

제초제 내성 유전자재조합 콩 MON89788  
안전성평가자료 심사결과 보고서

2009. 2.

식품의약품안전청  
유전자재조합식품 안전성평가자료 심사위원회

## <차례>

1. 요약서 .....	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 .....	4
(3) 기지의 독성 또는 알레르기 유발성 .....	4
(4) 안전한 식경험의 유무 .....	4
다. 공여체에 관한 자료 .....	5
(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등) .....	5
(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) 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 .....	11
(3) 독성 .....	13
(4) 알레르기성 .....	14
(5) 숙주와의 차이 .....	15
(6) 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향 (숙주가 함유한 고유의 성분을 기질로 하여 반응할 가능성) .....	17
(7) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황 .....	17
6. 심사신청 자료 검토 결과 .....	17
7. 기타 .....	17

# 제초제 내성 유전자재조합 콩 MON89788

## 안전성평가자료 심사결과 보고서

### 1. 요약서

몬산토코리아(주)는 제초제 내성 유전자재조합 콩 MON89788을 식품의약품 안전청에 안전성 심사를 신청하였고, "유전자재조합식품 안전성 평가 자료 심사위원회"는 「유전자재조합식품의 안전성평가 심사 등에 관한 규정」에 따라 안전성 심사를 수행하였다.

MON89788은 일반 콩에 토양 세균에 있는 *cp4 epsps* 유전자를 아그로박테리움법으로 도입하여 만들어진다. 도입된 유전자의 발현에 의해 CP4 EPSPS 단백질이 생성되며, 이 단백질은 MON89788이 농업용 제초제인 글리포세이트(glyphosate)에 대한 내성을 가지게 한다.

MON89788에는 하나의 *cp4 epsps* 유전자가 도입되었으며, 도입된 유전자가 여러 세대에 걸쳐 안정적으로 유전되어 발현되는 것으로 나타났다.

새로 생성된 단백질 CP4 EPSPS에 대하여 마우스 단회투여 독성을 평가한 결과 독성이 없는 것으로 나타났으며, 15 % MON89788 가루를 90일 동안 랫드에 계속해서 먹었을 때에도 역시 독성 징후가 나타나지 않았다. MON89788의 알레르기성을 평가하기 위해 단백질 추출물을 이용하여 콩 알레르기 환자들의 혈청 시험 결과, 일반 콩에 비해 알레르기성이 증가하지 않는 것으로 나타났다.

MON89788과 일반 콩의 주요영양성분, 미량영양성분, 항영양소 등의 함량 분석차이를 비교한 결과 생물학적 차이가 없었다.

결론적으로, 제초제 내성 유전자재조합 콩 MON89788은 지금까지 식품으로 섭취해온 일반 콩과 비교했을 때 인체 안전성에 문제가 없음을 확인하였다.

## 2. 심사경위

- 몬산토코리아(주)는 농업용 제초제인 글리포세이트(glyphosate)에 대하여 내성을 갖는 콩 MON89788에 대해 식품위생법 제15조에 따른 안전성 평가심사를 받기 위하여 2006년 12월 18일 식품의약품안전청에 「유전자재조합식품의 안전성평가 심사 등에 관한 규정」(이하 ‘심사규정’이라고 함)에서 규정한 관련 자료를 첨부하여 심사 신청하였다.
- 이에 식품의약품안전청장은 본 제품이 심사규정에 따라 안전성 평가가 이루어졌는지 여부에 대하여 ‘유전자재조합식품 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
제초제내성 유전자재조합 콩 MON89788	몬산토코리아(주)	Monsanto Co. (U.S.A)	미국(2007년), 캐나다(2007년), 일본(2007년), 필리핀(2007년), 호주(2008년), EU(2008년)

- 심사경과
  - 2006. 12. 18. : 안전성 평가자료 심사신청
  - 2006. 12. 25. : 심사위원회 서류심사 의뢰
  - 2006. 12. 28. : 1차 심사위원회 개최
  - 2007. 6. 8. : 보완자료 요구
  - 2007. 7. 10. : 2차 심사위원회 개최
  - 2007. 11. 9. : 보완자료 제출
  - 2007. 12. 4. : 3차 심사위원회 개최
  - 2008. 2. 19. : 4차 심사위원회 개최
  - 2009. 1월 : 환경위해성 심사 완료(농촌진흥청, 국립수산물과학원, 국립환경과학원)
  - 2009. 1. 22. ~ 2. 10. : 공개의견 수렴
  - 2009. 2. 17. : 5차 심사위원회 개최

#### 4. 심사방법

- 본 제품과 관련하여 심사 의뢰된 유전자재조합체가 심사규정의 적용대상인지를 검토하고,
- 제출된 안전성 평가 자료가 심사규정에서 요구하는 자료를 갖추었는지를 확인하여 미비한 부분에 대해서는 보완하도록 하면서 자료의 내용을 토대로 안전성 평가 자료를 심사한다.

#### 5. 심사 신청 자료 검토

##### 5-1. 심사 신청된 식품의 개요

- 몬산토코리아(주)가 심사 신청한 유전자재조합 콩 MON89788은 제초제 글리포세이트에 내성을 가지는 *cp4 epsps*(5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate synthase) 유전자를 가져 농업용 제초제 글리포세이트에 대하여 내성을 나타낸다.

##### 5-2. 식품으로의 적합성 검토

- 본 제품과 관련하여 제출된 안전성 평가 자료가 「유전자재조합식품의 안전성 평가 심사 등에 관한규정」 제12조에서 요구하는 자료를 만족시키는지 여부를 검토하였으며,
- 자료의 내용을 토대로 다음과 같이 식품으로의 안전성이 확보되어 있는 지를 심사하였다.

##### 5-3. 유전자재조합체의 안전성

###### 가. 유전자재조합체의 개발목적 및 이용방법에 관한 자료

- 몬산토사는 2세대 글리포세이트 내성 콩인 Roundup RReady2Yield<sup>®</sup> 즉 MON89788을 개발하였다. MON89788은 Roundup 제초제에 대한 내성과 잡초 관리 측면에서 기존의 Roundup Ready 콩과 동등하고 기존의 Roundup Ready 콩에 비해 수확량이 증가한다고 한다.
- 그 밖의 재배방법 및 이용방법은 기존의 콩과 동일하다.

###### 나. 숙주에 관한 자료

- (1) 분류학적 특성(일반명, 계통분류 등)

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

## (2) 재배 및 품종개량의 역사

- 콩은 가장 오래된 재배작물로 간주되며 콩의 재배는 중국 상나라(기원전 1500 ~ 1027 년경) 혹은 그 이전부터 시작된 것으로 생각된다 (Hymowitz, 1970).
- 현재 콩은 35 개국 이상에서 상업적 작물로 재배되고 있다. 콩의 주요 재배국은 미국, 브라질, 아르헨티나, 중국, 인도이며 이들 국가의 생산량은 2004년 세계 콩 생산량의 90%가량으로 추산된다 (Soya and Oilseed Bluebook, 2005). 중국과 인도에서 재배된 콩은 주로 내수용인 반면 미국, 브라질, 아르헨티나에서 생산된 콩의 상당 부분은 콩, 대두박, 콩기름의 형태로 수출된다.
- 자연적인 교배가 발생할 수는 있지만 콩은 일반적으로 자가수분 종으로 간주된다 (OECD, 2000; Garber and Odland, 1926; Caviness, 1966). 콩 품종 개량에는 역교잡, 단일계통육종(single pod descent), 계통육종, 집단 육종과 같은 육종법이 일반적인 절차로 사용된다 (Poehlman and Sleper, 1995). 이와 같은 육종법은 모두 인공수분으로 잡종을 생성한 후 선발 및 시험을 거쳐 최종적으로 우수품종을 선정한다 (Sleper and Shannon, 2003).

## (3) 기지의 독성 또는 알레르기 유발성

- 인간은 오랜 세월 콩을 재배하고 섭취해왔으며 세계인구의 상당수가 콩 단백질 함유 식품을 소비한다. 콩에는 트립신 저해제(trypsin inhibitor), 렉틴(lectin)과 같은 항영양소를 함유한다. 트립신 저해제와 렉틴은 열에 약하므로 열을 가하면 분해된다.
- 콩은 과민한 사람에게서는 부작용을 일으킬 수 있는 알레르기 유발 단백질을 함유한다고 보고되었다 (OECD, 2001). 하지만 사람이 콩 단백질에 알레르기 반응을 나타낸 것으로 문서화된 사례는 많지 않다 (Internet Symposium of Food Allergens, 1999).

## (4) 안전한 식경험의 유무

- 일반적으로 콩은 가장 오래된 재배작물 중 하나로 간주되며 중국 북부와 중부를 원산지로 하여 (Hymowitz, 1970) 오랜 기간 식품으로서 재배되어 안전하게 섭취된 경험이 있다.

## 다. 공여체에 관한 자료

### (1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)

- 종(Species) : strain CP4
- 속(Genus) : *Agrobacterium*
- 과(Family) : *Rhizobiaceae*
- 목(Order): *Rhizobiaceae* group
- 계(Domain): Bacteria

### (2) 안전한 식경험의 유무

- *Agrobacterium sp.* strain CP4는 글리포세이트 내성 EPSPS 단백질을 생산함으로써 글리포세이트에 내성을 나타내는 세균이므로 공여체로 선택되었다 (Padgett *et al.*, 1996). 세균 분리체 CP4는 미국 미생물보존센터 (American Type Culture Collection)에 의해 *Agrobacterium* 종으로 확인되었다. *Agrobacterium* 종은 인간이나 동물 병원체로 알려지지 않았으며 일반적으로 알레르기성이 없다 (FAO/WHO, 1991). 또한 FAO/WHO(2001)에 따르면, 세균 단백질에 민감한 집단으로 알려진 개체군은 없다.

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

- *Agrobacterium*은 인간이나 동물 병원체로 알려지지 않았으며 일반적으로 알레르기성이 없다 (FAO/WHO, 1991).

## 라. 유전자재조합에 대한 자료

### (1) 형질전환에 관한 정보

#### (가) 형질전환방법 (아그로박테리움법, 입자총법, 원형질체법 등)

- 아그로박테리움법을 사용하였다.

#### (나) 재조합에 사용된 벡터에 대한 정보

##### 1) 기원

- 플라스미드 벡터 PV-GMGOX20은 하나의 발현 카세트에 이루어진 9.7 kb의 *Agrobacterium* 발현 플라스미드이다. 발현 카세트에는 *cp4 epsps* 코딩서열이 포함되어 있으며 *cp4 epsps*는 chimeric FMV/Tsf1 프로모터,

Tsf1 리더, CTP2 목표서열, E9 3' 종료서열의 제어를 받는다.

## 2) 숙주에서의 확인

- PV-GMGOX20 플라스미드 벡터의 분자량은 약 9.7 kb이며 좌측경계와 우측경계 사이에 *cp4 epsps* 유전자발현 카세트가 포함되어 있다. 콩 게놈에 도입된 T-DNA의 분자량은 약 4.3 kb이며 게놈에 도입되지 않은 DNA 골격(backbone) 영역은 약 5.4 kb이다.
- T-DNA에는 우측 경계영역에서부터 chimeric 전사프로모터(P-FMV/TSF1), Tsf1유전자(L-Tsf1 및 I-Tsf1)에서 유래한 리더 서열과 인트론 서열, 엽록체 transit peptide 서열(TS-CTP2), *cp4 epsps* 코딩서열(CS-*cp4 epsps*), RbcS2 유전자(T-E9)에서 유래한 polyadenylation 서열이 포함되어 있다.
- 형질전환 과정에서 콩 게놈에 도입되지 않은 T-DNA 외부의 골격 영역에는 세균에서 플라스미드의 유지를 위한 두 개의 복제 기점(OR-oriV, OR-ori-PBR322)과 세균 선발마커 유전자(*aadA*)가 포함되어 있다.

## 3) 숙주에서의 기능

- MON89788에서 생산된 CP4 EPSPS 단백질은 식물 내생성 EPSPS에 비해 글리포세이트에 대한 친화력이 낮다는 점을 제외하고는 식물 내생성 EPSPS 효소와 기능상 동일하였다 (Padgett *et al.*, 1996).

### (다) 중간숙주에 대한 정보

- *Agrobacterium tumefaciens*를 매개로 하여 삽입유전자를 식물체로 전달하였다.

### (라) 전달성에 관한 정보

- 콩으로부터 콩과 타화수정 불가능한 다른 종으로 유전물질이 자력으로 전달되었다는 보고는 없는 것으로 알려져 있다. 이론적으로 수평적 유전자 전달에 의해 다른 생물체 사이에 유전물질이 전달될 수는 있다. 그러나 자연 조건에서 식물이나 미생물로부터의 수평적 유전자 전달은 실험적으로 입증되지 않았다 (Bertolla and Simonet, 1999; Nielson *et al.*, 2000).

## (2) 도입 유전자에 대한 정보

### (가) 구성 유전자의 특성

- 도입유전자의 구성은 다음과 같이 설명되고 있다.



*cp4 epsps* : 455 개 아미노산의 단일 폴리펩타이드로 구성된 47.6 kDa의 EPSPS 단백질을 발현한다. MON89788에서 생산된 CP4 EPSPS 단백질은 식물 내생성 EPSPS에 비해 글리포세이트에 대한 친화력이 낮다는 점을 제외하고는 식물 내생성 EPSPS 효소와 기능상 동일하다 (Padgett *et al.*, 1996).

*Arabidopsis thaliana epsps* Transit Peptide : transit peptide는 CP4 EPSPS 단백질을 방향족 아미노산의 생합성이 일어나는 장소인 엽록체로 수송하도록 지시한다 (Klee *et al.*, 1987; Kishore *et al.*, 1988).

#### 1) 선발표지유전자

플라스미드 PV-GMGOX20에는 세균성 선발표지유전자 *aadA*, 세균 프로모터, 분자 복제와 선발을 위해 spectinomycin 및 streptomycin 에 내성을 부여하는 transposon Tn7 유래 효소의 코딩서열이 포함되어 있다 (Fling *et al.*, 1985). 이 선발표지유전자는 경계영역 외부에 존재하며 예상대로 MON89788에는 존재하지 않았다.

#### 2) 조절인자

*cp4 epsps* 코딩서열은 P-FMV/Tsf1 전사 프로모터의 제어를 받는다. 프로모터 서열에 이어 비번역 L-Tsf1 리더서열(exon 1)과 I-Tsf1 비번역 intron 서열 (Axelos *et al.*, 1989)이 존재한다. CTP2/*cp4 epsps* 코딩서열은 *Agrobacterium sp.* strain CP4에서 유래하였으며 소형 subunit (RbcS2) E9 유전자인 pea ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase의 3' 비번역 영역을 포함하는 T-E9 DNA 서열의 3' 말단에 연결되어 있다 (Coruzzi *et al.*, 1984).

#### 3) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

식물 DNA의 기능에 영향을 주는 다른 유전인자는 PV-GMGOX20에 존재하지 않으므로 MON89788의 DNA 삽입체에도 존재하지 않는다.

#### (나) 크기 및 명칭

- P-FMV/Tsf1 : 1,039 bp, enhancer 서열을 인코딩하는 *Arabidopsis thaliana Tsf1* 유전자 프로모터가 포함된 chimeric 프로모터
- TS-CTP2 : 227 bp, *Arabidopsis thaliana epsps* 유전자(Klee *et al.*, 1987)에서 유래한 엽록체 transit peptide 서열이며 transit peptide는 CP4 EPSPS 단백질을 방향족 아미노산의 생합성이 일어나는 장소인 엽록체로 이동하도록 지시
- CS-*cp4 epsps* : 1,367 bp, CP4 EPSPS 단백질을 발현하는 유전자, *Agrobacterium sp.* CP4에서 유래

(다) 완성된 벡터내의 유전자 염기서열의 위치 및 방향성

- 제한효소지도, 벡터 내에서의 유전자위치, 방향성이 제시되었다.

(라) 구성 유전자의 기능

- *cp4 epsps* 유전자 : 토양 내에 일반적으로 존재하는 세균인 *Agrobacterium* sp. Strain CP4에서 유래한 *cp4 epsps* 유전자는 455 개 아미노산의 단일 폴리펩타이드로 구성된 47.6 kDa의 EPSPS 단백질을 인코딩하는 것으로 나타났다 (Padgett *et al.*, 1996). 식물에서 내생성 EPSPS 효소는 엽록체에 존재한다. MON89788에서 생산된 CP4 EPSPS 단백질은 식물 내생성 EPSPS에 비해 글리포세이트에 대한 친화력이 낮다는 점을 제외하고는 식물 내생성 EPSPS 효소와 기능상 동일하다 (Padgett *et al.*, 1996).

(마) 유해염기서열의 유무

- 플라스미드 PV-GMGOX20에 존재하는 유전인자 또는 플라스미드에서 MON89788의 DNA 삽입체로 전달된 유전인자에는 유해염기서열이 존재하지 않았다.

(바) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현가능성

- CP4 EPSPS 단백질을 암호화하는 서열을 제외한 다른 외래전사해독프레임은 플라스미드 PV-GMGOX20에서 MON89788의 DNA 삽입체로 전달되지 않았으며, 그 전사 및 발현가능성도 없다.

(사) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입 (유전자의 순도)

- PV-GMGOX20에서 유래한 의도한 유전자 외에 다른 서열은 MON89788의 DNA에 삽입되지 않았음이 밝혀졌다 (Dickinson and Masucci, 2006).
- 40 bp의 모본작물 게놈 DNA가 T-DNA 삽입부위에서 삭제되었다고 나타났다. 또한 MON89788의 삽입체와 식물게놈 연결부위에는 모본작물 게놈에 존재하지 않는 5'의 10 개 염기와 3'의 6 개 염기가 존재하였는데 이와 같이 약간의 DNA의 추가 또는 제거는 *Agrobacterium* 매개 형질전환 과정에서 식물에서 발생하는 이중가닥 절단회복 기작(double-strand break repair mechanism)으로 인한 현상으로 생각된다 (Salomon and Puchta, 1998). 분석 결과를 바탕으로 MON89788 삽입체 위치에는 약간의 게놈 재정렬이 존재하며 MON89788 삽입체와 인접한 DNA 서열은 콩 게놈에 원래 존재하는 서열이라고 결론 내릴 수 있다.

## 마. 유전자재조합체의 특성에 관한 자료

### (1) 유전자재조합체 내 도입된 유전자에 관한 정보

#### (가) 유전자재조합체의 게놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

- 분자분석 결과, MON89788에는 콩 게놈 내 단일 유전자자리에 하나의 온전한 *cp4 epsps* 발현 카세트가 포함된 것으로 나타났다.
- 콩 게놈에 삽입된 T-DNA의 분자량은 약 4.3 kb이며 우측 경계영역에서부터 chimeric 전사 프로모터 (P-FMV/Tsf1), Tsf1 유전자에서 유래한 리더서열과 intron 서열 (L-Tsf1 및 I-Tsf1), 엽록체 transit peptide 서열 (TS-CTP2), *cp4 epsps* 코딩서열 (CS-*cp4 epsps*), RbcS2 유전자에서 유래한 polyadenylation 서열 (T-E9)이 포함되었다.
- DNA 서열분석을 실시한 결과, MON89788 삽입체에 대해 예상했던 염기서열과 유전인자의 구성이 확인되었다. 또한 삽입체 분리분석 결과 예상했던 분리비율과 관찰된 분리비율과 일치하였다. 이와 같은 결과는 멘델의 유전법칙에 따라 분리하는 *cp4 epsps* 유전자 카세트의 단일 염색체 삽입에서 나타난 결과와 일치한다.

#### (나) 삽입부위의 수

- Southern blot 분석과 DNA 염기서열 분석결과, MON89788 DNA에서는 5.7 kb 위치의 단일 밴드가 생성되었으며 이는 MON89788에 5.7 kb *BpI/XmnI* 제한단편 내에 하나의 삽입체가 존재함을 의미한다.

#### (다) 각 삽입부위의 삽입유전자의 구성

##### 1) 복제수, 염기서열(주변염기서열 포함)

- 삽입 유전자의 복제수 : Southern blot 분석 결과, MON89788에는 하나의 유전자자리에 삽입된 하나의 DNA 사본이 포함되어 있다.
- 삽입유전자 염기서열 : 삽입체의 DNA 서열은 PV-GMGOX20의 Right Border 영역에 있는 9,604 염기에서 시작하여 Left Border 영역의 4,242 염기로 끝이 나는 4,303 bp로 구성되어 있다. 실험결과, MON89788 삽입체의 DNA 서열은 PV-GMGOX20의 서열과 같다.
- 주변염기서열 : 삽입체의 5'말단 주변 genomic DNA 1,103 bp와 3'말단 주변 genomic DNA 1,060 bp도 확인하였다.

2) 기지의 독성이나 항영양소를 암호화하는 유전자가 없음을 입증하는 자료

- 기지의 독성이나 항영양소를 암호화하는 것으로 알려진 유전인자는 MON89788의 삽입체 DNA에 존재하지 않는다. 이는 삽입체 DNA 및 인접한 5'와 3'의 DNA의 추정상의 폴리펩타이드를 대상으로 생물정보학적 분석을 실시한 결과, 확인되었다.

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

- 모두 6 개의 가상의 해독프레임이 있었고 이를 생물정보학적 방법을 사용하여 알레르겐 DB(AD6), 독소 DB(TOXIN5), 단백질 서열 DB(ALLPEPTIDES)에 존재하는 단백질 서열과의 구조적 연관성을 평가하기 위해 FASTA 서열 정렬도구를 사용하였다. 구조적 유사성과 더불어 쌍대비교(pair-wise comparison) 알고리즘을 사용하여 가상의 폴리펩타이드를 짧은 길이의 폴리펩타이드 동일성에 대해 검사하였다. 조사결과, 가상의 폴리펩타이드 모두 알레르겐, 독소 단백질과 생물학적으로 연관된 구조적 연관성을 지니지 않는 것으로 나타났다.

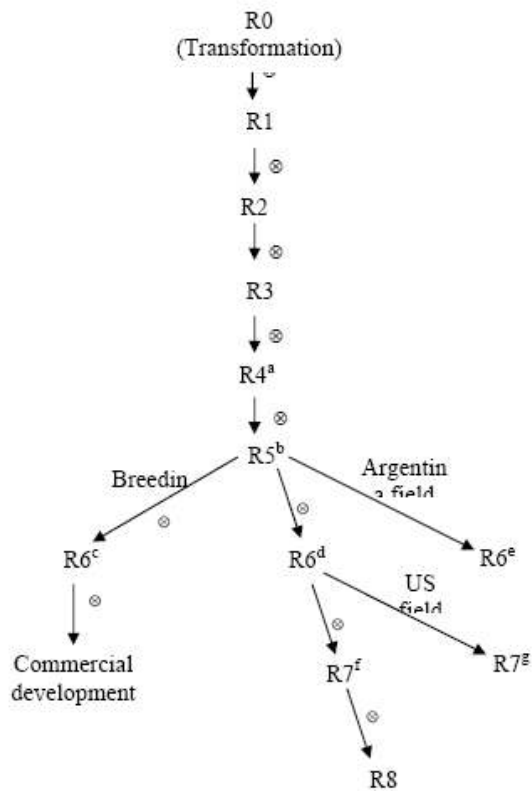
(마) 안정성에 관한 사항

1) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

- MON89788에 존재하는 T-DNA의 안정성을 평가하기 위해 MON89788 DNA를 사용하여 4 세대에 걸친 Southern blot 분석 결과 MON89788 삽입 DNA의 안정성이 입증되었다.

2) 복수 세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- R4a, R5b, R6c, R6d, R6e, R7f, R7g 세대(그림)를 포함하여 MON89788의 복수 육종세대에 대하여 CP4 EPSPS 단백질의 존재여부를 Western blot 분석으로 측정하였다. CP4 EPSPS 단백질은 모든 세대의 MON89788 잎 시료에서 검출된 반면 대조군 잎 시료에서는 검출되지 않았다. 또한 MON89788 R7g 종자시료에서는 CP4 EPSPS 단백질이 검출되었으나 대조군 종자에서는 검출되지 않았다. 이 결과는 복수세대에 CP4 EPSPS 단백질이 존재함을 증명한다.



[그림] MON89788 육종 가계도

(2) 유전자산물에 관한 정보

(가) 유전자산물의 화학적 성질 (단백질이나 전사되지 않은 RNA)

- MON89788에서 생산된 CP4 EPSPS 단백질의 특성 규명 확립에 사용된 분석 방법은 다음과 같다: (1) MON89788과 *E. coli* 단백질 간의 분자량 동등성을 확인하기 위한 SDS-PAGE (2) anti-CP4 EPSPS 항체를 사용하여 MON89788과 *E. coli* 단백질 간의 면역반응 동등성을 확인하기 위한 immunoblot 분석 (3) N-말단 서열분석 (4) tryptic peptide map을 생성하기 위한 MALDI-TOF(matrix assisted laser desorption ionization time of flight) 질량분광분석 (5) MON89788과 *E. coli* 단백질 간의 기능적 동등성을 입증하기 위한 CP4 EPSPS 효소활성분석.

그 결과 MON89788 CP4 EPSPS 단백질과 *E. coli* 생산성 CP4 EPSPS 단백질의 동등성을 입증하였다.

(나) 유전자산물의 기능

- CP4 EPSPS 단백질은 식물 내생성 EPSPS 단백질과 구조적으로 유사하며 기능적으로 동일하나 식물 내생성 EPSPS와 비교하여 Roundup 제초제의 활성성분인 글리포세이트에 대해 친화력이 훨씬 감소되었다 (Padgett *et al.*, 1996).
- 효소활성 분석 결과 MON89788에서 생산된 CP4 EPSPS 단백질과 *E. coli*에서 생산된 CP4 EPSPS 단백질의 활성은 동등한 것으로 밝힘으로서 두 단백질이 기능적으로 동등하다는 사실을 입증하였다.

(다) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

- *E. coli*에서 발현한 CP4 EPSPS 단백질과 MON89788 CP4 EPSPS 단백질을 분자량, 번역반응, 당화분석 및 생물학적 활성에 대해 비교한 결과, *E. coli*에서 생산된 CP4 EPSPS처럼 MON89788에서 생산된 CP4 EPSPS 단백질은 당화되지 않는 것으로 밝혀졌다.

(라) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- MON89788에서 발현된 CP4 EPSPS 단백질의 아미노산 서열은 *Agrobacterium* CP4 EPSPS 서열과 동일하였다.

(마) 새로운 특성의 표현형

- MON89788은 Roundup 농업용 제초제의 활성 성분인 글리포세이트에 대해 내성을 부여하는 CP4 EPSPS 단백질을 생산한다.

(바) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- 조직 내 CP4 EPSPS 단백질의 수준을 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)를 사용하여 측정하였다. 2005 년 재배시기 동안 미국 5 개 지역에 걸친 반복 포장시험에서 생산된 MON89788에서 over-season leaf(OSL), 알곡(grain), 뿌리(root), 목초(forage)를 수집하여 CP4 EPSPS 단백질 수준을 측정하였다.
- MON89788에서 OSL1, OSL2, OSL3, OSL4, 알곡, 뿌리, 목초에 포함된 평균 CP4 EPSPS 단백질 수준은 각각 300, 340, 330, 290, 150, 74, 220  $\mu\text{g/g}$  DW이었다. 비 유전자재조합 콩 A3244의 CP4 EPSPS 단백질 수준은 모든 조직에서 검출한계(LOD) 이하로 나타났다.

### (3) 독성

#### (가) 생산물이 단백질인 경우

##### 1) 안전한 식경험의 유무

- CP4 EPSPS 단백질은 식용 작물(예. 콩과 옥수수), 제빵용 효모 (*Saccharomyces cerevisiae*)와 같은 곰팡이 및 미생물 식품 원료를 포함하여 식물에 자연적으로 존재하는 EPSPS와 상동성이 있으며 이와 같은 모든 EPSPS는 인간이 안전하게 섭취한 오랜 경험이 있다 (Padgett *et al.*, 1996; Harrison *et al.*, 1996). CP4 EPSPS 단백질과 다양한 식품에 존재하는 유사한 EPSPS 단백질 계열을 사람이 광범위하게 섭취하였으며 건강에 대해 문제가 없었다.
- CP4 EPSPS 단백질은 앞서 유전자재조합 콩 RRS (2000), 유전자재조합 옥수수 NK603 (2002), 유전자재조합 옥수수 MON88017 (2006), 유전자재조합 면화 1445 (2003), 유전자재조합 면화 MON88913 (2006), 유전자재조합 카놀라 GT73 (2003), 유전자재조합 사탕무 H7-1 (2006), 유전자재조합 알팔파 J101, J163, J101xJ163 (2007)에 대한 안전성심사 시 이미 검토된 바 있다.

##### 2) 기지의 독성 및 항영양소와의 아미노산 서열 유사성

- CP4 EPSPS 단백질과 ALLPEPTIDES 데이터베이스에 있는 단백질 간의 잠재적인 구조적 유사성을 FASTA 서열정렬 도구를 사용하여 평가한 결과, CP4 EPSPS 단백질과 기지의 독소 또는 인간이나 동물의 건강과 관련된 약리활성 단백질과 구조적 유사성이 없었다.

##### 3) 유전자 산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 열 안정성 : 190°C 에서 30 분간 가열한 후 Western blot 분석을 실시한 결과, 면역검출 가능한 CP4 EPSPS 단백질은 열처리 후 99% 이상 감소하였다.
- 소화액 안정성 : 실험 결과, *E. coli* 생산성 CP4 EPSPS 단백질은 인공 위액에 방치된 후 급속히 소화됨이 확인되었다.

##### 4) 안전한 식경험이 없는 단백질인 경우 경구독성실험 및 그 단백질을 가지고 있는 것으로 알려진 식물에서 그 단백질의 생물학적 기능

- Harrison 등(1996)이 실시한 급성 독성연구에서는 암컷 및 수컷 CD-1 마우스 각각 10 마리씩으로 구성된 집단을 대상으로 1 회 최고 572mg/kg 수준의 CP4 EPSPS 단백질을 위장내투여법으로 투여한 결과 독성이 나타나지 않았다.

#### (4) 알레르기성

(가) 유전자산물이 알레르겐으로 알려지고 있는가에 관한 자료

- CP4 EPSPS 단백질이 사람에게 대한 알레르기 유발성을 갖는다는 보고는 없다.

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

- CP4 EPSPS 단백질은 열처리 및 알칼리처리나 소화효소에 의해 쉽게 분해되며, 면역검출 가능한 CP4 EPSPS 단백질은 열처리 후 99% 이상 감소하였다.

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

- MON 89788 에 존재하는 CP4 EPSPS 단백질과 알려진 알레르겐, 글라이딘 (gliadin), 글루테닌(glutenin) 사이의 서열 유사성은 80 개 이상의 아미노산 단편에 걸쳐 35 %이상의 아미노산 동일성을 보기 위한 FASTA 서열정렬 도구, 8 개 아미노산 sliding window 검색을 사용하여 평가하였다 (Codex Alimentarius, 2003). 이러한 분석결과, CP4 EPSPS 단백질이 알려진 알레르겐, 글라이딘, 글루테닌과 아미노산 서열 유사성은 갖지 않았다.

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

- MON89788 섭취로 인한 CP4 EPSPS의 총 섭취량을 추정할 경우 해당 식품 부분(알곡, 콩가루, 두유)에서 CP4 EPSPS 단백질의 평균 수준을 사용해야 하지만 알곡, 콩가루, 두유 각각에 대한 특정한 값은 구할 수 없다. 각 부분에 대한 CP4 EPSPS 단백질의 농도는 콩 알곡에서 측정된 CP4 EPSPS의 평균 농도와 동일하다고 가정하여  $150 \mu\text{g/g DW}$ 이고 알곡 총 단백질의 평균 백분율은 40.3 % DW이다. MON89788 알곡의 총 단백질 중 CP4 EPSPS 단백질의 백분율은 다음과 같이 계산된다:  $(150 \mu\text{g/g} \div 403,000 \mu\text{g/g} \times 100 \% = 0.037 \%)$ . 따라서 CP4 EPSPS 단백질은 MON89788 알곡의 총 단백질 중 0.037 %의 매우 적은 부분만을 차지한다.

(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

- MON89788에서 생산된 CP4 EPSPS 단백질에 대해서는 해당사항이 없다.



- ② 주요 알레르겐에 대한 환자 IgE 항체와 유전자산물과의 결합력에 관한 자료
- MON89788이 일반 콩과 비교하여 내생 알레르기유발 가능성을 변화시켰는지 상세히 평가하기 위해 MON89788과 A3244에서 얻은 단백질 추출물에 대한 IgE 항체의 결합수준을 측정하는 시험을 실시하였다. 또한, 콩에 대해 예측된 반응의 정상적인 범위를 나타내는 각 혈청에 대한 내성 구간을 설정하기 위해 총 24종의 상업적 콩 품종을 포함하여 항체 결합수준을 측정하였다. 그 결과 MON89788과 A3244의 IgE 결합 수치는 모두 허용 구간 내에 속하였다. 콩 알레르기가 없는 환자의 혈청에 대한 IgE 결합 반응은 어떠한 콩 품종에서도 나타나지 않았다. 따라서 MON89788 콩은 현재 판매되고 있는 콩 품종에 비해 알레르기 가능성이 증가되지 않았다는 결론을 내렸다.

#### (5) 숙주와의 차이

##### (가) 주요영양성분

- 2005년 미국 5 개 포장의 3 개 반복 시험구에서 재배하여 유전자재조합 콩(MON89788)과 비 유전자재조합 콩(A3244)의 알곡 및 목초 조직을 수확하였다. 알곡과 목초 시료에서 총 63 개 성분을 분석하였다. 목초 시료에 대해 분석한 성분으로는 조성분(단백질, 지방, 회분, 수분), 산성세제불용성섬유(ADF), 중성세제불용성섬유(NDF), 계산에 의한 탄수화물이 포함된다. 알곡시료에 대해 분석한 성분으로는 조성분(단백질, 지방, 회분, 수분), 산성세제불용성섬유, 중성세제불용성섬유, 아미노산, 지방산(C8-C22), phytic acid, 트립신 저해제, isoflavones, lectins, raffinose, stachyose, 비타민 E, 계산에 의한 탄수화물이 포함된다.
- 통합장소 분석(combined-site analyses)에서 목초 수분, 알곡 daidzein, glycitein 및 비타민 E에서 MON89788과 A3244간의 통계적으로 유의한 차이는 관찰되었으나 이러한 차이는 대부분 작은 차이였으며(1.6 - 11%) MON89788의 평균 수준은 일반 콩의 99% 허용구간 안에 속하였다. 따라서 통합 자료에 대한 분석을 토대로, MON89788과 A3244는 성분적으로, 영양적으로 동등하다고 결론을 내렸다.
- 결과의 재현성과 여러 재배지에 걸쳐 나타나는 경향도 조사하였으며 99% 허용 구간을 이용해 일반 콩 품종에 대해 비교를 실시하였다. 여러 재배지에서 걸쳐서 어떠한 분석항목에서도 일관성 있게 나타나는 통계적인 차이는 없었다.

##### (나) 미량영양성분

- 분석 결과 유의적인 차이를 보이지 않았으며 모든 분석 결과는 문헌상의 편차 범위 내에 분포하는 것으로 설명되고 있다.

(다) 내재성독소

- 콩에 대한 오랜 기간의 안전한 식경험에서 내재성 독소가 존재함으로써 인간과 동물의 건강에 부정적인 영향을 주었다는 보고는 없었다 (OECD, 2001).

(라) 영양억제인자 (항영양소)

- 트립신 저해제, lectins, isoflavones (daidzein, genistein and glycitein), stachyose, raffinose와 phytic acid : MON89788에서 이러한 항영양소의 수준을 분석하였으며 평균 수준을 A3244와 비교하여 분석한 결과, 비교한 항목의 90% 이상은 MON89788과 A3244 사이에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 일부의 통계적 차이는 여러 재배지에 걸쳐 재현 가능하지 않았으며 일관된 경향이 없었으므로 생물학적으로 연관된 차이가 아닌 것으로 간주되었다. 더욱이 MON89788 분석항목의 평균 수준은 99% 허용 구간 내에 충분히 포함되며 문헌 범위 내에 포함되었다.

(마) 알레르기유발성분

- 도입된 CP4 EPSPS 단백질은 알레르기 유발성분으로 알려지지 않았으므로 MON89788은 일반 콩보다 알레르기 유발성이 크지 않을 것이다. 또한, MON89788과 A3244에서 얻은 단백질 추출물에 대한 IgE antibody의 결합력을 분석하여, MON89788의 내재성 알레르기 가능성을 일반종과 비교하였다. 그 결과, MON89788의 알레르기 가능성은 시판중인 콩 품종의 경우보다 더 크지 않다고 나왔다.

(바) 삽입된 유전자의 대사산물

- *cp4 epsps* 코딩서열과 발현된 CP4 EPSPS 단백질을 제외하고는 일반 콩과 비교하여 MON89788에서 유래한 식품 성분에 대해 의도적인 변화가 나타나지 않았다. 따라서 MON89788에서 T-DNA의 삽입으로 인한 대사산물의 변화는 존재하지 않을 것이다.

(사) 영양성

- MON89788과 이미 판매되고 있는 일반 콩에서 유래한 콩 알곡과 목초의 성분적 동등성이 입증되었으며 숙주 생물체의 안전한 식경험이 존재하므로 MON89788의 안전성과 영양평가를 뒷받침할 추가적인 정보는 필요하지 않다.

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

- EPSPS는 식물과 미생물의 방향족 아미노산 생합성을 위한 효소로서 그 활성은 식물성 식품에서 새로운 것이 아니다. MON89788을 생산하기 위해 콩의 게놈으로 T-DNA를 삽입함으로써, 콩의 성분이 변화되지 않았다. 따라서 도입된 CP4 EPSPS 단백질이 콩에 존재하는 대사경로에 영향을 미칠 가능성은 거의 없다.

(7) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황

- 2007년에 미국, 일본, 캐나다, 필리핀, 2008년에 호주, EU에서 승인되었다.

## 6. 심사신청 자료 검토 결과

- 이상의 검토 내용과 같이 심사규정에 따라 제출된 자료의 안전성 평가 자료를 심사한 결과 사용된 공여체, 숙주 및 유전자재조합 과정 등이 식품으로 이용시 안전성 문제를 유발하지 않는다고 판단되었다.
- 유전자재조합체에 관해서도 도입된 유전자, 유전자산물, 알레르기 유발성, 독성 및 영양성 등에서 안전성 평가에 필요한 적절한 자료가 제출되었으며, 이 자료를 토대로 검토한 결과 지금까지 식품으로 섭취해온 콩과 안전성에 차이가 없음을 확인하였다.

## 7. 기타

「유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률」에 의하여 유전자재조합 콩 MON89788의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성을 농촌진흥청, 국립환경과학원, 국립수산물과학원에서 심사하였다.