

유전자재조합 콩 DP-305423-1
안전성평가자료 심사결과 보고서

2010. 12.

식품의약품안전청
유전자재조합식품등 안전성평가자료 심사위원회

<차례>

1. 요약	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	4
(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)	4
(2) 안전한 식경험의 유무	4
(3) 공여체 및 근연종의 특성, 항영양성, 알레르기성(미생물의 경우 병원성 및 기지의 병 원체와의 관련성)	4
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	12
(3) 독성	13
(4) 알레르기성	15
(5) 숙주와의 차이	16
(6) 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향(숙주가 함유한 고유의 성분을 기질로 하여 반 응할 가능성)	18
(7) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황	19
6. 심사신청 자료 검토 결과	19
7. 기타	19

유전자재조합 콩 DP-305423-1 안전성 평가자료 심사결과 보고서

1. 요약

(유)듀폰은 유전자재조합 콩 DP-305423-1을 식품의약품안전청에 안전성 심사를 신청하였고, "유전자재조합식품등 안전성평가자료 심사위원회"는 「유전자재조합식품의 안전성평가 심사 등에 관한 규정」에 따라 안전성 심사를 수행하였다.

DP-305423-1은 콩 유래 *gm-fad2-1* 유전자와 *gm-hra* 유전자를 입자총법으로 콩에 도입하여 만들어지고, 도입된 유전자에 의해 *FDA2-1* 유전자 발현이 억제되며, GM-HRA 단백질이 생성된다. DP-305423-1은 기존 콩보다 올레산(oleic acid) 생성을 증가시키고 리놀레산(linoleic acid) 생성을 감소시키며, 농업용 제초제인 아세트락테이트 합성효소 저해제(acetolactate synthase inhibitor)에 대해 내성을 가진다.

DP-305423-1에는 완전한 *gm-fad2-1* 유전자와 *gm-hra* 유전자가 각각 한개 씩 도입되었으며 도입된 유전자가 3 세대에 걸쳐 안정적으로 유전되는 것으로 나타났다.

새로 생성된 GM-HRA 단백질에 대해 마우스(mouse)에서 단회투여 독성을 평가한 결과 독성이 없는 것으로 나타났으며, DP-305423-1에 대해 랫드(rat)에서 90일 반복투여독성실험을 실시한 결과 독성 징후가 나타나지 않았다. DP-305423-1의 알레르기성을 평가하기 위해 콩 단백질 추출물과 콩 알레르기 환자들의 혈청으로 시험한 결과, 일반 콩에 비해 알레르기성이 증가하지 않는 것으로 나타났다.

DP-305423-1과 일반 콩의 주요영양성분, 미량영양성분, 항영양소 등의 함량 차이를 비교한 결과 올레산, 헵타데칸산(heptadecanoic acid), 헵타데센산(heptadecenoic acid)이 증가하고, 리놀레산이 감소하였으나 영양성 및 독성에 문제가 없는 것으로 나타났으며, 기타 다른 성분들은 생물학적으로 차이를 보이지 않았다. DP-305423-1의 대두박(약 23%), 대두피(1%) 및 대두유(0.5%)를 브로일러(Broiler)에 42일 동안 계속해서 먹었을 때에도 일반 콩과 비교하여 영양성에 차이가 없는 것으로 나타났다.

결론적으로, DP-305423-1은 지금까지 식품으로 섭취해온 콩과 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

2. 심사경위

- (유) 듀폰은 올레산(oleic acid) 함량이 증가하고, 리놀레산(linoleic acid) 함량이 감소하며, 농업용 제초제인 아세트락테이트 합성효소 저해제(acetolactate synthase inhibitor)에 대하여 내성을 갖는 콩 DP-305423-1에 대해 식품위생법 제18조에 따른 안전성평가 심사를 받기 위하여 2008년 7월 21일 식품의약품안전청에 「유전자재조합식품의 안전성평가심사등에관한규정」(이하 '심사규정'이라고 함)에서 규정한 관련 자료를 첨부하여 심사 신청하였다.
- 이에 식품의약품안전청장은 본 품목이 심사규정에 따라 안전성 평가가 이루어졌는지 여부에 대하여 '유전자재조합식품등 안전성평가자료심사위원회'(이하 '심사위원회'라고 함)에 검토 의뢰하고,
- 심사위원회는 신청인이 제출한 자료에 근거하여 아래와 같이 심사규정에 따라 안전성평가가 이루어졌음을 확인하였다.

3. 심사경과

- 심사대상품목

대상품목	신청자	개발자	제외국의 안전성 승인 현황
유전자재조합 콩 DP-305423-1	(유)듀폰	Pioneer Hi-Bred International, Inc.	멕시코(2008), 미국(2009년), 캐나다(2009), 호주/뉴질랜드(2010), 일본(2010)

- 심사경과

- 2008년 7월 21일 안전성 평가자료 심사신청
- 2008년 8월 26일 1차 심사위원회 개최
- 2008년 10월 14일 2차 심사위원회 개최
- 2009년 9월 15일 3차 심사위원회 개최
- 2009년 11월 24일 4차 심사위원회 개최
- 2010년 2월 23일 5차 심사위원회 개최
- 2010년 8월 31일 6차 심사위원회 개최
- 2010년 9월 14일 7차 심사위원회 개최
- 2010년 11월 환경위해성 심사 완료(농촌진흥청, 국립수산물과학원, 국립환경과학원)
- 2010년 11월 8일 ~ 11월 30일 : 공개의견수렴
- 2010년 12월 21일 8차 심사위원회 개최

4. 심사방법

- 본 품목과 관련하여 심사 신청된 유전자재조합체가 심사규정의 적용대상인지를 검토하였고,
- 제출된 안전성 평가자료가 심사규정에서 요구하는 자료를 갖추었는지를 확인한 후 자료의 내용을 토대로 안전성 평가자료를 심사하였다.

5. 심사 신청 자료 검토

5-1. 심사 신청된 식품의 개요

- (유) 듀폰에서 심사 신청한 DP-305423-1 콩은 *gm-fad2-1* 유전자 및 *gm-hra* 유전자가 도입된 것으로 올레산 함량이 증가하고, 리놀레산 함량이 감소하며, 제조제인 아세토락테이트 합성효소 저해제에 내성을 나타낸다.

5-2. 식품으로서의 적합성 검토

- 본 품목과 관련하여 제출된 안전성 평가자료가 심사규정 제12조에서 요구하는 자료를 만족시키는지 여부를 검토하였으며,
- 자료의 내용을 토대로 다음과 같이 식품으로서의 안전성이 확보되어 있는 지를 심사하였다.

5-3 유전자재조합체의 안전성

가. 유전자재조합체의 개발목적 및 이용방법에 관한 자료

- 듀폰은 *fad2-1* 유전자 발현 억제제를 통해 올레산 함량이 증가하고, 리놀레산 함량이 감소하며, GM-HIRA 단백질 발현을 통해 제조제인 아세토락테이트 합성효소 저해제에 대해 내성을 나타내는 콩을 개발하였다.
- 재배방법 및 이용방법은 기존의 콩과 동일하다.

나. 숙주에 관한 자료

(1) 분류학적 특성(일반명, 계통분류 등)

- 종(Species) : *G. max* (L.) Merr.
- 속(Genus): *Glycine*
- 과(Family): *Leguminosae*
- 일반명(Common Name): 콩, 대두

(2) 재배 및 품종개량의 역사

- 역사적, 지리학적 증거에 의하면 콩은 동부 중국에서 기원전 17세기와 11세기 사이에 토착화 되었다(Hymowitz, 1970). 1900년 이전에 콩은 동양에서 식용 및 약용으로 사용되었으며 오늘날 콩은 상품화된 작물로 전 세계 35개국 이상에서 재배되고 있다(Williams, 2005).

(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 사람에게는 부작용을 일으킬 수 있는 알레르기 유발 단백질을 함유한다고 보고되었다(OECD, 2001).

(4) 안전한 식경험의 유무

- 콩이 가지고 있는 항영양성과 알레르기성에도 불구하고, 콩은 기원전 3,000년부터 식품으로 이용되었다. 두부, 식용유, 간장 등의 형태로 섭취되고 있어 안전한 식품으로서의 오랜 역사를 가지고 있다. 콩은 작물들 중에 선두의 위치를 차지하고 있으며, 단백질 농축물과 식물성 기름의 가장 중요한 원료가 되었다.

다. 공여체에 관한 자료

(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)

- 종(Species) : *G. max* (L.) Merr.
- 속(Genus): *Glycine*
- 과(Family): *Leguminosae*
- 일반명(Common Name): 콩, 대두

(2) 안전한 식경험의 유무

- 콩은 안전한 식품으로서의 긴 이용의 역사를 가지고 있다.

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

- 콩에는 알레르겐과 더불어 트립신 저해제(trypsin inhibitor), 렉틴(lectin), 라피노오스(raffinose), 스타키오스(stachyose) 및 피트산(phytic acid)과 같은 항영양소가 포함되어 있음이 잘 알려져 있다. 하지만, 인류는 오랜 식경험을 통해 이 성분들을 적절한 조리·가공 방법에 의해 관리해 왔으며, 그 결과 식

품으로서의 안전성이 확보될 수 있었다.

라. 유전자재조합에 대한 자료

(1) 형질전환에 관한 정보

(가) 형질전환방법

- 형질전환에 입자총법이 사용되었으며, *gm-fad2-1* 유전자 발현 카세트 및 *gm-hra* 유전자 발현 카세트가 포함된 직쇄상 DNA 절편인 PHP19340A 및 PHP17752A가 이용되었다. 직쇄상 DNA 절편인 PHP19340A 및 PHP17752A를 4:1 비율로 혼합한 후 숙주인 콩에 *gm-fad2-1* 유전자 및 *gm-hra* 유전자를 도입했다.

(나) 재조합에 사용된 벡터에 대한 정보

1) 기원

- DP-305423-1 콩 개발을 위해 숙주에 도입한 직쇄상 DNA 절편 PHP19340A 및 PHP17752A는 각각 플라스미드 PHP19340 및 PHP17752의 일부를 절단한 것이며, 플라스미드 PHP19340 및 PHP17752는 플라스미드 pSP72를 기본골격으로 제작되었다.

2) 숙주에서의 확인

- DP-305423-1 콩에는 4개 유전자 자리에 *gm-fad2-1* 유전자 카세트 및 *gm-hra* 유전자 카세트가 삽입되어 있는 것이 확인되었다.

3) 숙주에서의 기능

- *fad2-1* 유전자 발현이 억제 되어 올레산 함량이 증가하고 리놀레산 함량이 감소하며, GM-HRA를 발현하여 아세토락테이트 합성효소 저해제에 내성을 나타낸다.

(다) 중간숙주에 대한 정보

- 플라스미드 PHP19340 및 PHP17752은 *E. coli*에서 증식되었다.

(라) 전달성에 관한 정보

- 플라스미드 PHP19340 및 PHP17752은 숙주이외의 다른 생물체로 스스로 이동될 수 있는 전달성과 관련된 유전자를 포함하고 있지 않다.

(2) 도입 유전자에 대한 정보

(가) 구성 유전자의 특성

1) 선발표지유전자

- *gm-hra* 유전자는 콩(*G. max*) 유래 유전자를 변형한 유전자로 GM-HRA 단백질을 암호화하며 아세토락테이트 합성효소 저해제에 대한 내성을 부여한다.

2) 조절인자

① 프로모터 (promoter)

gm-fad2-1 유전자 발현 카세트에는 콩(*G. max*) 유래의 KTi3 프로모터를 이용했고, *gm-hra* 유전자 발현 카세트에는 콩(*G. max*) 유래의 SAMS 프로모터를 이용했다.

② 터미네이터 (terminator)

gm-fad2-1 유전자 발현 카세트에는 콩(*G. max*) 유래의 KTi3 터미네이터를 이용했고, *gm-hra* 유전자 발현 카세트에는 콩(*G. max*) 유래의 *gm-als* 터미네이터를 이용했다.

3) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

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

(나) 크기 및 명칭

- 2,924bp 길이인 직쇄상 DNA 절편인 PHP19340A와 4,512 bp 길이인 직쇄상 DNA 절편인 PHP17752A의 구성 DNA 요소, 크기, 유래 및 기능을 요약하면 다음 [표 1]과 같다.

표 1. 직쇄상 DNA 단편 PHP19340A 및 PHP17752A 구성 DNA

구성요소	크기(bp)	유래 및 기능
<i>gm-fad2-1</i> 유전자 발현 카세트(PHP19340A)		
KTi3 프로모터	2084	콩(<i>G. max</i>)의 'Kunitz trypsin inhibitor 3' 유전자 프로모터 영역 (Jofuku & Goldberg, 1989; Jofuku et al.,1989).
<i>gm-fad2-1</i>	597	콩 내재성 <i>fad2-1</i> 유전자의 399~995번 nucleotide 영역으로 구성된 DNA 절편. 콩 내재성 유전자 <i>fad2-1</i> 은 ω-6 desaturase를 코딩하는데, <i>gm-fad2-1</i> 유전자는 gene silencing을 유도하여 ω-6 desaturase 발현을 억제하기 위한 목적으로 도입되었음

KTi3 터미네이터	196	콩 'Kunitz trypsin inhibitor gene 3'에서 전사 정지에 관여하는 터미네이터 영역 (Jofuku & Goldberg, 1989; Jofuku et al., 1989).
gm-hra 유전자 발현 카세트(PHP17752A)		
SAMS 프로모터	645	콩(<i>G. max</i>) 유래 S-adenosyl-L-methionine synthetase (SAMS) 유전자의 전사개시를 위한 프로모터(Falco and Li, 2003).
SAMS 인트론	591	콩(<i>G. max</i>) 유래 SAMS 유전자의 5'-비번역 영역 내에 존재하는 인트론(Falco and Li, 2003).
<i>gm-hra</i>	1,971	콩(<i>G. max</i>) 유래 아세토락테이트 합성효소 유전자를 변형한 유전자이며, 콩 유래 아세토락테이트 합성효소와 비교하여 2개의 아미노산이 치환된 GM-HRA 단백질을 (분자량 71 kDa)을 코딩함.
<i>gm-als</i> 터미네이터	652	콩(<i>G. max</i>)의 acetolactate synthase 유전자 <i>als</i> 의 전사정지를 위한 터미네이터 영역 (Falco and Li, 2003).

(다) 완성된 벡터내의 유전자 염기서열의 위치 및 방향성

- 제한효소지도, 벡터 내에서의 유전자위치, 방향성이 그림 1, 그림 2와 같다.

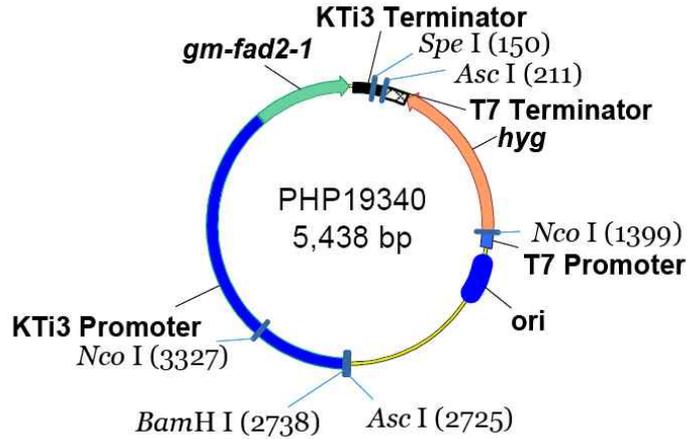


그림 1. 플라스미드 PHP19340 제한효소 절단 지도

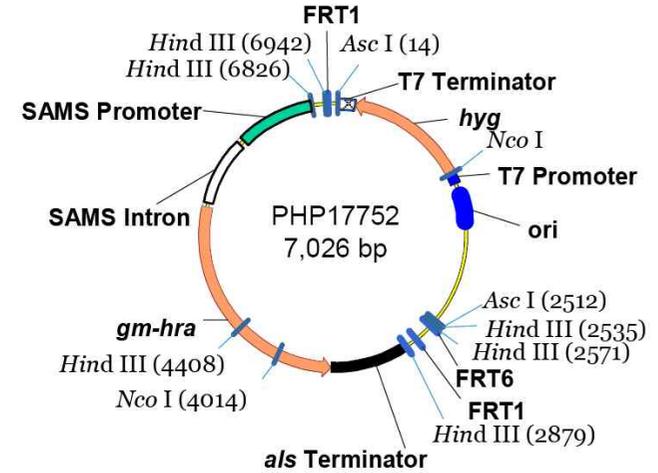


그림 2. 플라스미드 PHP17752 제한효소 절단 지도

(라) 구성 유전자의 기능

① *gm-fad2-1* 유전자

gm-fad2-1 유전자는 ω -6 desaturase를 코딩하는 콩 내재성 *fad2-1* 유전자의 399~995번 nucleotide 영역으로서, DP-305423-1 콩에서 gene silencing을 유도하여 콩 내재적 *fad2-1* 유전자 발현을 억제하여 ω -6 desaturase를 만들어내지 못하게 한다. 따라서 올레산 함량이 증가하고, 리놀레산 함량이 감소하는 것이다.

② *gm-hra* 유전자

GM-HRA 단백질은 아세토락테이트 합성효소 저해제의 영향을 받지 않으므로 해당 저해제가 존재하더라도 효소활성을 나타내서 분지 아미노산인 류신(Leucine), 발린(Valine) 및 이소류신(Isoleucine)이 합성될 수 있도록 하여, 제조제인 아세토락테이트 합성효소 저해제에 대한 내성을 식물체에 부여한다.

(마) 유해염기서열의 유무

- 공여체에서 받은 유전 요소들은 그 특성이 잘 알려져 있으며, 유해한 염기서열을 함유하고 있지 않았다.

(바) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현가능성

- DP-305423-1 삽입 DNA 영역의 5' 및 3' 말단과 콩 내재 유전자 사이 접

합부에 새로운 가상의 외래전사해독프레임(ORF)이 27개 있는 것으로 나타났다. 그러나 모두 전사 혹은 발현 되지 않을 것이라 판단되며, 혹시 발현 되더라도 이미 알려진 알레르겐 또는 독소의 아미노산 서열과의 상동성이 없음을 확인하였다.

(사) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입

- 삽입 DNA 영역 3[그림 5]에서 5' 말단에 연결된 495bp 길이의 플라스미드 backbone이 존재하였고, 외래전사해독프레임(ORF)이 8개 있는 것으로 나타났다. 그러나 모두 전사 혹은 발현 되지 않음을 확인하였으며, 혹시 발현 되더라도 이미 알려진 알레르겐 또는 독소의 아미노산 서열과의 상동성이 없음을 확인하였다.

마. 유전자재조합체의 특성에 관한 자료

(1) 유전자재조합체 내 도입된 유전자에 관한 정보

(가) 유전자재조합체의 게놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

① *gm-fad2-1* 유전자

콩 (*G. max*)의 유전자를 기원으로 하는 *gm-fad2-1* 유전자 도입에 따른 gene silencing에 의하여 콩 내재성 *fad2-1* 유전자 발현수준이 억제되고, 결과적으로 올레산 함량이 증가하고, 리놀레산 함량이 감소하는 것이다.

② *gm-hra* 유전자

콩 (*G. max*)의 유전자를 기원으로 하는 *gm-hra* 유전자는 656개의 아미노산으로 구성되는 분자량 71 kDa인 GM-HRA 단백질을 코딩한다.

(나) 삽입부위의 수

- DP-305423-1 콩에는 4개 유전자 자리에 *gm-fad2-1* 유전자 카세트가 4개 유전자 자리에 삽입되었으며, *gm-hra* 유전자 카세트는 1개 유전자 자리에 삽입되었다.

(다) 각 삽입부위의 삽입유전자의 구성

1) 복제수, 염기서열(주변염기서열 포함)

- 삽입 유전자의 복제수 : Southern blot 분석 결과 DP-305423-1 콩의 게놈에는 완전한 *gm-fad2-1* 유전자 발현 카세트(PHP19340A) 1개와 *gm-hra* 유전자 발현 카세트(PHP17752A) 1개가 도입되었으며, 불완전한 *gm-fad2-1* 유전자 발현 카세트(PHP19340A)가 7개 도입되었다.

- 아래 [그림 3], [그림 4], [그림 5], [그림 6]은 DP-305423-1 안에 플라스미드 삽입 유전자의 전체적인 모식을 나타내고 있다.
- '도입 DNA 영역 1'은 3' 말단에서 27 bp가 결손된 KTi3 터미네이터를 가지는 PHP19340A 절편 1개, 완전한 *gm-fad2-1* 유전자 발현 카세트 (PHP19340A) 1개, 완전한 *gm-hra* 유전자 발현 카세트 (PHP17752A) 1개, 3' 말단 558 bp가 결손된 *gm-fad2-1*를 포함한 PHP19340A 절편 1개, 5' 말단에서 1839 bp가 결손된 KTi3 프로모터 및 3'말단에 411 bp가 결손된 *gm-fad2-1*를 포함한 PHP19340A 절편 1개로 구성된 것으로 나타났다.
- '도입 DNA 영역 2'는 5' 말단에서 573 bp가 결손된 KTi3 프로모터를 가지는 PHP19340A 절편으로 구성된 것으로 나타났다.그러나 의도하지 않은 단백질 발현 가능성이 없음을 확인하였다.
- '도입 DNA 영역 3'은 3' 말단에 534 bp가 결손된 KTi3 프로모터 절편 및 495 bp의 플라스미드 backbone으로 구성된 것으로 나타났다. 그러나 의도하지 않은 단백질 발현 가능성이 없음을 확인하였다.
- '도입 DNA 영역 4'는 5' 말단에서 642bp가 결손된 KTi3 프로모터를 가지는 PHP19340A 절편 및 5' 말단에서 150 bp가 결손된 KTi3 프로모터를 가지는 PHP19340A 절편이 역방향으로 도입된 것으로 나타났다. 도입 DNA 영역 4에서 PHP19340A 절편 1 카피 중 1139번 염기서열 및 2402, 2403번 염기서열이 각각 A에서 G, TC에서 AT로 변이되었다. 그러나 의도하지 않은 단백질 발현 가능성이 없음을 확인하였다.

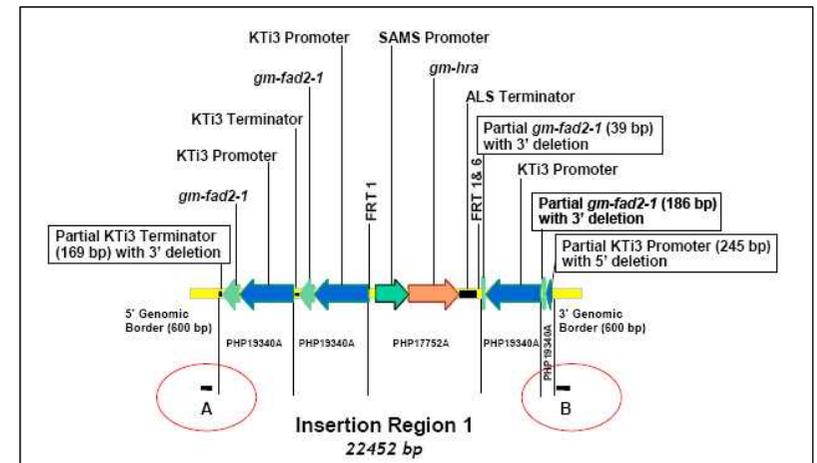


그림 3. 유전자재조합 콩 DP-305423-1에서 삽입 DNA 영역 1

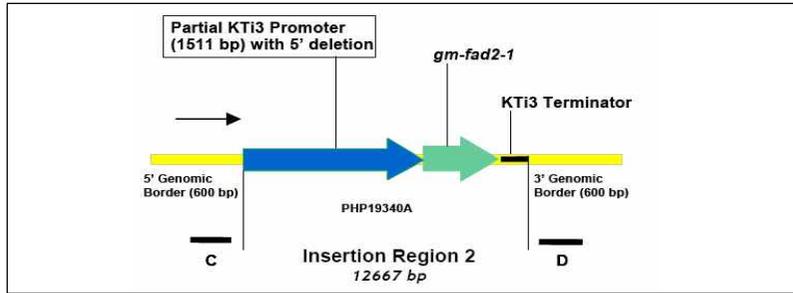


그림 4. 유전자재조합 콩 DP-305423-1에서 삽입 DNA 영역 2

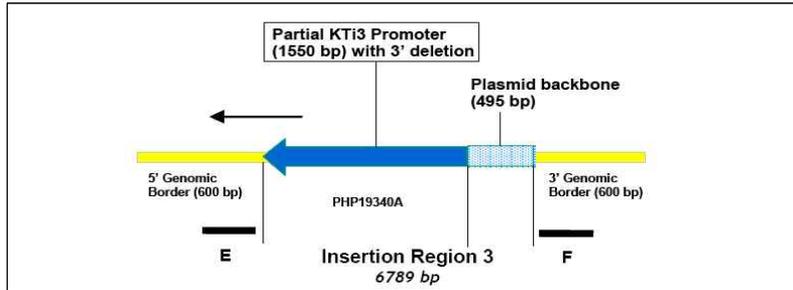


그림 5. 유전자재조합 콩 DP-305423-1에서 삽입 DNA 영역 3

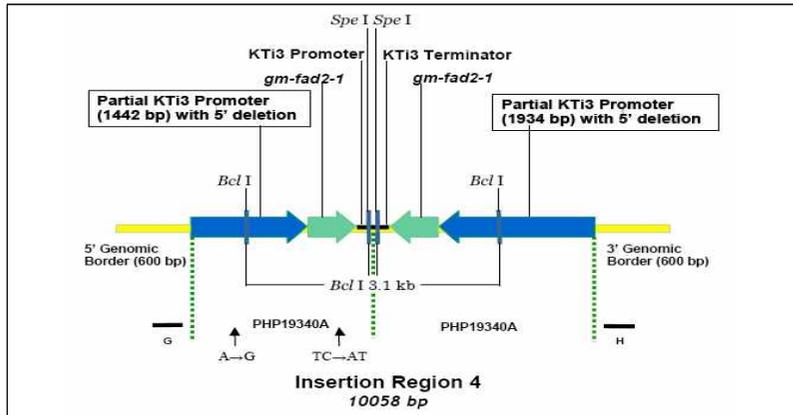


그림 6. 유전자재조합 콩 DP-305423-1에서 삽입 DNA 영역 4

2) 기지의 독성이나 항영양소를 암호화하는 유전자가 없음을 입증하는 자료

- 기지의 독성이나 항영양소를 암호화하는 것으로 알려진 유전인자는 DP-305423-1의 삽입 DNA에 존재하지 않는다. 또한 DP-305423-1 콩에서 발현된 GM-HRA 단백질은 알려진 알레르겐과 독소 단백질의 아미노산 서열과의 상동성을 조사한 결과, 알려진 알레르겐 또는 독소 단백질과의 상동성이 없었다.

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

- DP-305423-1 삽입 DNA 영역의 5' 및 3' 말단과 콩 내재 유전자 사이 접합부에 새로운 가상의 외래전사해독프레임(ORF)이 27개 있는 것으로 나타났다. 그러나 모두 전사 혹은 발현 되지 않을 것이라 판단되며, 혹시 발현되더라도 이미 알려진 알레르겐 또는 독소의 아미노산 서열과의 상동성이 없음을 확인하였다.

(마) 안정성에 관한 사항

1) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

- DP-305423-1에 존재하는 삽입 DNA의 안정성을 평가하기 위해 DP-305423-1 DNA를 사용하여 3세대(T4, T5, F2)에 걸친 Southern blot 분석을 실시한 결과 3세대에 걸친 DP-305423-1의 삽입 DNA가 유지됨이 확인되었다.

2) 복수 세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- DP-305423-1 콩에서의 GM-HRA 단백질의 식물 조직별[경엽(착엽기), 뿌리(착엽기), 잎(착엽기), 알곡(수확기)] 발현량을 2세대(BC1F5, BC1F6)를 대상으로 ELISA 시험법에 의해 평가한 결과, 각 단백질 모두 안정적으로 발현됨을 확인하였다.

(2) 유전자산물에 관한 정보

(가) 유전자산물의 화학적 성질

- GM-HRA 단백질의 경우 656개의 아미노산으로 되어있다.
- *gm-fad2-1* 유전자는 RNA 형태로만 존재하며, 단백질로 발현되지 않아 유전자산물이 존재하지 않는다.

(나) 유전자산물의 기능

- GM-HRA 단백질의 경우 아세트락테이트 합성효소 저해제의 영향을 받지 않

으므로 저해제가 존재하더라도 효소활성이 나타나서 분지 아미노산인 류신, 발린 및 이소류신이 합성되어, 제조제인 아세트락테이트 합성효소 저해제에 대한 내성을 식물체에 부여한다.

(다) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

- GM-HRA 단백질에 대해 각각 당화 분석을 실시한 결과, 당화되지 않았음을 확인하였다.

(라) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- 웨스턴 블롯 분석에 의한 분자량 분석, 트립신 처리 후 MALDI-MS에 의한 펩티드 질량 측정, N-말단 서열 결정, 당화 여부 시험을 통해 *E.coli* 유래 GM-HRA 단백질은 DP-305423-1 유래 GM-HRA 단백질과 비교하여 N-말단에 글리신이 부가 되었지만, 구조적 변화는 없는 것으로 판단되었다.

(마) 새로운 특성의 표현형

- GM-HRA 단백질에 의해 콩의 지방산 중 헵타데칸산과 헵타데센산이 영향을 받는 것으로 확인되었다.

(바) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- DP-305423-1 콩에서의 GM-HRA 단백질의 식물 조직별 발현량은 [표 2]와 같으며, 경엽의 착엽기에서 발현량이 가장 높았다.

표 2. DP-305423-1 콩 부위별 및 세대별 GM-HRA 단백질 발현량

조사 부위	조사 시기	단백질 발현량 ($\mu\text{g/g}$ dry weight)	
		BC1F5	BC1F6
알곡(grain)	수확기	2.5 ± 1.1	3.6 ± 1.2
경엽 (forage)	착엽기	5.7 ± 12	4.6 ± 7
뿌리(root)	착엽기	0.18 ± 0.22	0.32 ± 0.24
잎(leaf)	착엽기	4 ± 1.8	2.6 ± 3.2

(3) 독성

(가) 생산물이 단백질인 경우

1) 안전한 식경험의 유무

- GM-HRA 단백질은 콩 유래의 아세트락테이트 합성효소의 2개 아미노산이 치환(183번: 프롤린→알라닌, 560번: 트립토판→루신)된 단백질이며, 이 단

백질을 직접 섭취한 경험은 없었다.

2) 기지의 독성 및 항영양소와의 아미노산 서열 유사성

- GM-HRA 단백질을 NCBI(National Center for Biotechnology Information) 데이터베이스와 비교한 결과 기지의 독소 단백질 및 항영양소의 아미노산 서열과 상동성이 없는 것으로 확인되었다.

3) 유전자 산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 인공위액 안정성 : GM-HRA 단백질은 인공위액에서 쉽게 소화(30초 이내) 되는 것으로 확인되었다.
- 인공장액 안정성 : GM-HRA 단백질은 인공장액에서 쉽게 소화(30초 이내) 되는 것으로 확인되었다.
- 열 안정성 : 70°C 에서 15 분간 가열한 후 웨스턴 블롯(western blot) 분석을 실시한 결과 열처리 후에는 검출 가능한 GM-HRA 단백질이 관찰되지 않았다. 이 처리 조건에서 각각 90% 이상의 면역반응성을 잃는 것으로 확인되었다.

4) 안전한 식경험이 없는 단백질인 경우 경구독성시험

- 미리 절식시킨 암수 CrI:CD-1[®](ICR)BR 마우스(각 군별로 암수 각 5마리)을 대상으로 GM-HRA 단백질을 2,000 mg/kg body wt. 단회강제 경구투여 한 결과, 모두 14일 후에도 생존했고, 검체 투여에 따른 임상 징후 및 체중에 대한 영향은 나타나지 않았으며, 부검에서도 이상 소견이 관찰되지 않았다.
- CrI:CD(SD) 계통 랫드(각 군별로 암수 각 12마리)를 이용하여 유전자재조합 콩 DP-305423-1과 일반 콩의 대두박(20%), 대두피(1.5%) 및 대두유(1.5~1.7%)가 들어간 사료를 13주 동안 섭취시킨 결과 체중, 증체량, 사료 섭취량, 사료효율, 임상적 독성 소견, 안과적 평가 결과 등 모든 항목에서 특이적 영향은 관찰되지 않았다.

(나) 생산물이 단백질인 아닌 경우

1) 생물학적 기능

- DP-305423-1 콩에 도입된 *gm-fad2-1* 유전자는 ω -6 desaturase를 코딩하는 콩 내재성 *fad2-1* 유전자의 399~995번 nucleotide 영역으로서, DP-305423-1 콩에서 gene silencing을 유도 하여 콩 내재적 *fad2-1* 유전자 발현을 억제한다.

2) 식이 노출량

- *gm-fad2-1*에서 발현되는 RNA는 콩에 있는 *fad2-1* RNA의 절편 일부에 해당되며 전사량이 적어 식이 노출량은 일반 콩과 차이가 없을 것으로 판단된다.

3) 안전한 식경험의 유무

- *gm-fac2-1* RNA는 식경험이 있는 콩 내 *fac2-1* RNA의 절편이다.

(4) 알레르기성

(가) 유전자산물이 알레르겐으로 알려지고 있는가에 관한 자료.

- GM-HRA 단백질이 알레르겐이라는 보고는 없다.

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

- GM-HRA 단백질 열처리에 쉽게 면역반응성을 잃으며, 인공위액 또는 인공 장액과 같은 소화효소에 의해 쉽게 분해됨이 확인되었다.
- 웨스턴 블롯 분석에 의한 분자량 분석, 트립신 처리 후 MALDI-MS에 의한 펩티드 질량 측정, N-말단 서열 결정, 당화 여부 시험을 통해 DP-305423-1에서 분리 정제한 GM-HRA 단백질의 아미노산 서열은 *E.coli* 유래 GM-HRA 단백질 서열의 아미노산 서열과 비교하면, N-말단의 글리신(glycine)의 부가 되어 있음을 확인하였다. 그러나 면역반응성, 비당화 등의 특성에 대한 차이가 없어 *E.coli* 유래 GM-HRA 단백질을 물리화학적 처리 시험에 이용해도 문제가 없음을 입증되었다.

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

- GM-HRA 단백질을 FARRP(Food Allergy Research and Resource Program) 알레르겐 데이터베이스를 통해 비교한 결과 이미 알려진 알레르겐 및 글루텐 과민성 장질환에 관여하는 단백질과 연속하는 8개의 아미노산 잔기와 일치하는 아미노산 서열 및 80개 이상의 아미노산 잔기 중 35 % 이상의 상동성을 가지는 아미노산 서열이 없음을 확인하였다.

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

- 콩 및 콩 가공품을 모두 DP-305423-1로 대체한다고 가정할 경우,
 - 보건복지부의 국민건강영양조사 3기(2005) 통계를 바탕으로 콩을 가장 많이 섭취하는 만 1~2세의 단백질 1인 1일 섭취량 중 GM-HRA 단백질이 차지할 수 있는 비율은 6.7×10^{-4} 로 계산되었다.
 - 한국농촌경제연구원의 식품수급표(2005) 통계를 바탕으로, 한국인의 단백질 1인 1일 평균 섭취량 중 GM-HRA 단백질이 차지할 수 있는 비율은 1.2×10^{-4} 로 계산되었다.
- 이상의 추정에 따르면 DP-305423-1가 상업화되어 한국에서의 모든 콩 수요량을 DP-305423-1로 대체한다고 가정하더라도, 한국 소비자의 1일 GM-HRA 단백질 섭취량은 한국 소비자의 1일 단백질섭취량과 비교하면 매우

낮을 것으로 판단되었다.

(5) 숙주와의 차이

(가) 주요영양성분

- 2005년 총 6개 지역(미국 아이오와 주, 일리노이 주, 미네소타 주, 네브래스카 주 및 캐나다 온타리오 주 2곳)에서 3반복으로 DP-305423-1 알곡과 일반 콩 알곡을 수확하여 성분 분석을 실시했다.
- 통계방법으로는 linear mixed model을 사용하였고, 통계학적으로 유의적 차이가 나는 성분에 대해 생물학적 유의적 차이가 있는지 여부 확인을 위해 허용범위(tolerance interval) 및 문헌범위를 사용하였다.

① 주요구성 성분

- 분석한 콩 일반성분 중 지질 및 회분의 경우 통계학적으로 유의적 차이를 보였으나, 허용범위(함량범위) 혹은 문헌범위(평균) 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

② 지방산

- 분석한 지방산 중 미리스트산(myristic acid), 팔미트산(palmitic acid), 팔미톨레산(palmitoleic acid), 헵타데칸산(heptadecanoic acid), 헵타데센산(heptadecenoic acid), 스테아르산(stearic acid), 올레산(oleic acid), 리놀레산(linoleic acid), 리놀렌산(linolenic acid), 아라키드산(arachidic acid), 아이코센산(eicosenic acid), 아이코사디엔산(eicosadienoic acid) 및 리그노세르산(lignoceric acid)는 DP-305423-1 콩과 대조군으로 사용한 일반 콩 사이에 통계적 유의적 차이를 보였으나, 지방산 중 미리스트산, 팔미트산, 팔미톨레산, 스테아르산, 리놀렌산, 아라키드산, 아이코센산, 아이코사디엔산 및 리그노세르산 등은 허용범위(함량범위) 혹은 문헌범위(평균) 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.
- 올레산은 일반 콩에 비해 함량이 유의적으로 증가하였고, 리놀레산은 일반 콩에 비해 함량이 유의적으로 감소하였으나,
 - 리놀레산의 경우 콩기름의 콩을 DP-305423-1로 대체하여 그 함량이 감소하여도 한국인 영양섭취기준에 적합한 수준 범위 내에서 감소하기 때문에 영양성에 문제가 없을 것으로 판단된다.
 - 올레산은 식이의 일반적인 구성성분으로 안전하게 소비되어왔으며, 올리브유 등의 식물 유지에는 DP-305423-1 내 포함된 정도의 올레산을 함유하고 있다. 따라서 콩기름의 콩을 DP-305423-1로 대체하더라도 올레산 함량 증가에 따른 영양성 및 독성에 문제가 없을 것으로 판단된다.
 - 국내 상업화 되어있는 고올레산 해바라기씨유와 홍화씨유의 경우에도 기

존의 헤바라기씨유와 홍화씨유에 비해 각각 약 3배, 6배 정도 올레산 함량이 증가하였다.

- 헵타데칸산 및 헵타데센산 함량이 허용범위의 최대치를 상회하였으나,
- 두 지방산 모두 주요한 지방산이 아니며 DP-305423-1 콩의 총 지방산 중 각각 0.8 % 및 1.19 % 수준으로 매우 적었다.
- 어류 등 지방 함유 식품에서 헵타데칸산과 헵타데센산 함량이 비슷하거나 높은 것으로 나타났다.
- 콩 및 콩 가공품을 모두 DP-305423-1 콩으로 대체한다고 가정하여도 헵타데칸산과 헵타데센산의 예상 섭취증가량은 한국인의 1일 평균 총지방섭취량의 0.105%, 0.173% 정도이기 때문에 헵타데칸산 및 헵타데센산 함량의 유의적 증가에 따른 영양성 및 독성에 영향이 없을 것으로 판단된다.

③ 아미노산

- 분석한 아미노산 중 글루탐산(glutamic acid), 트레오닌(threonine)의 경우 통계적 유의차를 보였으나, 허용범위(함량범위) 혹은 문헌범위(평균) 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

(나) 미량영양성분

① 무기질

- 분석한 무기질 중 칼슘과 마그네슘의 경우 통계적 유의차를 보였으나, 허용범위(함량범위) 혹은 문헌범위(평균) 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

② 비타민

- 분석한 비타민 중 비타민 B1, γ-토코페롤의 경우 통계적 유의차를 보였으나, 허용범위(함량범위) 혹은 문헌범위(평균) 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

(다) 내재성독소

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

(라) 영양억제인자 (항영양소)

- 이소플라본 분석결과 제니스틴(genistin), 6'-O-말로닐제니스틴(6'-O-malonylgenistin), 다이진(daidzin), 6'-O-말로닐다이아진(6'-O-malonyldaidzin)의 경우 통계적 유의차를 보였으나, 허용범위(함량범위) 혹은 문헌범위(평균) 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

- 분석한 항 영양소 중 스타키오스, 트립신 저해제 분석결과 통계적 유의차를 보였으나, 허용범위(함량범위) 혹은 문헌범위(평균) 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

(마) 알레르기 유발성분

- DP-305423-1의 단백질 추출물과 콩 알레르기 환자(5명)들의 전체 혈청(pool sera)으로 시험(1-D immunoblot, ELISA inhibition)한 결과 및 DP-305423-1의 단백질 추출물과 콩 알레르기 환자(8명)들의 각각 혈청(individual serum)으로 시험(2-D immunoblot)한 결과, 일반 콩에 비해 알레르기성이 증가하지 않는 것으로 확인되었다.

(바) 삽입된 유전자의 대사산물

- GM-HRA에 의해 헵타데칸산 및 헵타데센산 함량이 증가하였으나 두 지방산은 일상적으로 섭취해오고 있는 지방산이며, 여러 지방 함유 식품 등의 두 지방산의 함량이 DP-305423-1와 비슷하거나 높고, 예상 섭취 증가량이 미미하기 때문에 영양성 및 독성에 영향이 없을 것으로 판단된다.

(사) 영양성

- 올레산, 리놀레산, 헵타데칸산 및 헵타데센산의 함량이 일반콩과 비교하여 유의적으로 차이가 있었으나, 영양학적으로 문제가 없음을 확인하였다.
- Ross×Cobb 브로일러(각 군별로 암수 각 60마리)를 이용하여 표 3과 같이 DP-305423-1과 일반 콩의 대두박과 대두피 및 대두유를 배합한 사료를 42일간 섭취시킨 결과 폐사율, 증체량, 사료효율, 간장 및 신장 중량, 도체수율, 도체 대비 가슴, 허벅지, 다리, 날개, 복부지방 등 모든 항목에서 특이적 영향은 관찰되지 않았다.

표 3. 브로일러 실험 사료 배합비

	대두박(%)	대두피(%)	대두유(%)
Starter	26.5	1.0	0.5
Grower	23.0		
Finisher	21.5		

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

① *gm-fad2-1* 유전자산물

- DP-305423-1 콩에 도입된 *gm-fad2-1* 유전자는 ω-6 desaturase를 코딩하는 콩 내재성 *fad2-1* 유전자의 399~995번 nucleotide 영역으로서,

DP-305423-1 콩에서 gene silencing을 유도하여 콩 내재적 *fac2-1* 유전자 발현을 억제 한다. 이러한 과정을 통해 올레산이 증가하고 리놀레산이 감소 하였다.

② GM-HRA 단백질

- GM-HRA 단백질은 제조제인 아세트락테이트 합성효소 저해제에 의해 저해되는 내재성 아세트락테이트 합성효소를 대신하여 분지 아미노산인 류신, 발린, 이소류신 합성경로에 작용한다. DP-305423-1에 대한 아미노산 조성분석에서 류신, 발린, 이소류신 함량은 일반 콩 대조군과 차이가 없는 것으로 나타났다. 이는 GM-HRA 단백질이 내재성 아세트락테이트 합성 효소처럼 분지 아미노산 합성경로에서 피드백 제어되며, 헵타데칸산 및 헵타데센산 함량 증가를 제외하고는 숙주의 대사경로에 다른 영향을 미칠 가능성이 매우 낮다는 것으로 판단된다.

(7) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황

- 현재 멕시코(2008), 미국(2009), 캐나다(2009), 호주/뉴질랜드(2010), 일본(2010)에서 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 DP-305423-1의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성을 농촌진흥청, 국립환경과학원, 국립수산물학회에서 심사 완료하였다.