

**유전자변형 면화 GHB811
안전성 심사결과 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	3
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	4
라. 안전한 식경험의 유무	4
3. 공여체	4
가. 분류학적 특성	4
나. 안전한 식경험의 유무, 식품용 이외의 노출 경로	5
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	10
가. 유전자변형농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보	10
나. 유전자산물에 관한 정보	12
다. 독성	13
라. 알레르기성	14
마. 숙주와의 차이	15
바. 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향	17
사. 식품용으로서의 저장 및 가공에 관한 설명	17
아. 외국의 식품유통 승인 및 식품용 등의 이용 현황	17
6. 심사신청 자료 검토 결과	17
7. 기타	18
[붙임] 영양성분 분석 자료	19

※ 자료제출 관련 규정 : 유전자변형식품등의 안전성 심사 등에 관한 규정

유전자변형 면화 GHB811

안전성 심사결과 보고서

I. 요약

한국바스프(주)는 제초제 내성을 나타내는 유전자변형 면화 GHB811에 대해 식품의약품안전처에 안전성 심사를 신청하였고, ‘유전자변형식품등 안전성 심사위원회’ (이하 ‘심사위원회’라 한다)는 「유전자변형식품등의 안전성 심사등에 관한 규정 (이하 ‘심사규정’이라 한다)」에 따라 안전성을 심사하였다.

GHB811은 *hppdw336Pf-1Pa* 및 *2mepsps* 유전자 도입을 통한 HPPD W336 단백질과 2mEPSPS 단백질 발현으로 아이소자플루톨과 글리포세이트 제초제 내성을 나타낸다.

GHB811에 도입된 *hppdw336Pf-1Pa* 및 *2mepsps* 유전자는 southern blot을 통해 5세대에 걸쳐 안정적으로 유지되는 것이 확인되었다.

기존에 알려진 독소 및 항영양소와 유사성을 알아보기 위해 NCBI(2016) 단백질 데이터베이스 등을 이용하여 이미 알려진 독소 및 항영양소의 아미노산 서열과 HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질의 아미노산 서열을 비교 분석한 결과, 서열 상동성이 없는 것으로 확인되었다. 또한 HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질에 대한 마우스 단회투여독성 평가 자료를 검토한 결과, 독성이 없는 것으로 확인되었다.

기존에 알려진 알레르겐과 유사성을 알아보기 위해 AOL 데이터베이스(2016)를 이용하여 HPPD W336 및 2mEPSPS 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.

GHB811 면화와 기존 면화의 주요 영양성분, 미량 영양성분, 항영양소 등의 함량을 비교한 결과, 생물학적 차이가 없었다. 육계를 대상으로 GHB811 면화를 42일 동안 급이 시험한 결과, 기존 면화와 영양성에 차이가 없는 것이 확인되었다.

결론적으로 유전자변형 면화 GHB811은 지금까지 식품으로 섭취해온 면화와 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

II. 심사경위

- 한국바스프(주)는 제초제내성 면화 GHB811에 대해 식품위생법 제18조에 따른 안전성 심사를 받기 위하여 2017년 4월 28일 식품의약품안전처에 「유전자변형 식품등의 안전성 심사 등에 관한 규정」(이하 심사규정)에 따른 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

- 심사대상 품목

대상품목	신청자	개발자	제외국의 안전성 승인 현황
제초제내성 면화 GHB811	한국바스프(주)	BASF Agricultural Solutions Seed US LLC	미국(2018), 호주/뉴질랜드(2018), 캐나다(2018), 아르헨티나(2018), 일본(2018), 대만(2019)

- 심사경과
 - 2017년 4월 28일 : 안전성 심사 신청
 - 2017년 7월 18일 : 1차 안전성 심사위원회
 - 2018년 3월 9일 : 2차 안전성 심사위원회
 - 2018년 8월 21일 : 3차 안전성 심사위원회
 - 2018년 11월 20일 : 4차 안전성 심사위원회

IV. 심사방법

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

V. 심사 신청 자료 검토

- 심사 신청된 식품의 개요
 - 한국바스프(주)에서 심사 신청한 유전자변형 면화 GHB811은 *hpxdw336Pf-1Pa* 및 *2mepsps* 유전자가 도입된 것으로 아이소자플루톨과 글리포세이트 제초제 내성 형질을 갖는다.
- 식품으로서의 적합성 검토
 - 본 품목과 관련하여 제출된 안전성 심사 자료가 심사규정 제12조에서 요구하는 자료를 만족시키는지 여부를 검토하였으며,
 - 자료의 내용을 토대로 다음과 같이 식품으로서의 안전성이 확보되어 있는지를 심사하였다.

1. 유전자변형농축수산물의 개발목적 및 이용방법

- 한국바스프(주)에서 심사 신청한 GHB811은 *hpxdw336Pf-1Pa* 및 *2mepsps* 유전자가 도입된 것으로 각각 아이소자플루톨, 글리포세이트 제초제 내성을 나타낸다.
- 그 밖의 재배방법 및 이용방법은 기존의 일반 면화와 동일하다.

2. 숙주

가. 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)

- 과(Family) : Malvaceae
- 속(Genus) : *Gossypium*
- 종(Species) : *hirsutum*
- 일반명(Common Name) : 면화(cotton)

나. 재배 및 품종개량의 역사

- 면화는 수천 년 동안 세계의 많은 지역에서 경작되어 왔다. 다양한 면화 식물종이 메소아메리카, 안데스, 아프리카, 동남아시아 등지에서 독립적으로 재배되었다. 기원전 3000년 이전, 파키스탄에서 재배된 면화가 방적·방직되어 면직물로 만들어졌다. 면직물은 기원 후 800년경에 유럽으로 전파되었으며, 1500년경에는 전 세계에 걸쳐 알려지게 되었다(OECD, 2009).
- 면화 종자는 미국과 몇 개 국가에서만 상업적 용도로 개발되어 왔다. 가공되지 않은 면화 종자는 면실박(meal)이나 면실피(hull)의 형태로 동물 사료로 사용되고 있으며, 종자의 주된 산물인 면실유(oil)는 식품으로 소비된다.
- 2010년부터 2014년까지, 전 세계적으로 중국, 인도, 미국 및 파키스탄이 면실 및 면실유의 최대 생산 국가였으며, 2013년 호주, 미국, 그리스 등에서 주로 수출, 미국, 한국, 중국, 이탈리아, 멕시코, 일본 등에 주로 수입되었다(FAO, 2016).

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

- 면화에는 고시폴(gossypol)이 함유되어 있으며, 적혈구의 산소 운반 능력을 감소 시킴으로써 독성을 가지나, 면실유의 정제 및 탈색 과정에서 완전히 제거된다. 미국 FDA의 경우 인체에 사용되는 면실 단백질 중 고시폴이 kg 당 450mg 이상 함유하지 않도록 제한하고 있다(Jones, 1981)
- 면실유에는 말발릭산, 스테르쿨린산, 디하이드로스테르쿨린산을 포함하는 CPFA(cyclopropenoid fatty acid)가 함유되어 있다. 이 CPFA 함량이 감소되지 않은 면실박 또는 면실유를 섭취함으로써 성적 미숙, 가금류의 알 생산 감소 및 세포질의 변화 등 부정적 영향이 나타날 수 있다. 따라서 업계에서는 가금류 사료로서 면실박과 면실유의 사용을 제한하고 있다(OECD, 2009). 이러한 CPFA는 면실유 추출 과정 중 탈취 및 동결방지 처리단계에서 불활성화 되거나 제거된다(Gunstone, 1994).
- 면화는 알레르겐의 주요 기원으로 알려져 있지 않으며(CFIA, 2005), 가장 많이 소비되는 면화 제품인 면실유 역시 알레르기를 일으키는 식품으로 간주되지 않는다(Hefle, 1999).

라. 안전한 식경험의 유무

- 성숙한 면화 다래에서 섬유와 씨앗을 분리 후, 씨앗(면실)은 그 자체로 가축 사료로 사용되거나 면실유 등으로 추가 가공 된다. 면실피에 남아있는 린터(linter, 짧은 섬유)는 식용으로든, 비식용으로든 사용 가능하다.
- 면실유는 식품으로 소비되며, 식용유, 샐러드유, 마요네즈, 마가린 등에 사용 된다. 린터는 베이킹, 드레싱 등 고섬유질 식이 제품으로 사용된다. 면실 단백질은 종자에 있는 고시폴과 같은 항영양소 때문에 그 사용이 매우 제한적이다. 전지 면실(린터가 제거되지 않은 면실), 린터가 제거된 면실, 면실박 및 면실피는 동물 사료로도 이용된다.

3. 공여체

가. 분류학적 특성

1) *hpxdPF W336* 유전자 공여체

- 과(Family) : Pseudomonasaceae
- 속(Genus) : *Pseudomonas*
- 종(Species) : *fluorescens*
- 균주(Strain) : A32

2) *2mepsps* 유전자 공여체

- 과(Family) : Praceae (Gramineae)
- 속(Genus) : *Zea*
- 종(Species) : *mays*
- 일반명(Common name) : 옥수수(Maize or Corn)

나. 안전한 식경험의 유무, 식품용 이외의 노출 경로

- *P. fluorescens*는 토양, 물 및 식품을 포함한 환경에 널리 존재하고 있으며, 농업, 인체 건강 및 생물적 치료 등의 분야에서 다양한 유용성을 가지고 있다(OECD, 1997).
- 옥수수는 병원성, 독성 및 알레르기성이 있다고 보고되지 않았으며, 식품과 사료로 널리 이용되어 왔다. 또한 전세계 거의 모든 지역에서 다양한 기후 환경 하에 재배되고 있으며, 높은 탄수화물, 단백질, 지방 및 다른 유용한 영양 물질의 함량이 높아 인체와 동물의 영양에 중요한 작물이다(OECD, 2003).

다. 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성

○ *P. fluorescens*

- 환경에 흔히 존재하고 있으며, 안전한 사용이력을 가지고 있다. 또한 HPPD는 식용 작물 및 동물에 흔하게 존재하고 있으며 독성이나 알레르기성이 있는 것으로 알려진 바는 없다(Lebrun, 1997).

※ *hppd* : 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase를 암호화하는 유전자

○ *Zea mays* L.

- 옥수수는 식품 알레르겐 표시 대상 목록에 속하지 않으며, 알레르기 전문가들은 옥수수를 알레르기 식품으로 간주하지 않는다(Capt. A., 2011).

4. 유전자변형

가. 형질전환 과정에 대한 정보

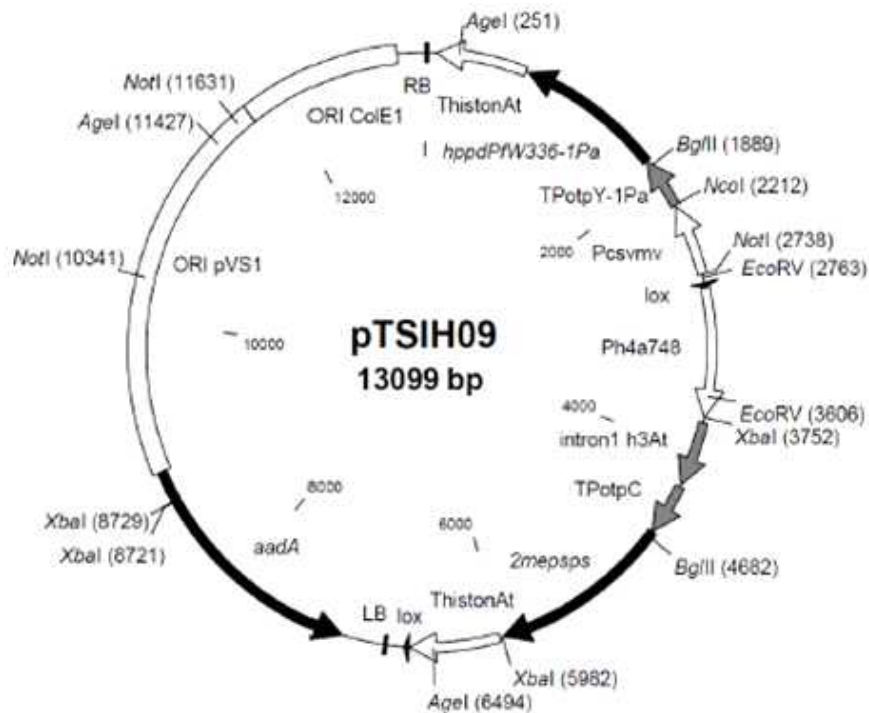
1) 형질전환 방법

- 아그로박테리움법으로 형질전환 하였다. 형질전환 과정에 사용된 아그로박테리움 계통(strain)은 C58C1_{RIF}이며, pGSC1700로부터 유래된 T-DNA 클로닝 벡터 pTSIH09 및 helper plasmid pEHA101이 이용되었다. 형질전환된 캘러스(callus)는 클리포세이트가 포함된 배지에서 선발되었으며, 선발된 캘러스는 체세포 배발생 및 재분화를 통해 소식물체로 유도된 후, HPPD에 의한 제초제 내성이 있는 식물체를 선별하였다.

2) 벡터에 대한 정보

가) 기원

- 플라스미드 pTSIH09은 벡터 pGSC1700으로부터 유도된 식물 형질전환용 벡터로 2개의 유전자발현 카세트를 포함하고 있다.
- 첫 번째 발현 카세트는 *P. fluorescens*의 A32 계통에서 유래된 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase(*hpd*)를 암호화하는 유전자의 단일 염기서열 돌연변이 형태인 *hpdPFW336-1Pa* 유전자를 포함하고 있다.
- 두 번째 발현 카세트는 옥수수(*Zea mays*)의 5-enolpyruvylshikimate - 3-phosphate를 암호화하는 *2mepsps* 유전자를 포함하고 있다.



<플라스미드 벡터 pTSIH09>

나) 숙주에서의 확인

- Southern blot 분석 결과, GHB811 면화의 genomic DNA에는 pTSIH09 플라스미드의 온전한 T-DNA 서열이 단일 위치에 삽입되었으며, 벡터 backbone 서열이 존재하지 않음을 확인하였다.

다) 숙주에서의 기능

- 플라스미드 pTSIH09는 T-DNA 부분에 두 개의 식물 유전자 발현 카세트를 포함하고 있다.

- 첫 번째 발현 카세트는 HPPD W336 단백질을 암호화하는 *hppdPW336-1Pa* 유전자를 포함하고 있어, 아이소자플루톨 제조제에 대한 내성을 부여한다.
- 두 번째 발현 카세트는 옥수수의 2mEPSPS 단백질을 암호화하는 *2mepsps* 유전자를 포함하고 있어, 글리포세이트 제조제에 대한 내성을 갖도록 한다.

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 pTSIH09은 두 개의 복제 원점(ORI pVS1, ORI ColE1)을 가지고 있으며, 각각 아그로박테리움, *E. coli*에서의 복제를 위해 유래한 것이다. 두 복제 원점은 일부의 박테리아 숙주 세포에서만 증식이 가능하다. 따라서 다른 생물체에 전달될 가능성은 없다.

3) 중간숙주에 대한 정보

- GHB811 이벤트 개발을 위한 유전자변형 과정에서는 아그로박테리움 계통인 C58C1Rif이 중간 숙주로 사용되었다. 아그로박테리움은 토양세균의 일종으로, 특정 DNA를 숙주인 쌍자엽 식물에 전달하여 근두암종병을 일으키는 병원균으로 알려져 있다. 그러나 본 형질전환에 사용된 아그로박테리움은 식물에 종양을 일으키는 유전자를 포함하지 않은 T-DNA 내 유전정보만을 숙주 식물에 전달한다. 아그로박테리움 균에 의한 인체 위해성이 보고된 바는 없다.

나. 도입유전자에 대한 정보

1) 구성 유전자의 특성, 염기서열, 제한효소 절단지도

가) 선발표지유전자

- 아이소자플루톨 및 글리포세이트 제조제에 내성을 부여하는 *hppdPW336-1Pa* 및 *2mepsps* 유전자가 선발표지유전자로서 사용되었다.

나) 조절인자

- *hppdPFW336-1Pa* 코딩서열은 다음과 같은 인자의 조절을 받는다.
 - Pcsvmv promoter : 카사바 잎맥 모자이크 바이러스(Cassava Vein Mosaic Virus) 유래
 - TPotP T-1Pa : *Zea mays* 유래 RuBisco small subunit 유전자 transit peptide(55번째 아미노산 Try)
 - ThistoneAt terminator : *Arabidopsis thaliana* 유래 히스톤 H4 유전자의 3' UTR 영역을 포함하는 서열

- *2mepsps* 코딩서열은 다음과 같은 인자의 조절을 받는다.
 - Ph4a748 promoter : *Arabidopsis thaliana* 유래 histone H4 유전자의 프로모터 부분
 - intron 1 h3At : *Arabidopsis thaliana* 유래 histone H3.III 이형 유전자들 중 유전자의 첫 번째 인트론
 - TPotp C : *Zea mays* 및 *Helianthus annuus* 유래 RuBisco small subunit 유전자 transit peptide
 - histoneAt terminator : *Arabidopsis thaliana* 유래 히스톤 H4 유전자의 3' UTR 부분으로 빠르게 성장하는 식물조직에서 지속적으로 많은 양의 유전자 발현 유도

다) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

- 제시된 조절 인자 외, T-DNA 기능에 영향을 미치는 어떠한 다른 인자도 사용되지 않았다.

2) 크기 및 명칭

- 도입된 구성 유전자의 크기 및 명칭은 다음의 표로 제시되었다.

< 플라스미드 벡터(pTSIH09)의 주요 구성 요소 >

Nt Positions	Orientation	Origin
1 - 25		RB: right border repeat from the T-DNA of <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Zambryski, 1988)
26 - 82		Synthetic polylinker derived sequences
83 - 749	Counter clockwise	ThistonAt: sequence including the 3' untranslated region of the histone H4 gene of <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté <i>et al.</i> , 1987)
750 - 765		Synthetic polylinker derived sequences
766 - 1842	Counter clockwise	<i>hppdPW336-1Pa</i> : coding sequence of the 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase gene of <i>Pseudomonas fluorescens</i> strain A32 modified by the replacement of the amino acid Glycine 336 with a Tryptophane (Boudec <i>et al.</i> , 2001), adapted to cotton codon usage
1843 - 2214	Counter clockwise	<i>TPotpY-1Pa</i> : coding sequence of an optimized transit peptide derivative (position 55 changed into Tyr), containing sequence of the RuBisCO small subunit genes of <i>Zea mays</i> and <i>Helianthus annuus</i> (Lebrun <i>et al.</i> , 1996), adapted for cotton codon usage
2215 - 2222		Synthetic polylinker derived sequences
2223 - 2735	Counter clockwise	<i>Pcsvmv</i> : sequence including the promoter region of the Cassava Vein Mosaic Virus (Verdaguer <i>et al.</i> , 1996)
2736 - 2795		Synthetic polylinker derived sequences
2796 - 2829	Clockwise	lox: sequence including the 34bp recognition sequence for the Cre recombinase of bacteriophage P1 (Hoess and Abremski, 1985)
2830 - 2833		Synthetic polylinker derived sequences
2834 - 3750	Clockwise	Ph4a748: sequence including the promoter region of the histone H4 gene of <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté <i>et al.</i> , 1987)
3751 - 3789		Synthetic polylinker derived sequences
3790 - 4255	Clockwise	intron1 h3At: first intron of gene II of the histone H3.III variant of <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chaubet <i>et al.</i> , 1992)
4256 - 4268		Synthetic polylinker derived sequences
4269 - 4640	Clockwise	<i>TPotpC</i> : coding sequence of the optimized transit peptide, containing sequence of the RuBisCO small subunit genes of <i>Zea mays</i> and <i>Helianthus annuus</i> (Lebrun <i>et al.</i> , 1996)
4641 - 5978	Clockwise	<i>2mepsps</i> : coding sequence of the double-mutant 5-enol-pyruvylshikimate-3-phosphate synthase gene of <i>Zea mays</i> (Lebrun <i>et al.</i> , 1997)
5979 - 5998		Synthetic polylinker derived sequences
5999 - 6665	Clockwise	ThistonAt: sequence including the 3' untranslated region of the histone H4 gene of <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté <i>et al.</i> , 1987)
6666 - 6669		Synthetic polylinker derived sequences
6670 - 6703	Clockwise	lox: sequence including the 34bp recognition sequence for the Cre recombinase of bacteriophage P1 (Hoess and Abremski, 1985)
6704 - 6831		Synthetic polylinker derived sequences
6832 - 6856		LB: left border repeat from the T-DNA of <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Zambryski, 1988)
6857 - 7161		Ti-plasmid sequences of pTiAch5 flanking the left border repeat (Zhu <i>et al.</i> , 2000).
7162 - 8946	Counter Clockwise	<i>aadA</i> : fragment including the aminoglycoside adenyltransferase gene of <i>Escherichia coli</i> (Fling <i>et al.</i> , 1985).
8947 - 11736		ORI pVS1: fragment including the origin of replication from the <i>Pseudomonas</i> plasmid pVS1 for replication in <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Hajdukiewicz <i>et al.</i> , 1994).
11737 - 12893		ORI ColE1: fragment including the origin of replication from the plasmid pBR322 for replication in <i>Escherichia coli</i> (Bolivar <i>et al.</i> , 1977).
12894 - 13099		Ti-plasmid sequences of pTiAch5 flanking the right border repeat (Zhu <i>et al.</i> , 2000)

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

- *2mepsps* 유전자는 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate 유전자의 변형된 형태로, 2mEPSPS 단백질을 암호화하여, 글리포세이트 제초제에 대한 내성을 부여한다.
- *hppdPf W336* 유전자는 HPPD W336 단백질을 암호화하여, 아이소자플루톨 제초제에 대한 내성을 갖도록 한다.

5) 유해염기서열의 유무

- HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질에 대하여 AOL(ver.16, 2016), NCBI(ver. 2016.0206, 2016), BCS(ver. 16.1, 2016) 데이터베이스를 이용하여 생물정보학 분석을 한 결과, 유해서열이 존재하지 않는 것으로 확인되었다.

6) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현 가능성

- GetORF(ver. 6.3.1 July 2010) 프로그램을 이용하여 ORF 발현 가능성을 분석한 자료를 검토한 결과, 도입유전자에서 특이적으로 전사 및 발현 가능성이 있는 ORF는 발견되지 않았다.

7) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입

- 유전자변형 면화 GHB811 내 벡터 backbone 염기서열의 존재 여부를 확인하기 위한 Southern blot 분석 자료를 검토한 결과, GHB811 면화 내에는 벡터 backbone이 존재하지 않음이 확인되었다.

5. 유전자변형농축수산물의 특성

가. 유전자변형농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보

1) 유전자변형농축수산물의 게놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

- *hppdPf W336* 유전자는 HPPD W336 단백질을 암호화하며, 이 단백질의 발현은 아이소자플루톨 제초제에 대한 내성을 부여한다.
- *2mepsps* 유전자는 2mEPSPS 단백질을 암호화하며, 이 단백질의 발현은 글리포세이트 제초제에 대한 내성을 부여한다.

2) 삽입부위의 수

- Southern blot 분석 자료를 검토한 결과, 도입 유전자인 *hppdPfW336-1Pa* 및 *2mepsps* 유전자를 포함하는 전체 T-DNA 부위가 단일카피로 존재함이 확인되었다.

3) 각 삽입부위의 삽입유전자의 구성

가) 복제수, 염기서열

- Southern blot 분석 결과, 도입유전자인 *hppdPFW336-1Pa* 및 *2mepsps* 유전자를 포함하는 T-DNA 부위가 GHB811 면화 내에 단일카피로 존재함이 확인되었다.

나) 이미 알려져 있는 독소나 항영양소를 암호화하는 유전자와의 상동성

- 기존에 알려진 독소 및 항영양소와의 유사성을 알아보기 위해 NCBI(2016) 단백질 데이터베이스 등을 이용하여 이미 알려진 독소 및 항영양소의 아미노산 서열과 HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질의 아미노산 서열을 비교 분석한 결과, 서열 상동성이 없는 것으로 확인되었다

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

- GetORF 프로그램(ver 6.3.1, July 2010)을 이용하여 GHB811의 삽입유전자와 5' 및 3' 인접 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

- GHB811에 존재하는 삽입 DNA의 안정성을 평가하기 위해 5세대에 걸친 Southern blot 분석 자료를 검토한 결과, 5세대에 걸쳐 도입 DNA가 유지됨이 확인되었다.
- GHB811 면화의 5세대에 대한 분리비 자료를 검토한 결과, 멘델의 법칙에 따라 분리 비율이 관찰되었으며 면화 게놈 내 염색체로 삽입되었음이 확인되었다.

나) 복수 세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- 복수세대에서 HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질의 발현량을 확인하기 위해 3세대(T4, T5, BC2F4)로부터 분리된 잎 및 면실을 이용하여 ELISA 분석을 수행하였다.
- HPPD W336 단백질의 발현량은 잎에서 367.05~497.82μg/g DW, 면실에서 30.43~55.69μg/g DW이었고,
- 2mEPSPS 단백질의 발현량은 잎에서 1012.45~1604.85μg/g DW, 면실에서 140.88~182.17μg/g DW이었다.

나. 유전자산물에 관한 정보

1) 유전자산물의 화학적 성질

- HPPD W336 단백질
 - HPPD W336 단백질은 358개 아미노산으로 구성되어 있으며, 분자량은 42.5kDa이다.
- 2mEPSPS 단백질
 - 2mEPSPS 단백질은 445개 아미노산으로 구성되어 있으며, 분자량은 47kDa이다.

2) 유전자산물의 기능

- HPPD W336 단백질
 - HPPD W336 단백질은 아이소자플루톨 제조제에 대한 내성을 가진 형태의 HPPD 효소를 제작하기 위해 *Pseudomonas fluorescens*로부터 유래된 native HPPD 단백질의 336번째 아미노산인 글리신을 트립토판으로 치환하였다.
 - HPPD 단백질의 반응 산물에는 광합성 운송 사슬 및 항산화체계에 필수적인 토코페롤, tocotrienols(비타민E) 및 플라스토퀴논(plastoquinone)의 방향성 전구체인 homogentisate가 있으며 세 번째 분자를 산화시키기 위해 α -케토산과 산소분자를 이용하여 기질을 산화시키며, 아이소자플루톨과 같은 benzoylisoxazoles 계열 제조제 및 설코트리온, 메조트리온과 같은 β -트리케톤에 의해 억제된다. HPPD 효소의 저해는 카로티노이드 생합성 경로의 저해로 이어지며, 이로 인해 광합성이 불안정해지고 잎의 백화 현상이 일어나 식물체가 고사하게 된다.
- 2mEPSPS 단백질
 - 글리포세이트가 EPSPS 효소를 저해함으로써 식물체가 고사하게 되는데, 2개의 점 돌연변이로 변형된 EPSPS(2mEPSPS)는 글리포세이트와 낮은 결합력을 가지고 있으므로, 글리포세이트의 존재 하에서도 충분한 효소 활성을 가질 수 있도록 하여 글리포세이트 제조제에 대한 내성을 부여한다.
 - 식물, 균류 및 미생물에서 방향족 아미노산과 다른 방향족 화합물의 생합성을 책임지는 shikimate pathway에서 shikimate-3-phosphate(S3P)와 phosphoenolpyruvate(PEP)를 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate로 축합시키는 반응을 촉매하는 효소이다.

3) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

- 아미노산서열 분석 결과, GH811 면화 유래 HPPD W336 단백질 및 2mEPSPS 단백질과 *E.coli*에서 발현된 HPPD W336 단백질 및 2mEPSPS 단백질의 아미노산 서열은 동일하였으며, 모두 당화반응은 일어나지 않아 번역 후 변이가 일어나지 않음이 확인되었다.

4) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- *E. coli* 생산 HPPD W336 단백질 및 2mEPSPS 단백질과 GHB811에서 생산된 단백질의 동등성은 Western blot, 당화분석, N-말단 분석, LC MS/MS 질량 분석을 통하여 확인하였다. SDS-PAGE 분석결과 두 단백질의 분자량은 각각 40.3kDa 및 47.4kDa로 확인되었고, 특히 항체에 면역반응성이 확인되었으며, 당화분석결과 두 단백질 모두 당화가 일어나지 않은 것이 확인 되었다. N-말단과 C-말단의 아미노산 서열을 비교한 결과에서도 두 단백질이 동등함이 확인 되었다. LC MS/MS에 의해 미생물 및 식물체 유래 단백질의 아미노산 서열이 동등함이 확인되었다.

5) 새로운 특성의 표현형

- 유전자변형 면화 GHB811은 HPPD W336 단백질의 발현으로 인한 아이소자플루톨 제조제 내성 및 2mEPSPS 단백질의 발현으로 인한 글리포세이트 제조제 내성을 나타낸다.

6) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- 미국 포장시험지 3곳에서 재배된 GHB811 면화의 HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질 발현량을 ELISA 분석을 통해 측정하였다.
- HPPD W336 단백질 발현량은 봉오리 발생 생장 단계 앞에서 평균 956.75 ug/g DW으로 가장 많이 발현 되었고, 4~6 엽기 단계의 뿌리 샘플에서 평균 25.42 ug/g DW으로 가장 낮은 수준으로 발현되었다.
- 2mEPSPS 단백질의 발현량은 봉오리 발생 생장 단계 앞에서 1269.39 ug/g DW으로 가장 많이 발현되었으며, 성숙단계의 면실에서 150.88 ug/g DW으로 가장 낮은 수준으로 발현되었다.

다. 독성

1) 유전자산물이 단백질인 경우

가) 발현단백질의 안전한 식경험의 유무

- HPPD 단백질은 포유류를 포함한 동물, 식물, 세균 곰팡이 등 자연상 모든 계에 흔히 존재한다. 특히, 당근, 돼지 및 소와 같이 식품으로 섭취되는 생물에 서의 HPPD 단백질 특성 또한 확인되었다.
- EPSPS 효소는 자연계에 흔히 존재하며, 식물·미생물 유래의 식품 및 사료에도 존재한다. 2mEPSPS 단백질은 옥수수로부터 유래하였다.

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

- NCBI non-redundant 단백질 데이터베이스(ver. 2016.0206, 2016) 및 바이엘

2016 독소 데이터베이스(ver.16.1, 2016)에서 FASTA 알고리즘(ver. 35.04, Jan. 15, 2009)을 이용하여 기지의 독소 및 항영양소와의 아미노산 서열을 비교분석한 결과, HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질과 유사성이 있는 서열은 검출되지 않았다.

다) 발현단백질의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 인공 위·장액에서의 안정성
 - 미생물 유래 HPPD W336, 2mEPSPS 단백질의 인공위액 및 장액에서의 소화성에 대해 SDS-PAGE 및 western blot 분석을 통해 확인한 결과, 인공 위액과 인공장액 모두에서 30초 이내에 빠르게 분해되는 것이 확인되었다.
- 열 안정성
 - 미생물 유래 HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질의 열 안정성을 확인하기 위해 SDS-PAGE와 Western blot 분석을 한 결과, HPPD W336 단백질은 90℃에서 60분까지 처리하여도 분해되지 않았다. 2mEPSPS 단백질은 55℃ 이상의 열처리에서 단백질 분해가 일어나기 시작하여 일부 기능활성이 손실되었다.

라) 발현단백질의 단회투여독성

- 미생물 유래 HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질을 이용하여 단회투여 독성을 평가하였다.
- C57Bl/67 마우스(암, 수 각6마리)를 대상으로 HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질을 각각 2,000mg/kg bw 용량으로 투여하고 15일 동안 관찰한 결과, HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질 모두 폐사, 임상적 이상 징후, 개체중량 및 사료 소비량 및 부검 시 육안검사 모두에서 어떤 이상도 보이지 않았다.

라. 알레르기성

1) 유전자산물이 알레르겐으로 알려져 있는지 여부

- HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질은 현재까지 알레르기 단백질의 근원으로 보고된 바가 없다.

2) 유전자산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질은 인공위장액에서 모두 30초 이내에 빠르게 분해되었다. HPPD W336 단백질은 90℃에서 60분까지 처리하여도 분해되지 않았고, 0℃에서 60분까지 처리하여도 분해되지 않았다. 2mEPSPS 단백질은 55℃ 이상의 열처리에서 단백질 분해가 일어나기 시작하여 일부 기능활성이 손실되었다.

3) 유전자산물 중 이미 알려져 있는 알레르겐과의 상동성

- HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질 아미노산 서열과 이미 알려진 알레르겐과의 아미노산 서열 상동성을 확인하기 위해 AOL 데이터베이스(ver 16, Jan. 26, 2016)를 이용하여 FASTA(ver. 35.04, Jan. 15, 2009) 및 SeqMatchAll(ver 6.3.1, July 2010) 검색 결과, 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

- 유전자변형 면화 GHB811의 섭취 부위인 면실에서 측정한 HPPD W336 함량은 생중량 기준 평균 23.82 ug/g, 2mEPSPS 함량은 132.94 ug/g로 측정되었다.
- 국민건강영양조사 자료에는 면실과 관련한 섭취량이 제시되어 있지 않으므로, 식품수급표(2015)의 '기타 유지작물' 섭취량을 기반으로 HPPD W336 단백질 및 2mEPSPS 단백질에 대한 식이 노출량을 추정하였다.
- 국내에 소비된 모든 기타 유지작물이 모두 GHB811 면화로부터 확보된 면실이라고 가정할 때, GHB811 면화에 대한 1일 섭취량은 인당 1.60g으로 산출된다. 이러한 1일 섭취량에 기반하여 추정한 HPPD W336 단백질과 2mEPSPS 단백질의 1일 섭취량은 인당 각각 38.1ug 및 213ug이다. 이를 국민 건강영양조사에서 제시된 한국인의 1일 평균 단백질 섭취량 71.8±0.8g을 이용하여 1일 단백질섭취량 중 HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질 섭취량이 차지하고 있는 비율을 계산한 결과 각각 0.000053% 및 0.000297% 수준인 것으로 확인되었다. 또한 식품수급표에서 제시된 1일 평균 단백질 섭취량 106.5g을 이용하여 1일 단백질섭취량 중 HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질 섭취량이 차지하고 있는 비율을 계산한 결과 각각 0.000035% 및 0.0002% 수준인 것으로 확인되었다.
- 해당 섭취량은 GHB811 면화 단백질 발현량의 최대치를 적용하여 계산한 값이므로, 계산된 비율은 실제 면실 섭취 비율을 고려할 때 극히 낮은 수준으로 판단된다.

마. 숙주와의 차이

- 2014년과 2015년 미국의 8개 지역에서 난괴법에 따라 재배한 GHB811, 대조군 및 7개의 상업용 참조군의 면실을 수확하여 성분 분석을 실시하였다.
- 통계방법으로는 분산분석(ANOVA)를 사용하였고, 분석값의 1/3 이상이 정량 한계 이하로 검출될 경우 통계분석에서 제외하였다. 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 자료의 범위와 비교하였다.

1) 주요영양성분

① 일반성분

- 수분, 회분, 탄수화물, 조지방, 산성세제불용성섬유(ADF) 및 총 식용섬유에서 통계적 유의차가 나타나지 않았다. 조단백질, 중성세제불용성섬유(NDF)은 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 허용범위 또는 문헌범위 내에 포함되어 생물학적 유의차는 없는 것으로 확인되었다.

② 아미노산

- 분석한 아미노산 중 시스틴, 메티오닌에서 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 허용범위 또는 문헌범위 내에 포함되어 생물학적 유의차는 없는 것으로 확인되었다.

③ 지방산

- 분석한 지방산 중 팔미톨레산, 스테아르산 및 아라키드산에서 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 허용범위 또는 문헌범위 내에 포함되어 생물학적 유의차는 없는 것으로 확인되었다.

2) 미량영양성분

① 무기질

- 분석한 무기질(9개) 중 통계적으로 유의적인 차이를 보이는 항목은 없었다.

② 비타민

- 분석한 비타민(6개) 성분 중 알파-토코페롤에서 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 허용범위 또는 문헌범위 내에 포함되어 생물학적 유의차는 없는 것으로 확인되었다.

3) 내재성독소/항영양소

- 총 고시폴, 유리고시폴 및 디하이드로스테르쿨린산에서 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 허용범위 또는 문헌범위 내에 포함되어 생물학적 유의차는 없는 것으로 확인되었다.

4) 알레르기 유발성분

- 면화는 주된 알레르기 유발 식품으로 알려져 있지 않다.

5) 삽입된 유전자산물의 대사산물

- 유전자변형 면화 GHB811과 비유전자변형 면화의 영양성분 분석 결과 관행 면화와 비교하여 영양성분에 생물학적으로 유의한 차이가 나타나지 않았으며, 삽입된 유전자에 의해 HPPD W336 및 2mEPSPS 단백질이 발현되는 점을 제외하면 GHB811 면화에서 유래한 식품의 성분에 의도하지 않은 변화는 없는 것으로 판단된다.

6) 영양성

- 육계를 이용하여 유전자변형 면화 GHB811가 10% 포함된 사료를 섭취시킨 결과, 폐사율, 체중증가, 사료전환 효율, 조직 등 중량 등에 특이적 영향은 관찰되지 않았다.

바. 유전자산물에 대사경로에 미치는 영향

- HPPD W336 단백질은 아이소자플루톨에 대한 내성을 제외하고는 내재 HPPD와 유사한 대사적 효과를 나타낸다. 아이소자플루톨은 HPPD 효소를 저해하며, 식물체내에서 카로티노이드 생합성 경로를 차단하여 광합성이 제대로 이루어지지 않아 잎의 백화 현상을 초래하는데, HPPD W336을 발현하는 경우 생합성이 정상적으로 이루어져 식물체는 영향을 받지 않는다.
- 옥수수 유래 *epsps*에서 변형된 *2mepsps*가 발현하는 2mEPSPS 단백질은 글리포세이트에 대한 내성을 제외하고는 식물 내재 EPSPS와 유사한 대사적 효과를 나타낸다. Glyphosate는 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase(EPSPS) 효소를 저해하며, 식물과 유기체 내 방향족 아미노산 생합성을 차단하는데, 2mEPSPS를 발현하는 경우 식물체가 필요한 방향족 아미노산을 충족시켜주기 때문에 식물체는 영향을 받지 않는다.

사. 식품용으로서의 저장 및 가공에 관한 설명

- GHB811 면화는 현재 상업화된 면화 품종들과 동일한 용도로 사용될 예정이다. 따라서 GHB811 면화의 식품으로서의 저장 및 가공 방법은 기존의 상업용 면화에 적용되는 일반적인 방법과 같다.

아. 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용현황

- 미국(2018), 호주/뉴질랜드(2018), 캐나다(2018), 아르헨티나(2018), 일본(2018), 대만(2019)에서 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 면화와 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

7. 기타

- 가. 「유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률」에 의하여 유전자변형 면화 GHB811의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성은 농촌진흥청, 환경부, 국립수산물과학원에서 심사 완료하였다.
- 나. 유전자변형 면화 GHB811의 정성 및 정량 시험법에 대한 검토가 완료되었다.
- 다. 유전자변형 면화 GHB811의 안전성 심사결과 보고서(안)을 식품의약품안전처 홈페이지 및 정책메일서비스(PMS)에 2019년 10월 10일~ 11월 8일까지 공개하여 의견을 수렴한 결과, 접수된 의견은 없었다.

붙임 : 영양성분 분석 자료

[영양성분 분석 자료]

1. 주요영양성분

Parameter	Non-GM Counterpart (Entry A)	GHB811 Treated (Entry K)	Non-GM Reference Varieties Range (Entries B-G,N)	Tolerance Interval Non-GM Reference Varieties (Entries B-G,N) ^b	Comparison t-test A vs K ^c
	Mean ± SD	Mean ± SD	(Min-Max)	(Lower-Upper)	p-value
Moisture (% FW)	10.8 ± 1.9	11.5 ± 2.7	8.26 - 23.7	2.51 - 20.2	0.177
Ash (% DW)	3.80 ± 0.29	3.79 ± 0.42	3.07 - 5.16	2.66 - 4.99	0.919
Carbohydrates (% DW)	52.3 ± 2.8	53.4 ± 2.6	46.3 - 61.0	46.5 - 63.0	0.084
Crude Fat (% DW)	20.5 ± 2.8	20.5 ± 2.2	13.7 - 24.4	13.6 - 25.6	0.939
Crude Protein (% DW)	23.3 ± 2.6	22.3 ± 2.6	15.8 - 28.7	14.9 - 28.8	0.008
Acid Detergent Fiber (% DW)	43.0 ± 5.6	43.3 ± 3.7	36.6 - 54.1	33.1 - 54.2	0.721
Neutral Detergent Fiber (% DW)	45.6 ± 3.2	46.9 ± 3.0	41.2 - 58.6	39.2 - 57.7	0.048
Total Dietary Fiber (% DW)	43.7 ± 8.8	47.6 ± 6.6	25.2 - 77.0	30.3 - 64.9	0.058

^a Composition samples were derived from eight field trials conducted in the USA in 2014 and 2015.

^b 99% Tolerance Interval: Range of reference lines based on tolerance intervals specified to contain 99% of the population with 95% confidence.

^c t-Test p-value: Pairwise comparison to the non-GM counterpart (Entry A).

2. 아미노산

Parameter	Non-GM Counterpart (Entry A)	GHB811 Treated (Entry K)	Non-GM Reference Varieties Range (Entries B-G,N)	Tolerance Interval Non-GM Reference Varieties (Entries B-G,N) ^b	Comparison t-test A vs K ^c
	Mean ± SD	Mean ± SD	(Min-Max)	(Lower-Upper)	p-value
Alanine	0.910 ± 0.088	0.928 ± 0.088	0.634 - 1.07	0.607 - 1.14	0.265
Arginine	2.43 ± 0.39	2.44 ± 0.35	1.45 - 3.18	1.33 - 3.29	0.969
Aspartic Acid	2.10 ± 0.30	2.12 ± 0.31	1.32 - 2.58	1.22 - 2.78	0.650
Cystine	0.439 ± 0.077	0.408 ± 0.067	0.271 - 0.574	0.224 - 0.607	0.047
Glutamic Acid	4.53 ± 0.63	4.55 ± 0.64	2.97 - 5.70	2.73 - 6.06	0.886
Glycine	1.013 ± 0.103	1.009 ± 0.106	0.667 - 1.26	0.650 - 1.27	0.864
Histidine	0.680 ± 0.083	0.676 ± 0.074	0.455 - 0.969	0.417 - 0.887	0.824
Isoleucine	0.743 ± 0.082	0.744 ± 0.075	0.518 - 0.866	0.490 - 0.935	0.951
Leucine	1.38 ± 0.15	1.39 ± 0.13	0.942 - 1.64	0.910 - 1.74	0.700
Lysine	1.05 ± 0.10	1.07 ± 0.12	0.746 - 1.30	0.693 - 1.35	0.461
Methionine	0.319 ± 0.047	0.297 ± 0.047	0.188 - 0.384	0.191 - 0.412	0.047
Phenylalanine	1.29 ± 0.17	1.29 ± 0.15	0.801 - 1.57	0.754 - 1.68	0.953
Proline	0.877 ± 0.101	0.884 ± 0.089	0.595 - 1.08	0.569 - 1.12	0.665
Serine	1.045 ± 0.112	1.035 ± 0.140	0.707 - 1.66	0.626 - 1.39	0.723
Threonine	0.777 ± 0.071	0.776 ± 0.074	0.556 - 0.894	0.537 - 0.954	0.928
Tryptophan	0.241 ± 0.034	0.246 ± 0.034	0.177 - 0.293	0.156 - 0.310	0.460
Tyrosine	0.499 ± 0.069	0.487 ± 0.068	0.176 - 0.608	0.250 - 0.688	0.443
Valine	1.036 ± 0.121	1.041 ± 0.111	0.720 - 1.24	0.671 - 1.32	0.808

^a Composition samples were derived from eight field trials conducted in the USA in 2014 and 2015.

^b 99% Tolerance Interval: Range of reference lines based on tolerance intervals specified to contain 99% of the population with 95% confidence.

^c t-Test p-value: Pairwise comparison to the non-GM counterpart (Entry A).

3. 지방산

Parameter	Non-GM Counterpart (Entry A)	GHB811 Treated (Entry K)	Non-GM Reference Varieties Range (Entries B-G,N)	Tolerance Interval Non-GM Reference Varieties (Entries B-G,N) ^b	Comparison t-test A vs K ^c
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	(Min-Max)	(Lower-Upper)	p-value
C12:0 Lauric Acid	<LOQ	<LOQ	<LOQ - 0.0377	NA	NA
C14:0 Myristic Acid	0.651 $\pm$ 0.150	0.665 $\pm$ 0.138	0.470 - 1.17	0.217 - 1.11	0.291
C16:0 Palmitic Acid	23.2 $\pm$ 1.8	23.4 $\pm$ 1.6	19.7 - 27.6	17.7 - 27.7	0.342
C16:1 Palmitoleic Acid	0.486 $\pm$ 0.049	0.525 $\pm$ 0.043	0.392 - 0.641	0.325 - 0.618	<.001
C17:0 Heptadecanoic Acid	0.0820 $\pm$ 0.0096	0.0808 $\pm$ 0.0094	0.0653 - 0.1180	0.0517 - 0.1206	0.569
C17:1 Heptadecenoic Acid	0.0436 $\pm$ 0.0121	0.0458 $\pm$ 0.0095	0.0175 - 0.0821	0.0050 - 0.0937	0.376
C18:0 Stearic Acid	2.37 $\pm$ 0.16	2.26 $\pm$ 0.15	2.00 - 2.97	1.75 - 3.07	<.001
C18:1 Oleic Acid	14.2 $\pm$ 1.0	14.2 $\pm$ 1.0	13.4 - 20.8	9.2 - 21.3	0.956
C18:2 Linoleic Acid	57.3 $\pm$ 2.9	57.3 $\pm$ 2.8	46.3 - 60.7	45.2 - 67.8	0.877
C18:3 Linolenic Acid	0.229 $\pm$ 0.121	0.210 $\pm$ 0.109	0.0301 - 0.547	0 - 0.562	0.481
C18:4 Stearidonic Acid	<LOQ - 0.0653	<LOQ - 0.0509	<LOQ - 0.0832	NA	NA
C20:0 Arachidic Acid	0.254 $\pm$ 0.032	0.244 $\pm$ 0.033	0.196 - 0.376	0.117 - 0.388	0.036
C20:1 Eicosenoic Acid	0.0666 $\pm$ 0.0154	0.0663 $\pm$ 0.0136	0.0396 - 0.0980	0.0289 - 0.1129	0.931
C20:2 Eicosadienoic Acid	<LOQ	<LOQ - 0.0451	<LOQ	NA	NA
C20:5 Eicosapentaenoic Acid	<LOQ	<LOQ	<LOQ - 0.0427	NA	NA
C22:0 Behenic Acid	0.148 $\pm$ 0.021	0.148 $\pm$ 0.023	0.110 - 0.212	0.074 - 0.224	0.903
C22:5 N3 Docosapentaenoic Acid	<LOQ - 0.0767	<LOQ - 0.0712	<LOQ - 0.104	NA	NA
C22:5 N6 Docosapentaenoic Acid	<LOQ - 0.22	<LOQ - 0.185	<LOQ - 0.277	NA	NA
C24:0 Lignoceric Acid	0.117 $\pm$ 0.054	0.109 $\pm$ 0.071	0.0295 - 0.285	0 - 0.285	0.603

^a Composition samples were derived from eight field trials conducted in the USA in 2014 and 2015.

^b 99% Tolerance Interval: Range of reference lines based on tolerance intervals specified to contain 99% of the population with 95% confidence.

^c t-Test p-value: Pairwise comparison to the non-GM counterpart (Entry A).

NA=Not Applicable because more than 1/3 of the values are <LOQ. Minimum and maximum are reported instead of mean and standard deviation.

4. 비타민 및 무기질 등

Parameter	Non-GM Counterpart (Entry A)	GHB811 Treated (Entry K)	Non-GM Reference Varieties Range (Entries B-G,N)	Tolerance Interval Non-GM Reference Varieties (Entries B-G,N) ^b	Comparison t-test A vs K ^c
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	(Min-Max)	(Lower-Upper)	p-value
Calcium	983 $\pm$ 288	1039 $\pm$ 270	702 - 1960	456 - 1930	0.263
Copper	6.19 $\pm$ 2.35	6.15 $\pm$ 2.27	1.99 - 11.5	0 - 13.3	0.835
Iron	37.2 $\pm$ 6.7	37.1 $\pm$ 6.8	22.1 - 60.1	13.2 - 60.0	0.937
Magnesium	4013 $\pm$ 489	3917 $\pm$ 355	2848 - 5328	2380 - 5438	0.226
Manganese	12.9 $\pm$ 2.5	12.4 $\pm$ 2.2	9.94 - 25.2	5.35 - 23.4	0.077
Phosphorus	6613 $\pm$ 1298	6449 $\pm$ 1277	3888 - 9333	3137 - 10251	0.381
Potassium	12287 $\pm$ 1158	12193 $\pm$ 943	10263 - 15727	9269 - 15027	0.684
Sodium	30.3 $\pm$ 15.5	32.5 $\pm$ 24.9	10.0 - 148	0 - 74.9	0.626
Zinc	33.7 $\pm$ 5.4	33.2 $\pm$ 5.8	21.5 - 49.6	17.2 - 50.3	0.553
Alpha Tocopherol	121.6 $\pm$ 19.1	109.1 $\pm$ 15.0	49.8 - 141	37.0 - 157	0.001

^a Composition samples were derived from eight field trials conducted in the USA in 2014 and 2015.

^b 99% Tolerance Interval: Range of reference lines based on tolerance intervals specified to contain 99% of the population with 95% confidence.

^c t-Test p-value: Pairwise comparison to the non-GM counterpart (Entry A).

Parameter	Non-GM Counterpart (Entry A)	GHB811 Not Treated (Entry J)	GHB811 Treated (Entry K)	Non-GM Reference Varieties Range (Entries B-G,N)	Tolerance Interval Non-GM Reference Varieties (Entries B-G,N) ^b	Comparison t-test A vs J ^c	Comparison t-test A vs K ^c
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	(Min-Max)	(Lower-Upper)	p-value	p-value
Alpha tocopherol (mg/kg DW)	121.6 $\pm$ 19.1	109.8 $\pm$ 18.1	109.1 $\pm$ 15.0	49.8 - 141	37.0 - 157	0.002	0.001
Gamma tocopherol (mg/kg DW)	108.6 $\pm$ 27.7	114.0 $\pm$ 27.7	117.6 $\pm$ 29.0	34.2 - 167	16.2 - 185	0.359	0.133
Total tocopherol (mg/kg DW)	230 $\pm$ 35	224 $\pm$ 35	227 $\pm$ 34	130 - 260	107 - 288	0.298	0.585
Alpha tocotrienol (mg/kg DW)	<LOQ - 6.73	<LOQ - 4.81	<LOQ - 5.29	<LOQ - 4.37	NA	NA	NA
Total tocotrienol (mg/kg DW)	<LOQ - 6.73	<LOQ - 4.81	<LOQ - 5.29	<LOQ - 4.37	NA	NA	NA
Vitamin A (mg/kg DW)	0.248 $\pm$ 0.064	0.237 $\pm$ 0.063	0.255 $\pm$ 0.079	0.0992 - 0.0361	0.0520 - 0.368	0.432	0.641
Vitamin K1 (mg/kg DW)	0.1529 $\pm$ 0.0567	0.1606 $\pm$ 0.0626	0.1680 $\pm$ 0.0678	0.0621 - 0.230	0.0189 - 0.2341	0.404	0.109
Homogentisic Acid (mg/kg DW)	1.223 $\pm$ 0.484	1.294 $\pm$ 0.411	1.164 $\pm$ 0.345	0.331 - 2.01	0.122 - 2.12	0.365	0.459

^a Composition samples were derived from eight field trials conducted in the USA in 2014 and 2015.

^b 99% Tolerance Interval: Range of reference lines based on tolerance intervals specified to contain 99% of the population with 95% confidence.

^c t-Test p-value: Pairwise comparison to the non-GM counterpart (Entry A).

NA=Not Applicable because more than 1/3 of the values are <LOQ. Minimum and maximum are reported instead of mean and standard deviation.

6. 내재성독소 및 항영양소

Parameter	Non-GM Counterpart (Entry A)	GHB811 Treated (Entry K)	Non-GM Reference Varieties Range (Entries B-G,N)	Tolerance Interval Non-GM Reference Varieties (Entries B-G,N) ^b	Comparison t-test A vs K ^c
	Mean ± SD	Mean ± SD	(Min-Max)	(Lower-Upper)	p-value
Free Gossypol (% DW)	0.591 ± 0.145	0.526 ± 0.118	0.273 - 0.941	0.106 - 1.15	0.002
Total Gossypol (% DW)	0.804 ± 0.167	0.735 ± 0.145	0.346 - 1.34	0.153 - 1.53	0.033
Cyclopropenoic Fatty Acids (% Total Fatty Acids)					
Dihydrosterculic Acid	0.198 ± 0.052	0.169 ± 0.048	0.126 - 0.407	0.0972 - 0.438	0.021
Malvalic Acid	0.380 ± 0.176	0.355 ± 0.172	0.014 - 0.983	0 - 1.062	0.533
Sterculic Acid	0.146 ± 0.066	0.127 ± 0.062	0.014 - 0.366	0 - 0.423	0.236

^a Composition samples were derived from eight field trials conducted in the USA in 2014 and 2015.

^b 99% Tolerance Interval: Range of reference lines based on tolerance intervals specified to contain 99% of the population with 95% confidence.

^c t-Test p-value: Pairwise comparison to the non-GM counterpart (Entry A).

NA=Not Applicable because more than 1/3 of the values are <LOQ. Minimum and maximum are reported instead of mean and standard deviation