

**유전자변형 옥수수 MZIR098
안전성 심사 결과 보고서**

2019. 11. 20.

<차례>

I. 요약	1
II. 심사 경위	2
III. 심사 경과	2
IV. 심사 방법	2
V. 심사 신청 자료 검토	2
1. 유전자변형농축수산물의 개발목적 및 이용방법	3
2. 숙주	3
가. 분류학적 특성	3
나. 재배 및 품종개량의 역사	3
다. 이미 알려져 있는 독성, 알레르기 유발성 또는 병원성 외래인자와 관련성	3
라. 안전한 식경험의 유무	4
3. 공여체	4
가. 분류학적 특성	4
나. 안전한 식경험의 유무, 식품용 이외의 노출 경로	4
다. 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성	5
4. 유전자변형	5
가. 형질전환과정에 대한 정보	5
나. 도입 유전자에 대한 정보	7
5. 유전자변형농축수산물의 특성	12
가. 유전자변형농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보	12
나. 유전자산물에 관한 정보	13
다. 독성	15
라. 알레르기성	17
마. 숙주와의 차이	18
바. 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향	20
사. 식품용으로서의 저장 및 가공에 관한 설명	20
아. 외국의 식품유통 승인 및 식품용 등의 이용 현황	20
6. 심사신청 자료 검토 결과	20
7. 기타	21
[붙임] 영양성분 분석 자료	22

※ 자료제출 관련 규정 : 유전자변형식품등의 안전성 심사 등에 관한 규정

유전자변형 옥수수 MZIR098

안전성 심사결과 보고서

I. 요약

신젠타코리아는 해충저항성 및 글루포시네이트 제초제내성을 나타내는 유전자변형 옥수수 MZIR098에 대해 식품의약품안전처에 안전성 심사를 신청하였고, '유전자변형 식품등 안전성 심사위원회'(이하 '심사위원회'라 한다)는 「유전자변형식품등의 안전성 심사 등에 관한 규정(이하 '심사규정'이라 한다)」에 따라 안전성을 심사하였다.

MZIR098은 *acry3.1Ab* 및 *mcry3A* 유전자 도입을 통한 eCry3.1Ab 및 mCry3A 단백질 발현으로 서부 옥수수 뿌리벌레 등 딱정벌레목에 대한 해충저항성을 나타내고, *pat-08* 유전자 도입을 통해 PAT 단백질 발현으로 제초제인 글루포시네이트에 내성을 나타낸다.

MZIR098에 도입된 *acry3.1Ab*, *mcry3A* 및 *pat-08* 유전자는 southern blot을 통해 5세대에 걸쳐 안정적으로 유지되는 것이 확인되었다.

기존에 알려진 독소 및 항영양소와 유사성을 알아보기 위해 NCBI(2017) 단백질 데이터베이스를 이용하여 이미 알려진 독소 및 항영양소의 아미노산 서열과 eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질의 아미노산 서열을 비교 분석한 결과, 서열 상동성이 없는 것으로 확인되었다. 또한 eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질에 대한 마우스 단회투여독성 평가 자료를 검토한 결과, 독성이 없는 것으로 확인되었다.

기존에 알려진 알레르겐과 유사성을 알아보기 위해 COMPARE(2017) 데이터베이스를 이용, eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질의 아미노산 서열에 대하여 이미 알려진 알레르기 유발물질을 대상으로 80개 이상의 아미노산 서열에서 35% 이상 상동성을 가지는지 여부와 8개의 연속적인 아미노산이 일치하는지 여부를 검색한 결과, 기존 알레르기 유발 물질과 상동성이 없음이 확인되었다.

MZIR098 옥수수와 기존 옥수수의 주요영양성분, 미량영양성분, 항영양소 등의 함량을 비교한 결과, 생물학적 차이가 없었다. 육계를 대상으로 MZIR098 옥수수를 42일 동안 급이 시험한 결과, 기존 옥수수와 영양성에 차이가 없는 것이 확인되었다.

결론적으로 유전자변형 옥수수 MZIR098은 지금까지 식품으로 섭취해온 옥수수와 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

II. 심사경위

- 신젠타코리아는 해충저항성 및 글루포시네이트 제초제내성을 나타내는 유전자변형 옥수수 MZIR098을 식품위생법 제18조에 따른 안전성 심사를 받기 위하여 2017년 9월 26일 식품의약품안전처에 「유전자변형식품등의 안전성 심사 등에 관한 규정」(이하 심사규정)에서 정한 관련 자료를 첨부하여 심사 신청하였다.
- 이에 식품의약품안전처장은 본 품목이 심사규정에 따라 안전성 평가가 이루어졌는지 여부에 대하여 '유전자변형식품등 안전성 심사위원회'(이하 '심사위원회'라고 함)에 심사 의뢰하고,
- 심사위원회는 신청인이 제출한 자료에 근거하여 아래와 같이 심사규정에 따라 안전성평가가 이루어졌는지 여부를 확인하였다.

III. 심사경과

- 심사대상품목

대상품목	신청자	개발자	제외국의 안전성 승인 현황
유전자변형 옥수수 MZIR098	신젠타코리아	Syngenta Crop Protection LLC.	미국(2016), 캐나다(2016), 호주/뉴질랜드(2016), 일본(2017), 싱가포르(2019), 대만(2019) 등

- 심사경과
 - 2017년 9월 26일 : 안전성 심사 신청
 - 2017년 12월 19일 : 1차 안전성 심사위원회
 - 2018년 5월 15일 : 2차 안전성 심사위원회

IV. 심사방법

- 본 품목과 관련하여 심사 신청된 유전자변형농축수산물에 심사규정의 적용대상 인지를 검토하였고,
- 제출된 안전성 심사 자료가 심사규정에서 요구하는 자료를 갖추었는지를 확인한 후 자료의 내용을 토대로 안전성 심사 자료를 심사하였다.

V. 심사 신청 자료 검토

- 심사 신청된 식품의 개요
 - 신젠타코리아가 심사 신청한 유전자변형 옥수수 MZIR098은 *acry3.1Ab*, *mcry3A* 및 *pat-08* 유전자가 도입된 것으로 eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질을 발현하여 서부 옥수수 뿌리벌레 등 딱정벌레목에 대한 해충저항성 및 제초제인 글루포시네이트에 내성을 나타낸다.

○ 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.

1. 유전자변형농축수산물의 개발목적 및 이용방법

- 유전자변형 옥수수 MZIR098은 *ecry3.1Ab*, *mcry3A* 및 *pat-08* 유전자가 도입된 것으로 eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질을 발현하여 서부 옥수수 뿌리벌레 등 딱정벌레목에 대한 해충저항성 및 제초제인 글루포시네이트에 내성을 나타낸다.
- 재배방법 및 이용방법은 기존의 일반 옥수수와 동일하다.

2. 옥수수

가. 분류학적 특성

- 과(Family) : *Poaceae*(*Gramineae*라고도 함)
- 속(Genus) : *Zea*
- 종(Species) : *mays*
- 일반명(Common Name) : 옥수수

나. 재배·사육 및 품종개량의 역사

- 현재 경작되고 있는 옥수수의 기원은 테오신테(teosinte, *Z. mexicana*)로 추정되며, 옥수수 재배종은 16세기 구대륙으로 전해져 전세계적으로 재배되고 있다. 옥수수는 북아메리카 원주민에 의해 수천년간 재배되어 왔으며, 세계 인구 대다수가 주식으로 섭취하고 있다.
- 20세기 초 옥수수 교배종(hybrid)이 자가수분품종(open-pollinated varieties)에 비해 더 나은 수확률을 보인다는 것이 알려졌고, 1930년~1940년 사이에 교배종이 자가수분품종을 점차 대체하게 되었다. 미국에서 상업적으로 재배되는 대부분의 옥수수는 교배종 종자이며, 현재 자가수분품종은 거의 상업적으로 이용되지 않고 있다.

다. 이미 알려져 있는 독성, 알레르기 유발성 또는 병원성 외래인자와 관련성

- 옥수수가 속해있는 *Zea* 속과 관련하여 유해한 수준의 독성물질은 보고되어 있지 않다. 또한 옥수수 단백질은 유의한 알레르겐이 아닌 것으로 알려져 있다(Frisner et al. 2000).

라. 안전한 식경험의 유무

- 옥수수는 인류의 주요 식량 중 하나로 전분당, 식용유, 옥수수가루 등 다양한 형태로 가공되어 식품원료로 사용되고 있다.

3. 공여체

가. 분류학적 특성

- 1) *acry3.1Ab* 유전자는 *cry1Ab* 유전자의 3'말단과 *mcry3A* 유전자의 5'말단의 융합체로 구성되어 있으며, 두 유전자 모두 *Bacillus thuringiensis*에서 유래하였다.

(가) *cry1Ab* 공여체

- 과(Family): Bacillaceae
- 속(Genus): *Bacillus*
- 종(Species): *thuringiensis* subsp. *kurstaki*
- 일반명: *Bacillus thuringiensis*

(나) *mcry3A* 공여체

- 과(Family): Bacillaceae
- 속(Genus): *Bacillus*
- 종(Species): *thuringiensis* subsp. *tenebrionis*
- 일반명: *Bacillus thuringiensis*

- 2) *mcry3A* 유전자는 *Bacillus thuringiensis*에서 유래하였다.

- 과(Family): Bacillaceae
- 속(Genus): *Bacillus*
- 종(Species): *thuringiensis* subsp. *tenebrionis*
- 일반명: *Bacillus thuringiensis*

- 3) *pat-08* 유전자는 *Streptomyces viridochromogenes*에서 유래하였다.

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

나. 안전한 식경험의 유무, 식품용 이외의 노출 경로

- 자연계에 널리 존재하는 토양 박테리아 *Bacillus thuringiensis*의 유전자로부터 유래한 *cry* 유전자인 *mcry3A*와 *cry1Ab*를 결합시켜 새로운 유전자 *acry3.1Ab*를 개발하였다. *Bacillus thuringiensis* 유래의 Cry 단백질은 식용작물에서 오랜 기간 동안 안전하게 이용되어 왔다. 살충작용 기작은 특이적이며, 포유류 및 척추동물에는 작용하지 않는다. *acry3.1Ab*가 도입되어 상업화된 유전자변형 작물과

관련하여 발현된 eCry3.1Ab 단백질의 위험성에 대해 보고된 바는 없다. MZIR098에서 발현되는 eCry3.1Ab는 이미 승인된 5307 옥수수에서 생산되는 단백질과 동일하며 삼입부위의 염기서열 분석을 통해 동일함이 확인되었다.

- *mcry3A*는 *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis*에서 유래한 *cry3A* 유전자를 변형한 것으로 식용 작물에서 오랜 기간 동안 안전하게 이용되어 왔다. 살충작용 기작은 특이적이며, 포유류 및 척추동물에는 작용하지 않는다. 또한 공여체인 박테리아는 알레르기를 일으키는 단백질을 생산하지 않는 것으로 알려져 있다. MZIR098에서 발현되는 mCry3A는 이미 승인된 MIR604 옥수수에서 생산되는 단백질과 동일하며 삼입부위의 염기서열 분석을 통해 동일함이 확인되었다.
- PAT 단백질은 자연계에 널리 존재하므로 다양한 기원으로부터 유래된 소량의 acetyltransferase 효소가 식품에 항상 존재한다. 미국에서는 모든 PAT 내성 작물의 식품 이용에 대해 안전한 것으로 결론 내렸다(US EPA, 2007). MZIR098에서 발현되는 PAT는 이미 승인된 Bt11 옥수수에서 생산되는 단백질과 동일하며 삼입부위의 염기서열 분석을 통해 동일함이 확인되었다.

다. 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성

- 세계보건기구(WHO)의 국제 화학물질 안전프로그램(IPCS)에서 발표한 *Bacillus thuringiensis*의 환경보건기준에 대한 보고서에서 '식수 또는 식품에 함유된 *Bacillus thuringiensis*는 인체에 어떠한 악영향도 끼치지 않는다'라고 밝혔다(1999).
- *pat-08* 유전자의 공여체인 *Streptomyces viridochromogenes*는 독성 및 알레르기 물질로 알려지지 않았으며, 인간이나 동물에 대한 병원성 생물체로 알려져 있지 않다.

4. 유전자변형

가. 형질전환 과정에 대한 정보

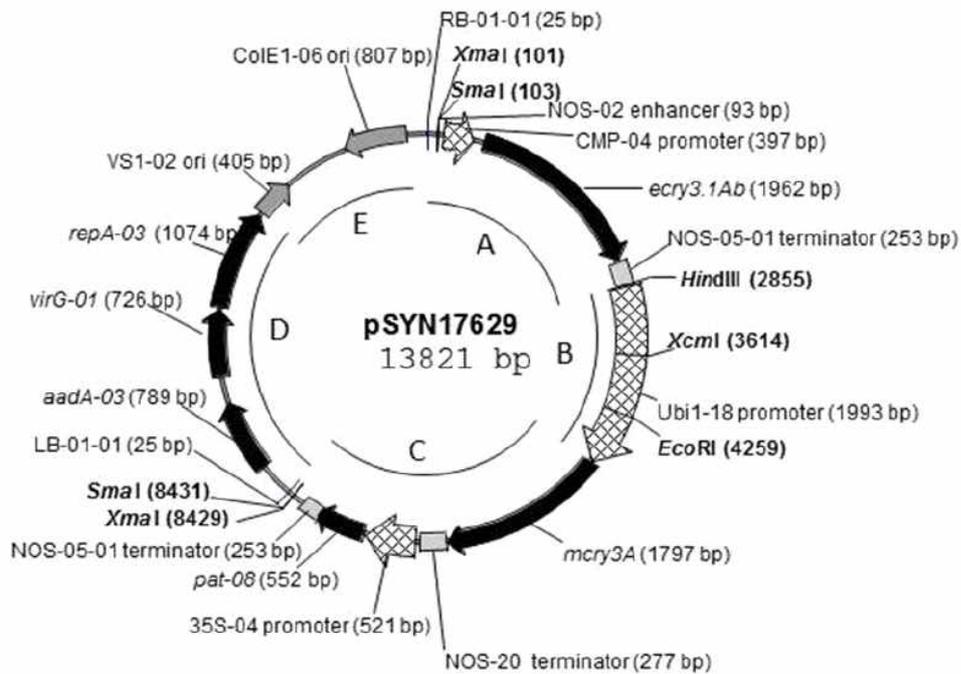
1) 형질전환 방법

- 아그로박테리움법을 사용하였다.
- 수분 후 8~12일 후 옥수수 이삭을 수확하여 미성숙 배를 얻고, 이를 플라스미드 pSB1과 유전자변형 플라스미드인 pSYN17629를 함유한 *A. tumefaciens* Strain LBA4404의 현탁액과 혼합하여 배양하였다. 이후 현탁액을 제거하고 배를 비선택성 플레이트에서 배양하여 캘러스를 형성하는 배를 글루포시네이트-암모늄을 함유한 배지로 옮겼다. 이 과정에서 *pat-08* 유전자는 선택표지로 사용되었다. 초기 배양 후 형질전환된 조직을 항생제를 함유한 선택배지로 옮겨 배양하여 형질전환된 조직으로부터 *A. tumefaciens*를 제거하였다. 이후 PCR을 통해 T-DNA는 삽입되고, backbone DNA는 가지고 있지 않은 식물체를 선별하였다.

2) 벡터에 대한 정보

가) 기원

- 플라스미드 pSYN17629는 *ecry3.1Ab*, *mcry3A* 및 *pat-08* 유전자 발현 카세트를 포함하고 있다.
- *ecry3.1Ab* 발현 카세트는 cestrum yellow leaf curling virus(CMP-04) 유래 CMP 프로모터, *A. tumefaciens* 유래 nopaline synthase 터미네이터(NOS-05-01) 서열 및 NOS 인핸서(NOS-02) 서열에 의해 조절되는 *ecry3.1Ab* 암호영역을 포함하고 있다.
- *mcry3A* 발현 카세트는 옥수수 ubiquitin 프로모터(Ubi1-18)와 NOS 터미네이터(NOS-20)에 의해 조절되는 *mcry3A* 암호영역을 포함하고 있다.
- *pat-08* 발현 카세트는 cauliflower mosaic virus 유래 35S 프로모터(35S-04)와 NOS 터미네이터(NOS-05-01)에 의해 조절되는 *pat-08* 암호영역을 포함하고 있다.



< 플라스미드 벡터 >

나) 숙주에서의 확인

- Southern blot 분석, 염기서열 분석을 통해 유전자변형 옥수수 MZIR098에는 단일 카피의 T-DNA가 삽입되었음이 확인되었다.

다) 숙주에서의 기능

- *ecry3.1Ab*, *mcry3A* 및 *pat-08* 유전자가 도입되어 eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질을 발현하여 서부 옥수수 뿌리벌레 등 딱정벌레목에 대한 해충 저항성 및 제초제인 글루포시네이트에 내성을 나타낸다.

라) 제한효소 절단 지도

- 4, 가, 2), 가)에 제한효소 절단 지도가 제시되었다.

마) 유해염기 서열 유무

- 유해염기서열은 존재하지 않는 것으로 나타났다.

바) 전달성에 관한 정보

- 플라스미드 벡터 pSYN17629는 숙주이외의 다른 생물체로 스스로 이동될 수 있는 전달성과 관련된 유전자를 포함하고 있지 않아, 다른 생물체에 전달될 가능성은 없다.

3) 중간숙주에 대한 정보

- *A. tumefaciens* strain LBA4404는 비병원성으로 식물체 형질전환에 널리 사용되고 있다.

나. 도입유전자에 대한 정보

1) 구성 유전자의 특성, 염기서열, 제한효소 절단지도

가) 선발표지유전자

- *pat-08* : *S. viridochromogenes* strain Tü494 유래 유전자로, 글루포시네이트 제초제 내성을 나타낸다.

나) 조절인자

- NOS-02 인핸서 : *A. tumefaciens*의 NOS 유전자 유래 인핸서 서열로 유전자 발현을 향상시킨다.
- CMP-04 프로모터 : Cestrum yellow leaf curling virus 프로모터 부위로 옥수수 내에서 지속적인 발현을 한다.
- Ubi1-18 프로모터 : 첫 번째 인트론을 포함한 옥수수 *ubiquitin* 유전자 유래 프로모터 부위이다.
- 35S-04 프로모터 : Cauliflower mosaic virus 프로모터 부위로 옥수수 내에서 지속적인 발현을 한다.
- NOS-05-01 터미네이터 : *A. tumefaciens*의 NOS 유전자 유래 종결 염기서열로 polyadenylation site를 제공한다.
- NOS-20 터미네이터 : *A. tumefaciens* NOS 유전자 유래 종결염기서열로 비의도적 ORFs를 없애기 위해 기존 NOS-05-01 종결염기서열 중 염기서열 일부를 변경하였다. Polyadenylation site를 제공한다.

다) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

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

2) 크기 및 명칭

- 도입된 구성 유전자의 크기 및 명칭은 다음의 표로 제시되었다.

< 플라스미드 벡터(pSYN17629)의 주요 구성 요소 >

명칭	크기(bp)	위치(bp)	유래 및 기능
<i>acry3.1Ab</i> cassette			
Region-1	80	26-105	Cloning 에 사용되는 부위
NOS-02 enhancer	93	106-198	유전자 발현을 향상시키는 <i>A. tumefaciens</i> 의 NOS 유전자 유래 인헨서 서열(NCBI accession number V00087.1) (Bevan et al. 1983).
Region-2	5	199-203	Cloning에 사용되는 부위
CMP-04 promoter	397	204-600	Cestrum yellow leaf curling virus 프로모터 부위(Hohn et al. 2007). 옥수수 내 지속적인 발현을 제공
Region-3	9	601-609	Cloning 에 사용되는 부위
<i>acry3.1Ab</i>	1962	610-2571	특정 옥수수 뿌리벌레종(Diabrotica)에 활성을 갖도록 융합된 Cry 유전자(NCBI accession number GU327680.1). 융합 단백질인 eCry3.1Ab는 알려진 다른 Cry 단백질과 유사성을 가짐. Cry 단백질은 유사한 구조를 공유하기 때문에 융합 Cry 유전자는 서로 다른 Cry 유전자 간 상동성을 가진 도메인을 교환함으로써 획득할 수 있음. <i>acry3.1Ab</i> 유전자는 <i>mry3A</i> 유전자의 5'말단(도메인 I, 도메인 II, 도메인 III의 15개 아미노산)과 합성된 Cry1Ab 유전자의 3'말단(도메인 III 및 다양한 6가지 부위 [Höfte and Whiteley 1989])의 융합체로 구성됨
Region-4	21	2572-2592	Cloning 에 사용되는 부위

명칭	크기(bp)	위치(bp)	유래 및 기능
NOS-05-01 terminator	253	2593-2845	<i>A. tumefaciens</i> 의 NOS 유전자 유래 종결 염기 서열(NCBI accession number V00087.1). polyadenylation site를 제공(Bevan et al. 1983)
<i>mcry3A</i> cassette			
Region-5	20	2846-2865	Cloning 에 사용되는 부위
Ubi1-18 promoter	1993	2866-4858	첫번째 인트론(NCBI accession number S94464.1)을 포함한 옥수수 polyubiquitin 유전자 유래 프로모터 부위. 단자엽식물 내 지속적인 발현을 제공(Christensen et al. 1992)
Region-6	9	859-4867	Cloning에 사용되는 부위
<i>mcry3A</i>	1797	4868-6664	<i>B. thuringiensis subsp. tenebrionis</i> 유래 Cry3A 단백질을 기반으로 하여 염기서열을 합성하였으며 (Sekar et al. 1987), 발현된 단백질 내에 cathepsin G protease 인지 부위가 포함 되도록 변형됨
Region-7	19	6665-6683	Cloning에 사용되는 부위
NOS-20 terminator	277	6684-6960	<i>A. tumefaciens</i> NOS 유전자 유래 종결염기서열 (NCBI accession number V00087.1). polyadenylation site를 제공(Bevan et al. 1983)
Region-8	59	6961-7019	Cloning 에 사용되는 부위
<i>pat-08</i> cassette			
35S-04 promoter	521	7020-7540	Cauliflower mosaic virus 프로모터 부위(Odell et al. 1985). 식물 내 지속적인 발현을 제공
Region-9	24	7541-7564	Cloning 에 사용되는 부위
<i>pat-08</i>	552	7565-8116	<i>S. viridochromogenes</i> strain Tü494 유래 유전자로 선발표지 단백질인 PAT을 암호화함. PAT 단백질은 glufosinate-ammonium (phosphinothricin)을 함유한 제초제에 내성을 부여함
Region-10	31	8117-8147	Cloning 에 사용되는 부위

명칭	크기(bp)	위치(bp)	유래 및 기능
NOS-05-01 terminator	253	8148-8400	<i>A. tumefaciens</i> 의 NOS 유전자 유래 종결 염기서열 (NCBI accession number V00087.1). polyadenylation site 를 제공(Bevan et al. 1983)
Region-11	87	8401-8487	Cloning에 사용되는 부위
Border Region			
LB-01-01	25	8488-8512	<i>A. tumefaciens</i> nopaline Ti plasmid로부터 유래한 TDNA의 왼쪽 경계 부위(NCBI accession number J01825.1). T-DNA 측면의 short direct repeat 로서 T-DNA가 식물세포 내로 전이되는데 필요한 부위(Yadav et al. 1982)
Plasmid backbone			
Region-12	349	8513-8861	Cloning 에 사용되는 부위
<i>aadA-03</i>	789	8862-9650	대장균 transposon Tn7 유래 Aminoglycoside adenylyltransferase 유전자(NCBI accession number X03043.1와 유사). Streptomycin과 spectinomycin에 대한 저항성을 제공하여 박테리아의 선택마커로 사용됨(Fling et al. 1985)
Region-13	299	9651-9949	Cloning에 사용되는 부위
<i>virG-01</i>	726	9950-10675	pAD1289 유래 VirGN54D 유전자(NCBI accession number AF242881.1와 유사). N54D 치환으로 VirG 표현형을 생성함.
Region-14	29	10676-10704	Cloning에 사용되는 부위
<i>repA-03</i>	1074	10705-11778	<i>Pseudomonas aeruginos</i> 유래 pVS1 복제 단백질 (NCBI accession number AF133831.1와 유사), 식물 관련 그람 음성 세균에서 작용하는 최소 pVS1 복제단위(replicon)의 한 부분임(Heeb et al. 2000)
Region-15	42	11779-11820	Cloning 에 사용되는 부위
VS1-02 ori	405	11821-12225	<i>P. aeruginosa</i> 의 pVS1에서 유래한 복제기점과 분할지역에 대한 보존서열(NCBI accession number U10487.1). <i>A. tumefaciens</i> 숙주에서 복제 시작점으로 작용(Itoh et al. 1984)

명칭	크기(bp)	위치(bp)	유래 및 기능
Region-16	677	12226-12902	Cloning 에 사용되는 부위
ColE1-06 ori	807	12903-13709	대장균에서 플라스미드의 복제를 가능하게 하는 복제기점(NCBI accession number V00268.1 와 유사)(Itoh and Tomizawa 1979)
Region-17	112	13710-13821	Cloning 에 사용되는 부위
Border region			
RB-01-01	25	1-25	<i>A. tumefaciens</i> nopaline Ti plasmid 유래 T-DNA의 오른쪽 경계 부위(NCBI accession number J01826.1). T-DNA 측면의 short direct repeat 로서 T-DNA가 식물세포 내로 전이 되는데 필요한 부분(Wang et al. 1984)

3) 완성된 발현 벡터내의 유전자 염기서열의 위치 및 방향성

- 벡터 내 유전자 서열의 위치 및 방향은 4, 가, 2), 가)에 제시되었다.

4) 구성 유전자의 기능

- *ecry3.1Ab*, *mcry3A* 및 *pat-08* 유전자가 도입된 것으로 eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질을 발현하여 서부 옥수수 뿌리벌레 등 딱정벌레목에 대한 해충 저항성 및 제초제인 글루포시네이트에 내성을 나타낸다.

5) 유해염기서열의 유무

- eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질에 대하여 이미 알려진 유해한 단백질을 생산하는 서열과 유의한 상동성을 나타내는지 확인하기 위해 Comprehensive Protein Allergen Resource (COMPARE) 데이터베이스(2017), NCBI 단백질 데이터베이스(2017) 및 Syngenta Toxin 데이터베이스(2017)를 이용하여 생물정보학 분석을 한 결과, 삽입 유전자 내에 어떠한 유해 서열도 존재하지 않는 것으로 나타났다.

6) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현 가능성

- 도입유전자에 대해 Vector NTI Advance™ 프로그램을 사용하여 ORF 발현 가능성을 분석한 자료를 검토한 결과, 목적하는 단백질의 발현과 관련된 서열 이외의 전사 및 발현 가능성이 있는 새로운 ORF가 존재하지 않는 것으로 나타났다.

7) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입

- 목적하는 유전자 이외의 염기서열이 혼입되지 않았음을 확인하였다.

5. 유전자변형농축수산물의 특성

가. 유전자변형농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보

1) 유전자변형농축수산물의 게놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

- *ecry3.1Ab*, *mcry3A* 및 *pat-08* 유전자가 도입되어 eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질을 발현하여 서부 옥수수 뿌리벌레 등 딱정벌레목에 대한 해충 저항성 및 제초제인 글루포시네이트에 내성을 나타낸다.

2) 삽입부위의 수

- Southern blot 분석 결과 *ecry3.1Ab*, *mcry3A* 및 *pat-08*는 단일 유전자 자리에 단일 사본으로 삽입되었으며, T-DNA 부분만 삽입되고 플라스미드 backbone은 존재하지 않음이 확인되었다.

3) 각 삽입부위의 삽입유전자의 구성

가) 복제수, 염기서열

- Southern blot 분석 결과 MZIR098에는 플라스미드 pSYN17629에서 유래한 T-DNA의 단일 사본이 도입되었음이 확인되었다. 삽입유전자와 측면 염기서열을 형질전환 플라스미드 pSYN17629의 T-DNA와 비교한 결과 삽입유전자의 재배열이나 염기쌍의 변화가 없이 온전하였다. 형질전환 과정에서 T-DNA의 오른쪽 경계와 왼쪽 경계에서 일부 절단이 발생하였으며, 오른쪽 경계에서 10bp 왼쪽 경계에서 10bp가 절단되었다. 하지만 해당 결실은 삽입부의 기능에 영향이 없는 것으로 확인되었다.

나) 이미 알려져 있는 독소나 항영양소를 암호화하는 유전자와의 상동성

- COMPARE 데이터베이스(2017), NCBI 단백질 데이터베이스(2017), 신젠타 독소 데이터베이스(2017)를 이용하여 염기서열 분석 결과 삽입유전자 내에 어떠한 유해 서열도 존재하지 않는 것으로 나타났다.

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

- Vector NTI Advance™ 프로그램(버전 11.1.0)을 사용하여 MZIR0198 T-DNA와

인접하는 옥수수 게놈 유전자의 DNA 염기서열을 대상으로 생물정보학적 분석 실시 자료를 검토한 결과, 목적하는 단백질의 발현과 관련된 서열 이외의 전사 및 발현 가능성이 있는 새로운 외래전사해독프레임이 존재하지 않는 것으로 확인되었다.

5) 안정성에 관한 사항

가) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

- MZIR0198에 존재하는 삽입 DNA의 안정성을 평가하기 위해 5세대에 걸친 Southern blot 분석 자료를 검토한 결과, 5세대에 걸쳐 도입 DNA가 유지됨이 확인되었다.
- 3개 세대의 분리비 자료를 검토한 결과, 멘델의 법칙에 따라 분리 비율이 관찰되었으며, 옥수수 핵 게놈 내 염색체로 삽입되었음을 확인하였다.

나) 복수 세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- 유전자변형 옥수수 MZIR0198에서 발현되는 eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질의 발현 수준을 복수 세대(3세대) 잎, 뿌리, 알곡에 대해 ELISA 방법으로 측정된 결과, eCry3.1Ab 단백질의 발현량은 잎(R1~V6)에서 38.21~272.45 μ g/g DW, 뿌리(R1~V6)에서 15.44~137.50 μ g/g DW, 알곡(R6~senescence)에서 1.75~7.94 μ g/g DW이었다. mCry3A 단백질의 발현량은 잎(R1~V6)에서 31.32~76.24 μ g/g DW, 뿌리(R1~V6)에서 20.49~56.99 μ g/g DW, 알곡(R6~senescence)에서 13.84~32.23 μ g/g 미만이었다. PAT 단백질의 발현량은 잎(R1~V6)에서 1.52~17.02 μ g/g DW, 뿌리(R1~V6)에서 0.34~2.65 μ g/g DW, 알곡(R6~senescence)에서 LOD 미만이었다.

나. 유전자산물에 관한 정보

1) 유전자산물의 화학적 성질

- eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질의 분자량은 각각 73.7kDa, 67.7kDa 및 20.5kDa으로 확인되었다.

2) 유전자산물의 기능

- eCry3.1Ab는 mCry3A와 Cry1Ab 단백질의 융합체이며 서부 옥수수 뿌리벌레 등 딱정벌레목에 대한 해충저항성을 나타낸다. *B. thuringiensis* 유래 Cry 단백질들은 구조적인 유사성을 가지기 때문에, Cry 유전자 간 상동성을 가진 도메인을 교환하여 융합 Cry 유전자를 만든다. MZIR098 옥수수에서 발현되는 eCry3.1Ab 단백질은 변형된 mCry3A와 Cry1Ab의 두 *B. thuringiensis* 유래 Cry 단백질 부분을 포함하는 융합 단백질이다(Walters *et al.* 2010).

또한, eCry3.1Ab 단백질은 N-말단에 *mcry3A* 유전자 일부가 PCR 과정에 의해 유도된 프레임 이동에 의해 22개의 아미노산이 추가되었다. 22개 N-말단 아미노산 뒤에는 mCry3A 단백질 유래 459개 연속적인 아미노산이 위치하며, C-말단에 Cry1Ab 단백질 유래 172개 연속적인 아미노산이 위치하여, 최종 653개 아미노산으로 eCry3.1Ab 폴리펩타이드를 생성한다.

- mCry3A는 *B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis*에서 생성되는 본래의 Cry3A 단백질의 변형된 구조를 갖는 단백질로 서부 옥수수 뿌리벌레 등 딱정벌레 목에 대한 해충저항성을 나타낸다. mCry3A의 작용기작은 여타 Cry 단백질과 마찬가지로, 특정 해충에 매우 특이적이며 포유류 혹은 다른 척추 동물류에는 영향을 미치지 않는다.
- PAT은 제초제인 글루포시네이트에 내성을 나타낸다. PAT은 glufosinate-ammonium을 아세틸화하여 이를 불활성화하고 glufosinate-ammonium을 함유하는 제초제에 내성을 부여한다. Glufosinate-ammonium (L-phosphinothricin)은 질소동화작용 내 glutamine 생합성을 저해한다. PAT은 glufosinate-ammonium을 아세틸화시키는 특이적 효소이지만, glutamate(glufosinate-ammonium과 구조적으로 가장 가까운 유사체)나 다른 L-아미노산을 아세틸화하진 않는다(Wehrmann *et al.* 1996, Hérouet *et al.* 2005). PAT 단백질은 식물 및 동물에 흔한 acetyltransferase 효소의 종류이다. PAT 단백질은 다른 acetyltransferase 효소와 매우 유사한 삼차원적 구조, 분자량, 기능적 특성을 가지고 있으며 인간 및 동물 식이의 자연적인 구성 성분으로 존재한다. 이들 acetyltransferase 계통의 효소에서 독성 혹은 알레르기성에 대해 보고된 바 없다. PAT 단백질의 효소활성은 pH 7~8.5 범위에서 Michaelis-Menten kinetics를 따르며, pH 6~11 범위에서도 어느 정도 내성을 띄며 작용한다. Glutamate와 methionine sulfoximine과 hydroxylysine과 같은 유사체들은 glufosinate-ammonium에 비해 훨씬 특이성이 낮은 기질이다(Hérouet *et al.* 2005).

3) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

- eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질의 번역 후 변이유무를 확인하기 위해 당화분석이 수행되었으며, MZIR0198에서 발현되는 eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질과 미생물 유래 단백질의 아미노산 서열은 서로 동일하였으며 발현된 단백질에서 당화반응은 일어나지 않아 번역 후 변이가 일어나지 않음이 확인되었다.

4) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- *E. coli* 생산 eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질과 MZIR0198에서 생산된 단백질의 동등성은 Western blot, 당화분석, N-말단 분석, LC MS/MS 질량 분석을 통하여 확인하였다. Western blot 분석결과 세 단백질의 분자량은 각각 73.7kDa, 67.7kDa 및 20.5kDa으로 확인되었고, 특히 항체에 면역반응성이 확인 되었으며, 당화분석결과 두 단백질 모두 당화가 일어나지 않은 것이 확인 되었다. N-말단과 C-말단의 아미노산 서열을 비교한 결과에서도 두 단백질이 동등함이 확인되었다. LC MS/MS에 의해 미생물 및 식물체 유래 단백질의 아미노산 서열이 동등함이 확인되었다.

5) 새로운 특성의 표현형

- 새롭게 도입된 *εcry3.1Ab*, *mcry3A* 및 *pat-08* 유전자는 eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질을 발현하여 서부 옥수수 뿌리벌레 등 딱정벌레목에 대한 해충 저항성 및 제초제인 글루포시네이트에 내성을 나타낸다.

6) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- MZIR0198의 성장단계별 잎, 뿌리, 식물체 전체, 화분, 알곡 시료의 단백질 수준을 효소면역측정법(ELISA)으로 평가하였다.
- eCry3.1Ab는 잎(V6)에서 평균 216.07µg/g DW으로 가장 많이 발현되었으며, 뿌리(V6)에서 73.07µg/g DW, 식물전체(V6)에서 168.14µg/g DW, 알곡(R6) 2.42µg/g DW 및 화분(R1)에서 LOD(0.08µg/g DW) 미만으로 발현되었다.
- mCry3A은 화분(R1)에서 평균 302.93µg/g DW으로 가장 많이 발현되었으며, 잎(V6)에서 79.51µg/g DW, 뿌리(V6)에서 61.63µg/g DW, 식물전체(V6)에서 71.48µg/g DW, 알곡(R6) 14.59µg/g DW으로 발현되었다.
- PAT은 잎(V6)에서 평균 7.62µg/g DW으로 가장 많이 발현되었으며, 뿌리(V6)에서 1.47µg/g DW, 식물전체(V6)에서 4.60µg/g DW, 알곡(R6) 및 화분(R1)에서 LOD(0.025µg/g DW) 또는 LOQ(0.031µg/g DW) 미만으로 발현되었다.

다. 독성

1) 유전자산물이 단백질인 경우

가) 발현단백질의 안전한 식경험의 유무

- eCry3.1Ab 단백질은 자연계 어느 곳이나 존재하는 토양 박테리아 *Bacillus thuringiensis*로부터 유래한 *mcry3A*와 *cry1Ab*를 결합시켜 만들었다. *Bacillus thuringiensis* 유래 Cry 단백질은 식용 작물에서 오랜 기간 동안 안전하게 사용되었다. MZIR0198에서 발현되는 eCry3.1Ab 단백질은 기존 승인된 작물 5307 옥수수(2013)에서 발현되는 단백질과 동일하며 현재까지 위험성에 대한 보고는 없었다.

- mCry3A 단백질은 *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis*에 내재하는 *cry3A* 유전자를 변형하여 만들었다(Sekar *et al.* 1987). *B. thuringiensis* 유래의 살충성 Cry 단백질은 식용작물에서 오랜 기간동안 안전하게 이용되어 왔으며 공여체인 박테리아는 알레르기 유발성 단백질의 출처가 아닌 것으로 알려져 있다. MZIR098 옥수수에서 생성되는 mCry3A는 기존 승인된 작물 MIR604 옥수수 (2007)에서 생성되는 mCry3A와 동일하며 현재까지 위험성에 대한 보고는 없었다.
- PAT 단백질은 자연계 어느 곳이나 존재하며 다양한 기원으로부터 유래된 소량의 acetyltransferase 효소가 식품 및 사료에 항상 존재한다. 미생물의 내재 단백질 및 옥수수, 유채, 콩을 포함한 현재 상업화된 유전자변형 작물 내에 포함되어 오랜기간 안전하게 노출되어온 이력이 있다. 미국에서는 모든 PAT 내성 작물의 식품으로서 섭취에 대해 최대 허용량이 필요하지 않는 것으로 결정하였으며(최대 허용량 항목에서 제외, US EPA 2007), MZIR098 에서 발견되는 PAT 단백질은 기존 승인된 Bt11(2003) 등에서 발견되는 PAT 단백질과 동일하다.

나) 발현단백질의 이미 알려져 있는 독소 및 항영양소와의 아미노산 서열 유사성

- eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질과 독성 및 항영양소와의 서열 유사성을 확인하기 위해 NCBI Entrez® 단백질 데이터베이스에 대해 BLASTp 검색 결과 알려진 독소 단백질과 유사성이 없는 것으로 확인되었다.

다) 발현단백질의 물리화학적 처리에 대한 감수성

○ eCry3.1Ab

- *E. coli* 유래 생산 eCry3.1Ab의 인공위액 및 장액에서의 소화성에 대해 SDS-PAGE 및 western blot 분석을 통해 확인하였다.
 - 인공위액 안정성 : eCry3.1Ab 단백질은 인공위액에서 30초 이내에 분해되는 것으로 확인되었다.
 - 인공장액 안정성 : eCry3.1Ab 단백질은 인공장액에서 1분 이내에 분해되는 것으로 확인되었다.
- *E. coli* 유래 생산 eCry3.1Ab의 열 안정성 평가 결과 65°C 이상, 30분 열처리 결과 기능활성이 완전히 손실되었다.

○ mCry3A

- *E. coli* 유래 생산 mCry3A의 인공위액 및 장액에서의 소화성에 대해 SDS-PAGE 및 western blot 분석을 통해 확인하였다.
 - 인공위액 안정성 : mCry3A 단백질은 인공위액에서 2분 이내에 분해되는 것으로 확인되었다.
 - 인공장액 안정성 : mCry3A 단백질은 인공장액에서 5분 이내에 분해되는 것으로 확인되었다.
- *E. coli* 유래 생산 mCry3A의 열 안정성 평가 결과 95°C 이상, 30분 열처리 결과 기능활성이 완전히 손실되었다.

○ PAT

- *E. coli* 유래 생산 PAT의 인공위액 및 장액에서의 소화성에 대해 SDS-PAGE 및 western blot 분석을 통해 확인하였다.
- 인공위액 안정성 : PAT 단백질은 인공위액에서 1분 이내에 분해되는 것으로 확인되었다.
- 인공장액 안정성 : PAT 단백질은 인공장액에서 5분 이내에 분해되는 것으로 확인되었다.
- *E. coli* 유래 생산 PAT의 열 안정성 평가 결과 95°C 이상, 30분 열처리 결과 기능활성이 완전히 손실되었다.

라) 발현단백질의 단회투여독성

- CD-1 마우스를 대상으로 eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질을 각각 2,000mg/kg bw, 2,377mg/kg bw, 2,000mg/kg bw 용량으로 단회투여하고 14일 동안 관찰한 결과 생존율, 임상 관찰 소견, 체중증가, 사료 섭취량 또는 육안 병리소견에 미친 영향은 없었다.

라. 알레르기성

1) 유전자산물이 알레르겐으로 알려져 있는지 여부

- *ecry3.1Ab*와 *mcry3A* 유전자의 공여체는 자연계 어느 곳에서도 존재하는 토양 박테리아 *Bacillus thuringiensis*이다. *B. thuringiensis* 유래의 살충성 단백질 Cry 유전자는 식용작물에서 오랜 기간동안 안전하게 이용되어 왔으며, 공여체는 현재까지 알레르기 단백질의 근원으로 알려져 있지 않다(Taylor and Hefle 2001, FAO/WHO 2001).
- *pat-08* 유전자의 공여체는 어디에도 존재하는 토양 미생물 *Streptomyces viridochromogenes*이다. 공여체는 현재까지 알레르기 단백질의 근원으로 알려져 있지 않다(Taylor and Hefle 2001, FAO/WHO 2001).

2) 유전자산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- eCry3.1Ab는 인공위액에서 30초 이내 및 인공장액에서 1분 이내에 빠르게 분해되었으며, 65°C 이상, 30분 열처리 결과 기능활성이 완전히 손실되었다.
- mCry3A는 인공위액에서 2분 이내 및 인공장액에서 5분 이내에 빠르게 분해되었으며, 95°C 이상, 30분 열처리 결과 기능활성이 완전히 손실되었다.
- PAT은 인공위액에서 1분 이내 및 인공장액에서 5분 이내에 빠르게 분해되었으며, 95°C 이상, 30분 열처리 결과 기능활성이 완전히 손실되었다.

3) 유전자산물 중 이미 알려져 있는 알레르겐과의 상동성

- eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질 아미노산 서열과 이미 알려진 알레르겐과의 아미노산 서열 상동성을 확인하기 위해 1,970개의 아미노산 정보를 포함하고 있는 COMPARE 데이터베이스를 사용 FASTA 검색결과, 80개 이상의 아미노산 부분에서 35% 이상 상동성을 보이는 알레르겐 서열이 없었으며, 연속된 8개 이상의 아미노산과 일치하는 서열도 없었다.

4) 유전자산물이 1일 단백질섭취량의 유의한 양을 차지하고 있는지 여부

- 국내 옥수수 소비량의 전부가 MZIR0198 옥수수라고 가정하고 MZIR0198 옥수수에 대한 국내 식이 노출량 평가를 수행하였다.
- 국민영양통계(KHIDI 2016)에 따르면, 1인당 일일 평균 단백질 섭취량은 71.96g이었으며, 1인당 일일 평균 옥수수 섭취량은 3.62g이었다. 가공과정 중에 손실이 없으며 모든 옥수수의 섭취가 MZIR098 옥수수로 이루어진다는 가정 하에 MZIR098 옥수수 유래 eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT의 일일 섭취량을 각각의 단백질 발현량을 이용하여 계산한 결과, 0.0214mg, 0.0826mg, 0.0001mg이었으며, 이는 전체 단백질 섭취량(71.96g)의 0.0000297, 0.0001148, 0.0000001%이었다.
- 실제로, 모든 옥수수의 섭취는 MZIR098 옥수수로 이뤄지지 않으며, 가공 과정이나 조리 과정 중에 손실이 일어난다. 또한, 해당 섭취량은 MZIR098 옥수수 내 단백질 발현량의 최대치를 적용하여 계산한 값이므로, 계산된 비율은 실제 옥수수 섭취 비율을 고려할 때 극히 낮은 수준으로 판단된다.

마. 숙주와의 차이

- 2013년 미국 8개 지역에서 4반복으로 MZIR0198 알곡과 6종의 일반 옥수수 알곡을 수확하여 성분 분석을 실시하였다.
- 통계방법으로는 분산분석(analysis of variance, ANOVA)를 사용하였고, 통계학적으로 유의적 차이가 나는 성분에 대해 생물학적으로 유의적 차이가 있는지 여부 확인을 위해 상업화된 품종 분석 자료인 허용범위 및 국제기구 보고 자료 등 문헌에 수록된 자료인 문헌범위와 비교하였다.

1) 주요 영양성분

① 일반성분

- 분석한 일반성분(단백질, 지방, 회분, 탄수화물, 산성세제불용성섬유(ADF), 총식이섬유(TDF))은 통계적 유의차가 없었고, 중성세제불용성섬유(NDF) 및 전분은 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 허용범위 또는 문헌범위 내에 포함되어 생물학적 유의차는 없는 것으로 확인되었다.

② 아미노산

- 분석한 아미노산(18개) 성분 모두 통계적으로 유의적인 차이가 없어 생물학적 유의차는 없는 것으로 확인되었다.

③ 지방산

- 분석한 지방산(22개) 중 17:0 heptadecanoic, 18:2 linoleic, 18:0 stearic, 18:1 oleic, 20:0 arachidic에서 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 허용범위 또는 문헌범위 내에 포함되어 생물학적 유의차는 없는 것으로 확인되었다.

2) 미량영양성분

① 무기질

- 분석한 무기질(10개) 중 셀레늄과 나트륨 함량은 LOQ 미만으로 통계처리에서 제외되었고, 칼륨에서 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 허용범위 또는 문헌범위 내에 포함되어 생물학적 유의차는 없는 것으로 확인되었다.

② 비타민

- 분석한 비타민(7개) 중 비타민 A, E에서 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 허용범위 또는 문헌범위 내에 포함되어 생물학적 유의차는 없는 것으로 확인되었다.

3) 내재성독소

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

4) 항영양소

- 2차 대사산물 및 항영양소 중 fufural 함량은 LOQ 미만으로 통계처리에서 제외되었고, 나머지 ferulic acid, *p*-coumaric acid, inositol, phytic acid, trypsin inhibitor, raffinose 함량은 통계적으로 유의적인 차이가 없었다.

5) 알레르기 유발성분

- 옥수수는 주된 알레르기 유발 식품으로 알려져 있지 않다.

6) 삽입된 유전자산물의 대사산물

- 유전자변형 MZIR0198 옥수수와 비유전자변형 옥수수의 영양성분 분석 결과 관행 옥수수와 비교하여 MZIR0198 옥수수의 영양성분에 생물학적으로 유의한 차이가 나타나지 않았으며, 삽입된 유전자에 의해 eCry3.1Ab, mCry3A 및 PAT 단백질이 발현되는 점을 제외하면 MZIR0198 옥수수에서 유래한 식품의 성분에 의도하지 않은 변화가 없는 것으로 판단된다.

7) 영양성

- 육계를 이용하여 유전자변형 옥수수 MZIR098가 성장 단계별로 43.0~56.8% 포함된 사료를 섭취시킨 결과, 폐사율, 체중증가, 사료전환 효율, 조직 등 증량 등에 특이적 영향은 관찰되지 않았다.

바. 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향

- eCry3.1Ab와 mCry3A 단백질은 특성이 잘 알려져 있는 다른 Cry 단백질들과 유사성을 갖는다. 각 Cry 단백질의 살충활성의 범위는 매우 특이적으로, 각 Cry 단백질은 일반적으로 분류계통의 소수 몇 종에 대해서만 활성을 갖는다. eCry3.1Ab와 mCry3A의 작용기작은 대부분의 다른 Cry 단백질과 마찬가지로, 해충에 매우 특이적이며 포유류 혹은 다른 척추 동물류에는 작용하지 않는다.
- Glufosinate-ammonium(L-phosphinothricin)은 질소동화작용 내 glutamine synthetase를 저해한다. PAT은 glufosinate-ammonium을 아세틸화 시키는 매우 특이적 효소이며, 다른 L-아미노산을 아세틸화하지 않는다(Wehrmann *et al.* 1996, Hérouet *et al.* 2005).

사. 식품용으로서의 저장 및 가공에 관한 설명

- 미국에서 재배되는 옥수수의 60% 정도는 사료로 이용되고, 나머지 40% 정도는 습식 혹은 건식제분으로 가공되어 전분당, 녹말, 오일, 옥수수 가루와 같은 가공식품 생산에 사용된다.

아. 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황

- 미국(2016), 캐나다(2016), 호주/뉴질랜드(2016), 일본(2017), 싱가포르(2019), 대만(2019) 등에서 승인되었다.

6. 심사신청 자료 검토 결과

- 가. 이상의 검토 내용과 같이 심사규정에 따라 제출된 안전성 심사 자료를 심사한 결과, 사용된 공여체, 숙주 및 유전자변형 과정 등이 식품으로 이용시 안전성 문제를 유발하지 않는다고 판단되었다.
- 나. 유전자변형 농축수산물에 관해서도 도입된 유전자, 유전자산물, 알레르기성, 독성 및 영양성 등에서 안전성 심사에 필요한 자료를 검토한 결과, 지금까지 식품으로 섭취해온 옥수수와 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

7. 기타

- 가. 「유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률」에 의하여 유전자변형 옥수수 MZIR0198의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성은 농촌진흥청, 환경부, 국립수산물과학원에서 심사 완료하였다.
- 나. 유전자변형 옥수수 MZIR0198의 정성 및 정량 시험법에 대한 검토가 완료되었다.
- 다. 유전자변형 옥수수 MZIR0198의 안전성 심사결과 보고서(안)을 식품의약품안전처 홈페이지 및 정책메일서비스(PMS)에 2019년 9월 5일 ~ 10월 4일까지 공개하여 의견을 수렴한 결과, 접수된 의견은 없었다.

붙임 : 영양성분 분석 자료

[영양성분 분석 자료]

1. 주요영양성분

표 5-58. 형질특이적 제초제 처리 MZIR098(test + TSH)과 비유전자변형 (control) 옥수수 알곡의 전체지역 주요 영양성분 분석 결과

데이터 출처	통계치	수분	단백질	지방	회분	탄수화물	ADF	NDF	TDF	전분
Test + TSH	mean	12.7	10.3	3.99	1.45	84.2	3.95	11.5	16.5	63.9
	range	8.94-17.8	8.64-12.0	3.50-4.49	1.18-1.72	82.5-86.4	2.90-4.58	10.1-12.7	14.2-19.9	59.3-67.8
Control	mean	12.8	10.4	3.93	1.42	84.3	3.90	11.1	16.3	65.8
	range	9.22-17.6	8.46-13.9	3.22-4.76	1.25-1.69	81.3-86.6	3.09-4.67	9.58-12.8	14.0-20.1	58.1-75.0
ANOVA (<i>t</i> -test) 분석 결과 및 표준오차(SEM)										
	<i>p</i>	-	0.719	0.317	0.310	0.780	0.477	0.008	0.375	0.009
	SEM	-	0.32	0.098	0.035	0.34	0.100	0.17	0.36	0.75
비유전자변형	mean	12.2	10.3	3.40	1.48	84.8	3.40	9.54	13.6	66.4
참조품종	range	7.99-17.4	7.68-13.9	2.39-4.41	1.18-1.87	81.3-88.0	2.43-4.48	7.42-12.2	11.2-20.0	53.3-79.6
ILSI (2014)	mean	14.5	10.31	3.829	1.415	84.5	3.72	10.31	13.90	66.6
	range	5.1-40.5	5.72-17.26	1.363-7.830	0.616-6.282	77.4-89.7	1.41-11.34	4.28-22.64	8.73-35.31	26.5-83.7
	<i>N</i>	6616	5790	5790	6190	5765	5942	5941	3763	1931

Test + TSH: *N* = 32. 형질특이적 제초제(trait-specific herbicides, TSH)인 glufosinate 처리.

Control: *N* = 32.

참조품종: *N* = 192.

수분을 제외한 모든 항목은 % 건조중 (DW)을 사용. 수분 % 생체중(FW).

통계 분석 결과 *p* 값이 0.05 이하인 경우 굵은 이탤릭체로 표시.

*알곡은 시험포장에서 건조되거나 수확 후 기계건조 하였기 때문에 수분함량은 분산분석을 수행하지 않음.

2. 아미노산

표 5-59. 형질특이적 제초제 처리 MZIR098(test + TSH)과 비유전자변형 (control) 옥수수 알곡의 전체지역 아미노산 분석 결과

데이터 출처	통계치	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Cys	Val
Test + TSH	mean	6.65	3.58	4.70	19.1	9.05	3.80	7.94	2.06	4.64
	range	5.64-7.75	2.98-4.18	3.90-5.53	14.9-23.3	7.24-10.6	3.26-4.23	6.11-9.80	1.68-2.45	3.51-5.49
Control	mean	6.66	3.57	4.70	19.1	8.97	3.78	7.91	2.03	4.63
	range	5.52-9.19	2.99-4.93	3.72-6.58	15.1-29.4	7.16-12.6	3.14-4.55	6.17-11.8	1.59-2.46	3.67-6.42
ANOVA (<i>t</i> -test) 분석 결과 및 표준오차(SEM)										
	<i>p</i>	0.888	0.911	0.942	0.967	0.542	0.508	0.823	0.279	0.809
	SEM	0.195	0.107	0.155	0.75	0.277	0.085	0.297	0.048	0.140
비유전자변형	mean	6.79	3.58	4.74	19.1	9.10	3.83	7.81	2.06	4.67
참조품종	range	4.87-8.94	2.56-4.74	3.33-7.04	12.8-28.9	5.97-12.6	2.70-4.82	5.42-11.4	1.52-2.59	3.27-6.23
ILSI (2014)	mean	6.82	3.68	4.97	19.70	9.19	3.88	7.89	2.14	4.83
	range	3.35-12.08	2.19-6.66	1.82-7.69	9.65-35.40	4.62-17.50	1.84-6.85	4.39-14.80	1.16- 5.14	2.66-8.55
	<i>N</i>	5918	5918	5918	5918	5918	5918	5918	5917	5918

Test + TSH: *N*=32. 형질특이적 제초제(trait-specific herbicides, TSH)인 glufosinate 처리.

(계속)

Control: *N*=32.

참조품종: *N*=192.

아미노산은 mg/g 건조중으로 나타냄.

통계 분석 결과 *p* 값이 0.05 이하인 경우 굵은 이탤릭체로 표시.

2. 아미노산(계속)

표 5-59. 형질특이적 제초제 처리 MZIR098(test + TSH)과 비유전자변형 (control) 옥수수 알곡의 전체지역 아미노산 분석 결과 형질특이적 제초제 처리 MZIR098(test + TSH)과 비유전자변형 (control) 옥수수 알곡의 전체지역 아미노산 분석 결과(계속)

데이터 출처	통계치	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Arg	Trp
Test + TSH	mean	2.15	3.55	12.9	4.01	5.18	2.99	2.60	5.00	0.850
	range	1.74-2.46	2.54-4.36	9.79-16.4	3.34-5.08	4.01-6.28	2.61-3.35	2.12-3.05	3.94-5.77	0.698-0.963
Control	mean	2.16	3.55	12.9	4.02	5.17	2.97	2.56	4.91	0.839
	range	1.73-2.84	2.81-5.31	10.1-20.9	3.29-5.90	4.09-8.01	2.43-3.41	2.16-3.27	3.83-6.09	0.690-0.965
ANOVA (<i>t</i> -test) 분석 결과 및 표준오차(SEM)										
	<i>p</i>	0.708	0.956	0.899	0.919	0.972	0.631	0.245	0.186	0.231
	SEM	0.066	0.131	0.56	0.148	0.206	0.051	0.067	0.138	0.0202
비유전자변형	mean	2.02	3.55	12.8	4.03	5.19	2.92	2.68	5.02	0.859
참조품종	range	1.51-2.49	2.38-5.18	8.30-20.7	2.69-6.09	3.52-7.92	1.88-3.85	1.95-3.58	3.47-6.54	0.639-1.02
ILSI (2014)	mean	2.10	3.68	13.03	3.54	5.30	2.94	2.87	4.65	0.712
	range	1.05-4.68	1.79-6.92	6.42-24.92	1.03-7.34	2.44-9.30	1.29-6.68	1.37-4.56	1.19-7.08	0.271-2.150
	<i>N</i>	5915	5918	5918	5918	5918	5909	5918	5918	5916

Test + TSH: *N* = 32. 형질특이적 제초제(trait-specific herbicides, TSH)인 glufosinate 처리.

Control: *N* = 32.

참조품종: *N* = 192.

아미노산은 mg/g 건조중으로 나타냄.

통계 분석 결과 *p* 값이 0.05 이하인 경우 굵은 이탤릭체로 표시.

3. 지방산

표 5-60. 형질특이적 제초제 처리 MZIR098(test + TSH)과 비유전자변형(control) 옥수수 알곡의 전체지역 지방산 분석 결과

데이터 출처	통계치	16:0 Palmitic	16:1 Palmitoleic	17:0 Heptadecanoic	18:0 Stearic	18:1 Oleic	18:2 Linoleic	18:3 Linolenic	20:0 Arachidic	20:1 Eicosenoic	22:0 Behenic
Test + TSH	Mean	14.2	0.131	0.0842	2.09	26.5	54.5	1.77	0.421	0.228	0.170
	Range	13.8-14.8	0.106-0.148	0.0727-0.0949	1.71-2.34	23.0-28.4	52.4-58.8	1.67-1.89	0.356-0.459	0.198-0.247	0.110-0.206
Control	Mean	14.2	0.131	0.0821	2.13	27.1	53.8	1.76	0.427	0.228	0.174
	range	13.8-14.7	0.106-0.157	0.0730-0.0913	1.73-2.44	23.5-29.2	51.7-58.0	1.65-1.85	0.353-0.477	0.203-0.253	0.134-0.206
ANOVA (t-test) 분석 결과 및 표준오차(SEM)											
	<i>p</i>	0.958	0.732	0.008	0.011	0.001	<0.001	0.797	0.015	0.916	0.580
	SEM	0.08	0.0034	0.00199	0.058	0.55	0.63	0.017	0.0107	0.0039	0.0058
비유전자변형	mean	15.1	0.127	0.0871	2.06	24.9	55.1	1.73	0.415	0.256	0.187
참조품종	range	13.2-17.0	0.0876-0.200	0.0698-0.121	1.59-2.48	16.5-31.1	47.5-64.1	1.39-2.12	0.329-0.485	0.178-0.348	0.0977-0.247
ILSI (2014)	mean	12.55	0.147	0.089	1.90	26.52	56.72	1.38	0.419	0.270	0.185
	range	6.81- 26.55	<LOQ-0.453	<LOQ-0.203	1.02- 3.83	17.40-42.81	34.27-67.68	0.55-2.33	0.267-0.993	<LOQ-1.952	<LOQ-0.417
	<i>N</i>	4682	2119	265	4682	4682	4682	4682	4344	4322	3858

Test + TSH: *N* = 32. 형질특이적 제초제(trait-specific herbicides, TSH)인 glufosinate 처리.

Control: *N* = 32.

참조품종: *N* = 192.

ILSI: ILSI값의 *N* 은 LOQ 미만의 값을 제외하고 평균값 계산에 사용된 수.

지방산 함량은 전체 지방산에 대한 % 농도.

통계 분석 결과 *p* 값이 0.05 이하인 경우 굵은 이탤릭체로 표시. 정량한계 이하인 경우 통계 분석하지 않고 범위만 표시. 전체 지역에서 반복의 값이 모두 정량한계 이하인 경우에는 통계 분석을 수행하지 않음. 분석 결과가 정량한계 미만인 지방산 항목은 다음과 같다. 8:0 caprylic, 10:0 capric, 12:0 lauric, 14:0 myristic acid, 14:1 myristoleic, 15:0 pentadecanoic, 15:1 pentadecenoic, 17:1 heptadecenoic, 18:3 gamma linolenic, 20:2 eicosadienoic, 20:3 eicosatrienoic, and 20:4 arachidonic fatty acids.

4. 비타민

표 5-62. 형질특이적 제초제 처리 MZIR098(test + TSH)과 비유전자변형(control) 옥수수 알곡의 전체지역 비타민 분석 결과

데이터 출처	통계치	Vitamin A β-carotene	Vitamin B1 Thiamine	Vitamin B2 Riboflavin	Vitamin B3 Niacin	Vitamin B6 Pyridoxine	Vitamin B9 Folic Acid	Vitamin E ^a α-tocopherol
Test + TSH	mean	0.154	0.379	0.233	2.11	0.562	0.0453	0.0127
	range	0.126–0.200	0.303–0.467	0.150–0.362	1.82–2.34	0.430–0.662	0.0309–0.0622	0.00955–0.0161
Control	mean	0.145	0.374	0.217	2.09	0.563	0.0441	0.0121
	range	0.105–0.190	0.305–0.458	0.132–0.346	1.76–2.42	0.410–0.698	0.0355–0.0602	0.00814–0.0155
ANOVA (t-test) 분석 결과 및 표준오차(SEM)								
	<i>p</i>	0.025	0.450	0.254	0.530	0.971	0.337	0.044
	SEM	0.0045	0.0130	0.0115	0.044	0.0161	0.00233	0.00066
비유전자변형	mean	0.134	0.368	0.214	2.45	0.632	0.0414	0.0132
참조품종	range	0.0640–0.318	0.249–0.506	0.114–0.375	1.55–4.17	0.365–0.910	0.0232–0.0640	0.00762–0.0221
ILSI (2014)	mean	0.481	0.383	0.190	2.094	0.601	0.0575	0.0106
	range	<LOQ–4.990	<LOQ–4.000	<LOQ–0.735	<LOQ–4.694	<LOQ–1.214	<LOQ–0.3500	<LOQ–0.0687
	<i>N</i>	4373	4981	4061	4999	4998	5460	4480

Test + TSH: *N*=32. 형질특이적 제초제(trait-specific herbicides, TSH)인 glufosinate 처리.

Control: *N*=32.

참조품종: *N*=192.

ILSI: ILSI값의 *N*은 LOQ 미만의 값을 제외하고 평균값 계산에 사용된 수.

비타민 E(mg/g)를 제외한 모든 비타민 함량은 mg/100g DW로 나타냄.

통계 분석 결과 *p*값이 0.05 이하인 경우 굵은 이탤릭체로 표시.

^amg/100 g 를 Covance Laboratories 에 사용하는 단위인 mg/g으로 전환함.

5. 무기질

표 5-61. 형질특이적 제초제 처리 MZIR098(test + TSH)과 비유전자변형(control) 옥수수 알곡의 전체지역 무기질 분석 결과

데이터 출처	통계치	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	P	K	Se ^a	Na ^b	Zn
Test + TSH	mean	36.6	1.93	19.7	1180	5.98	3060	3670	–	–	20.9
	range	27.2–49.2	1.36–2.88	15.7–22.1	1030–1300	3.66–8.88	2520–3550	3270–4020	<LOQ–0.597	<LOQ–133	16.5–27.9
Control	mean	35.5	1.90	19.7	1176	5.93	2989	3549	–	–	20.4
	range	23.6–50.1	1.32–2.57	16.9–28.0	994–1360	3.34–10.4	2540–3620	3220–3930	<LOQ–0.582	<LOQ	15.7–24.4
ANOVA (t-test) 분석 결과 및 표준오차(SEM)											
	<i>p</i>	0.217	0.499	0.901	0.830	0.739	0.079	0.001	–	–	0.597
	SEM	2.28	0.131	0.35	25	0.586	82	59	–	–	0.92
비유전자변형	mean	41.2	2.09	20.3	1168	5.80	3053	3807	–	–	21.3
참조품종	range	27.4–59.1	1.33–3.20	13.4–28.8	867–1400	3.15–9.10	2410–3750	3170–4640	<LOQ–0.802	<LOQ–185	12.7–29.3
ILSI (2014)	mean	44.2	1.71	20.56	1217.0	6.45	3142.0	3690.6	0.28	24.94	22.8
	range	<LOQ–1010.0	<LOQ–21.20	9.51–191.00	594.0–1940.0	1.69–14.30	1300.0–5520.0	1810.0–6030.0	<LOQ–1.51	<LOQ–731.54	6.5–42.6
	<i>N</i>	5932	5650	5819	5823	5822	5938	5823	973	1110	5823

Test + TSH: *N* = 32. 형질특이적 제초제(trait-specific herbicides, TSH)인 glufosinate 처리.

Control: *N* = 32.

참조품종: *N* = 192.

ILSI: ILSI 값의 *N* 은 LOQ 미만의 값을 제외하고 평균값 계산에 사용된 수.

무기질은 mg/kg 건조중으로 나타냄.

통계 분석 결과 *p* 값이 0.05 이하인 경우 굵은 이탤릭체로 표시. 전체 또는 일부 함량이 정량한계 이하인 경우, 통계분석을 수행하지 않고 범위만 표시함.

^aparts per billion (ppb)를 Covance Laboratories 에 사용하는 단위인 mg/kg 으로 전환함. 셀레늄의 LOQ 는 0.033–0.036 mg/kg 건조중임.

^b나트륨의 LOQ 는 109–123 mg/kg 건조중임.

6. 이차대사산물

표 5-63. 형질특이적 제초제 처리 MZIR098(test + TSH)과 비유전자변형(control) 옥수수 알곡의 전체지역 이차대사산물 및 항영양성분 분석 결과

데이터 출처	통계치	Ferulic acid (mg/kg)	<i>p</i> -Coumaric acid (mg/kg)	Inositol (ppm)	Phytic acid (%)	Trypsin inhibitor (TIU/mg)	Furfural ^a (mg/kg)	Raffinose ^b (%)
Test + TSH	mean	3408	307	2565	0.876	4.00	–	0.109
	range	2980–3920	246–359	2120–3550	0.648–1.08	2.74–5.81	<LOQ	0.0602–0.176
Control	mean	3357	300	2520	0.885	4.03	–	0.105
	range	3030–3970	220–364	1900–3470	0.707–1.12	2.90–4.90	<LOQ	<LOQ–0.169
ANOVA (t-test) 분석 결과 및 표준오차(SEM)								
	<i>p</i>	0.198	0.161	0.568	0.706	0.826	–	0.189
	SEM	62	9.2	74	0.0358	0.123	–	0.0130
비유전자변형	mean	2249	222	2606	0.893	4.04	–	0.172
참조품종	range	1700–2920	113–435	1720–3890	0.503–1.34	1.67–6.09	<LOQ	<LOQ–0.386
ILSI (2014)	mean	2254.93	224.2	1737.1	0.861	3.51	3.697	0.174
	range	291.93–4397.30	<LOQ–820.0	<LOQ–4750.0	<LOQ–1.570	<LOQ–8.42	<LOQ–6.340	<LOQ–0.443
	<i>N</i>	5378	5371	4003	5762	4089	14	4585

Test + TSH: *N* = 32. 형질특이적 제초제(trait-specific herbicides, TSH)인 glufosinate 처리.

Control: *N* = 32. 참조품종: *N* = 192.

ILSI: ILSI 값의 *N* 은 LOQ 미만의 값을 제외하고 평균값 계산에 사용된 수.

각 영양성분별 단위를 표안에 표시. mg/kg, ppm, %, 트립신저해제단위(TIU). 모든 성분은 건조중을 기본으로 함.

통계 분석 결과 *p* 값이 0.05 이하인 경우 굵은 이탤릭체로 표시. 전체 또는 일부 함량이 정량한계 이하인 경우, 통계분석을 수행하지 않고 범위만 표시함.

^afurfural 의 LOQ 는 0.543–0.616 mg/kg DW.

^braffinose 의 LOQ 는 0.057–0.060 mg/kg DW. 대조군 시료는 ANOVA 를 수행하기 위해 LOQ 로 대체함.