의 위치 및 방향성

- 플라스미드 벡터 PV-GMPQ1972의 유전인자 위치와 방향성은 [그림 1]와 같다.



[그림 1] PV-GMPQ1972의 유전인자 위치 및 제한효소 위치

(라) 구성 유전자의 기능

- *Pj.D6D* 유전자는 *Pj*Δ6D 단백질을 발현시켜, 지방산의 카르복실말단으로부터 6번째 위치에 이중결합을 생성하는 Δ6 desaturase 기능을 한다.
- *Nc.FadB* 유전자는 *Nc*Δ15D 단백질을 발현시켜, 지방산의 카르복실말단으로부터 15번째 위치에 이중결합을 생성하는 Δ15 desaturase 기능을 한다.

(마) 유해염기서열의 유무

- 유해염기서열은 존재하지 않는다.

(바) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현가능성

- 목적으로 하는 *Pj*Δ6D 단백질과 *Nc*Δ15D 단백질의 발현과 관련된 서열 이외의 전사 및 발현가능성이 있는 새로운 외래전사해독프레임이 존재하지 않는 것으로 확인되었다.

(사) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입 (유전자의 순도)

- 목적하는 유전자 이외의 염기서열은 혼입되지 않았다.

마. 유전자재조합체의 특성에 관한 자료

(1) 유전자재조합체 내 도입된 유전자에 관한 정보

(가) 유전자재조합체의 게놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

- 유전자재조합 콩 MON87769에 도입된 유전자 *Pj.D6D*는 *Pj*Δ6D 단백질을 발현하여 지방산의 카르복실말단으로부터 6번째 위치에 이중결합을 생성시킨다.
- *Nc.FadB* 유전자는 *Nc*Δ15D 단백질을 발현하여 지방산의 카르복실말단으로부터 15번째 위치에 이중결합을 생성시킨다.
- 이로 인해 MON87769에서는 일반 콩에서 존재하지 않는 SDA가 생성된다.

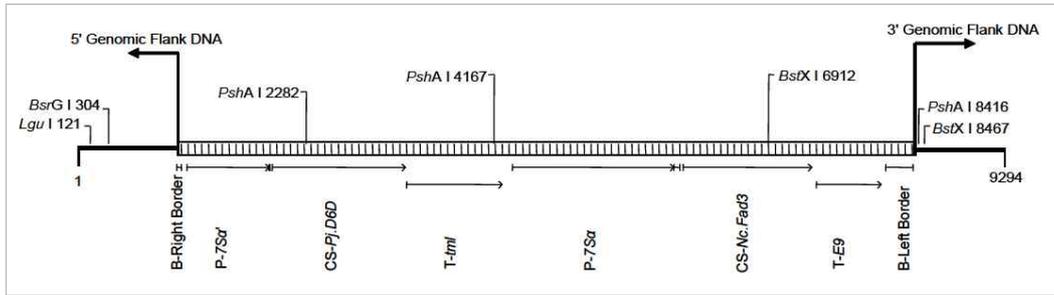
(나) 삽입부위의 수

- MON87769에는 단일 유전자 자리에 각각 한 개의 *Pj.D6D* 유전자 카세트와 *Nc.FadB* 유전자 카세트가 삽입되어 있는 것이 확인되었다.

(다) 각 삽입부위의 삽입유전자의 구성

1) 복제수, 염기서열(주변염기서열 포함)

- Southern 분석 결과, MON87769의 게놈에는 각각 한 개의 *Pj.D6D* 유전자 카세트와 *Nc.FadB* 유전자 카세트가 도입되었음이 확인되었다.
- 아래의 [그림 2]은 유전자재조합 콩 MON87769 안에 삽입된 유전자의 전체적인 모식을 나타내고 있다.



[그림 2] 유전자재조합 콩 MON87769에서 삽입 유전자 모식도

2) 기지의 독소나 항영양소를 암호화하는 유전자가 없음을 입증하는 자료

- 기지의 독성물질이나 항영양소를 암호화하는 것으로 알려진 유전인자는 유전자재조합 콩 MON87769의 삽입 DNA에 존재하지 않는다.

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

- MON87769 삽입유전자의 5' 및 3' 말단과 콩 내재 유전자 사이 접합부에서 종결코돈에서 종결코돈까지의 검색에 의해 잠재적인 외래전사해독프레임(ORF)은 11개가 확인되었다. 그러나 동 ORF는 프로모터 또는 개시코돈이 존재하지 않아 발현가능성이 희박하며, 발현되더라도 기지의 알레르겐 및 독소와 상동성이 없는 것으로 확인되었다.

(마) 안정성에 관한 사항

1) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

- MON87769에 존재하는 삽입 DNA의 안정성을 평가하기 위해 4세대(R3, R4, R5, R6)에 걸친 Southern blot 분석을 실시한 결과 MON87769의 삽입 DNA가 4세대에 걸쳐 유지됨이 확인되었다.

2) 복수 세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- MON87769 미성숙 종자에서의 PjΔ6D 단백질과 NcΔ15D 단백질의 발현량을 western blot 분석으로 확인한 결과, 발현 단백질 PjΔ6D 단백질과 NcΔ15D 단백질이 모두 4세대(R3, R4, R5, R6)에 걸쳐 안정적으로 발현됨이 확인되었다.

(2) 유전자산물에 관한 정보

(가) 유전자산물의 화학적 성질

- MON87769의 PjΔ6D 단백질은 446개의 아미노산으로 이루어지며, 약 51 kDa의 분자량을 가진다. NcΔ15D 단백질은 429개의 아미노산, 약 49kDa의 분자량을 가진다.

(나) 유전자산물의 기능

- Pj Δ 6D 단백질은 지방산의 카르복실말단으로부터 6번째 위치에 이중결합을 생성하는 Δ 6 desaturase 기능을 하고, Nc Δ 15D 단백질은 지방산의 카르복실말단으로부터 15번째 위치에 이중결합을 생성하는 Δ 15 desaturase 기능을 한다.

(다) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

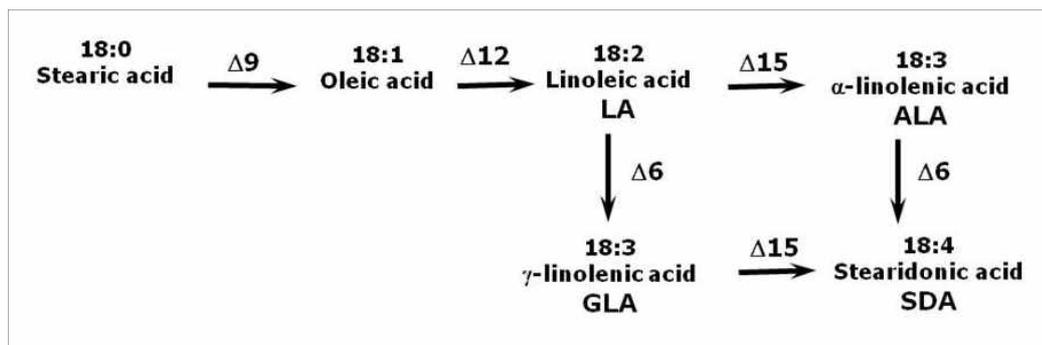
- Pj Δ 6D 단백질과 Nc Δ 15D 단백질에 대해 당화분석을 실시한 결과, 당화되지 않았음이 확인되었다.

(라) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- SDS-PAGE를 통한 분자량 분석, western blot을 통한 면역 반응성 분석, MALDI-TOF를 통한 질량 분석, N-말단 서열분석을 통해 MON87769 유래 Pj Δ 6D 단백질과 Nc Δ 15D 단백질은 구조적 변화가 없는 것으로 판단되었다.

(마) 새로운 특성의 표현형

- Pj Δ 6D 단백질이 발현됨에 따라 γ -리놀렌산, 스테아리돈산의 생합성이 일어난다. Pj Δ 6D 단백질과 비슷한 시기적 발현 특성을 보이는 Nc Δ 15D 단백질이 발현됨에 따라 α -리놀렌산과 스테아리돈산 생합성 흐름이 증가된다.



[그림 3] MON87769에서 SDA를 생산하는 지방산 생합성과정의 모식도

(바) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- MON87769 다양한 조직에서 Pj Δ 6D 단백질과 Nc Δ 15D 단백질 발현 수준을 western blot으로 정량한 결과, Pj Δ 6D 단백질과 Nc Δ 15D 단백질의 평균 발현 수준은 미성숙 종자에서 각각 100 μ g/g 건조중량과 200 μ g/g 건조중량으로 가장 높게 확인되었다. 성숙한 종자에서의 Pj Δ 6D 단백질과 Nc Δ 15D 단백질의 평균 발현 수준은 1.8 μ g/g 건조중량과 10 μ g/g 건조중량으로 확인되었다.

(3) 독성

(가) 생산물이 단백질인 경우

1) 안전한 식경험의 유무

- PjΔ6D 단백질과 NcΔ15D 단백질에 대한 직접적인 식경험은 없다.

2) 기지의 독성 및 항영양소와의 아미노산 서열 유사성

- PjΔ6D 단백질과 NcΔ15D 단백질 각각의 아미노산 서열과 이미 알려진 독소 및 항영양소의 아미노산 서열을 TOX2009 데이터베이스를 이용하여 생물정보학적으로 비교 분석한 결과, 서열 상동성이 없는 것으로 확인되었다.

3) 유전자 산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

① PjΔ6D 단백질

- 인공위액 안정성 : PjΔ6D 단백질은 인공위액에서 30초 이내 분해되는 것으로 확인되었다.
- 인공장액 안정성 : PjΔ6D 단백질은 인공장액에서 5분 이내 분해되는 것으로 확인되었다.
- 열 안정성 : PjΔ6D 단백질은 190℃ 15분간의 열처리에 의해 분해되는 것으로 확인되었다.

② NcΔ15D 단백질

- 인공위액 안정성 : NcΔ15D 단백질은 인공위액에서 30초 이내 분해되는 것으로 확인되었다.
- 인공장액 안정성 : NcΔ15D 단백질은 인공장액에서 5분 이내 분해되는 것으로 확인되었다.
- 열 안정성 : NcΔ15D 단백질은 190℃ 15분간의 열처리에 의해 분해되는 것으로 확인되었다.

4) 발현단백질의 단회투여독성

- CD-1 마우스(암수 각 10마리)를 대상으로 PjΔ6D 단백질과 NcΔ15D 단백질을 각각 4.7 mg/kg body wt.와 37.3 mg/kg body wt. 용량으로 단회 투여한 결과 어떠한 사망사례도 발견되지 않았다. 또한 투여에 따른 체중·체중증가량·사료섭취량 측정 및 임상학적 관찰·육안 병리 관찰에서 부정적인 영향이 발견되지 않았다.

5) MON87769가 포함된 사료의 90일 독성시험

- SD(Sprague-Dawley) 랫드(암수 각 20마리)를 이용하여 MON87769 유래 대두박이 각각 약 5%(w/w), 15%(w/w) 들어간 사료를 약 90일간 섭취시킨 결과, 임상검사, 장기 중량 측정, 현미경 조직검사 및 폐사율 등 모든 항목에서 부정적인 영향이 발견되지 않았다.

(4) 알레르기성

(가) 유전자산물이 알레르겐으로 알려지고 있는가에 관한 자료

- PjΔ6D 단백질과 NcΔ15D 단백질이 알레르겐이라는 보고는 없다.

(나) 유전자 산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- PjΔ6D 단백질과 NcΔ15D 단백질은 인공위액 또는 인공장액과 같은 소화효소에 쉽게 분해되며, 열처리에 쉽게 분해됨이 확인되었다.

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

- PjΔ6D 단백질의 아미노산 서열을 AD_2009 알레르겐 데이터베이스를 이용하여 이미 알려진 알레르겐의 아미노산 서열과 생물정보학적으로 비교 분석한 결과, 80개의 아미노산으로 이루어진 절편에 걸쳐 35%이상의 상동성을 보이는 알레르겐 서열은 없었으며, 8개씩의 인접 아미노산과 일치하는 서열도 확인되지 않았다.
- NcΔ15D 단백질의 아미노산 서열을 AD_2009 알레르겐 데이터베이스를 이용하여 이미 알려진 알레르겐의 아미노산 서열과 생물정보학적으로 비교 분석한 결과, 80개 아미노산으로 이루어진 절편에 걸쳐 35%이상의 상동성을 보이는 서열은 없었다. NcΔ15D 단백질은 밀에 존재하는 알레르겐인 carboxypeptidase와 8개의 인접 아미노산 단위로 일치하는 서열(SSSSSSSS)이 확인되었으나, 밀 알레르기 환자 혈청과의 반응 여부를 확인한 결과 알레르기 유발성이 없는 것으로 확인되었다.

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

- MON87769가 상업화되어 한국에서의 모든 콩 수요량을 MON87769이 대체한다고 가정할 경우,
 - 보건복지부의 국민건강영양조사 3기(2005) 통계를 바탕으로 kg체중 당 콩을 가장 많이 섭취하는 만 1~2세의 단백질 1인 1일 평균 섭취량 중 PjΔ6D 단백질이 차지할 수 있는 비율은 $3.4 \times 10^{-4}\%$ 로 확인되었고, NcΔ15D 단백질이 차지할 수 있는 비율은 $1.8 \times 10^{-3}\%$ 로 확인되었다.
 - 한국농촌경제연구원의 식품수급표(2007) 통계를 바탕으로 한국인의 단백질 1인 1일 평균 섭취량 중 PjΔ6D 단백질이 차지할 수 있는 비율은 $5.7 \times 10^{-5}\%$ 로 확인

- 되었고, NcΔ15D 단백질이 차지할 수 있는 비율은 $3.2 \times 10^{-4}\%$ 로 확인되었다.
- 이상의 결과에 따라 한국 소비자의 1일 PjΔ6D 단백질과 NcΔ15D 단백질 섭취량은 한국 소비자의 1일 단백질섭취량과 비교하면 매우 낮은 것으로 판단되었다.

(5) 숙주와의 차이

- 2006년 미국 5개 지역에서 MON87769 알곡과 일반 콩 알곡을 수확하여 성분 분석을 실시하였다.
- 통계방법으로는 혼합 분산모형(mixed model of variance)를 사용하였고, 통계학적으로 유의적 차이가 나는 성분에 대해 생물학적으로 유의적 차이가 있는지 여부 확인을 위해 허용범위(tolerance interval)를 사용하였다.

(가) 주요영양성분

① 일반성분

- 분석한 일반성분(회분, 탄수화물, 수분, 단백질, 지방, 산성세제불용성성유소, 중성세제불용성성유소) 중 탄수화물과 단백질은 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 모두 허용범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음이 확인되었다.

② 아미노산

- 분석한 아미노산(18개) 중 아미노산 17개(Ala, Arg, Asp, Cys, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Tyr, Val)는 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 모두 허용범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음이 확인되었다.

③ 지방산

- 분석한 지방산(8종) 중 지방산 6종(16:0 팔미트산, 18:1 올레산, 18:2 리놀레산, 18:3 리놀렌산, 20:0 아라키드산, 22:0 베헨산)은 통계적으로 유의적인 차이를 보였다.
- 그 중에서 지방산 5종(16:0 팔미트산, 18:1 올레산, 18:3 리놀렌산, 20:0 아라키드산, 22:0 베헨산)은 모두 허용범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음이 확인되었다.
- 18:2 리놀레산은 통합장소 분석과 5개 개별장소 분석 모두에서 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 낮았으나, 스테아리돈산(SDA)와 γ-리놀렌산(GLA)이 생산되는 개시 물질이기 때문에 예상 가능한 감소현상이었으며 안전성에 문제가 없는 것으로 확인되었다.

④ 지방산 변화에 대한 평가

- MON87769는 총지방산의 약 20~30% 수준으로 스테아리돈산을 포함하도록 개발되었으며, 성분분석을 통해서 총지방산 중 평균 26.13%의 스테아리돈산

- 이 포함되어 있는 것으로 확인되었다.
- PjΔ6D 단백질에 의한 Δ6 불포화반응으로 γ-리놀렌산이 생산된다. 성분분석결과 γ-리놀렌산은 총지방산 대비 7.09%이었으며, 섭취 안전성이 확보된 것으로 평가되었다.
- MON87769는 유지생산을 위한 가공과정 중 열처리로 인하여 총 지방산의 0.6%에 해당하는 트랜스지방산이 생성되나 이는 일반 대두유와 비슷한 수준으로 평가된다.
- 한국인이 섭취하는 콩 및 콩 유래 제품을 MON87769로 대체하였을 경우를 가정하여 섭취량 평가를 실시한 결과, n-6 지방산은 FAO/WHO에서 권장하는 n-6 다중불포화지방산 에너지적정비율(에너지섭취량의 2.5~9%)의 범위 내에서 현행 식이섭취량보다 낮게 확인되었다.
- n-3 지방산은 WHO에서 권장하는 n-3 지방산에 대한 식사목표범위(에너지섭취량의 1~2%) 내에서 증가하는 것으로 확인되었다. 스테아리돈산에서 유래한 잠재적인 EPA의 섭취량은 약 0.63g/일이며, 이를 현재 EPA와 DHA의 섭취량에 추가하더라도 1.09g/일로서 미국 FDA에서 제시한 수준인 3.0g/일을 넘지 않는 것으로 평가되었다.

(나) 미량영양성분

- 비타민E는 통계적으로 유의적인 차이가 없는 것으로 확인되었다.

(다) 내재성독소

- 콩에 대한 오랜 기간의 안전한 식경험에서 내재성 독소로 인하여 인간이나 동물의 건강에 부정적인 영향을 끼쳤다는 보고는 없었다.

(라) 영양억제인자 (항영양소)

- 분석한 영양억제인자(트립신저해제, 렉틴, 스타키오스, 라피노오스, 피트산)는 통계적으로 유의적인 차이가 없는 것으로 확인되었다.
- 분석한 이소플라본류(daidzein, genistein, glycitein)는 모두 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 모두 허용범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의적인 차이가 없음이 확인되었다.

(마) 알레르기유발성분

- MON87769의 단백질 추출물을 콩 알레르기 환자(16명)들의 혈청으로 시험(ELISA)한 결과, 일반 콩과 비교하여 알레르기성에 차이가 없는 것으로 확인되었다.

(바) 삽입된 유전자의 대사산물

- PjΔ6D 단백질과 NcΔ15D 단백질에 의해 MON87769에서는 스테아리돈산와

γ-리놀렌산이 생산되었다.

(사) 영양성

- Ross×Ross 308 육계(실험군별 암수 각 50마리)를 이용하여 starter, grower/finisher용 사료에 MON87769 대두박과 대두유를 [표 2]와 같이 배합하여, 21일령까지는 starter용 사료, 그 이후 42일까지는 grower/finisher용 사료를 섭취시켰다. 그 결과 폐사율·증체량·사료효율·도체육량의 항목에서 MON87769는 일반 콩과 비교하여 영양성에 차이가 없는 것으로 확인되었다.

[표 2] 육계 실험 사료 배합비

	대두박(%)	대두유(%)
starter	34.9	3.1
grower/finisher	31.3	3.3

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

- 효모발현 시스템에서의 기질 특이성 실험 및 성분분석결과를 토대로 PjΔ6D 단백질과 NcΔ15D 단백질은 목적으로 하는 기질이외에 다른 지방산과 반응하지 않는 것으로 확인되었다.

(7) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황

- 호주/뉴질랜드(2011), 캐나다(2011), 미국(2012), 멕시코(2012)에서 식용으로 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 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 MON87769의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성을 농촌진흥청, 국립환경과학원, 국립수산과학원에서 심사 완료하였다.