|  |
| --- |
| **유전자재조합 옥수수(MIR604)**  **안전성평가자료 심사결과** |

***2007. 4.***

**식 품 의 약 품 안 전 청**

**유전자재조합식품안전성평가자료심사위원회**

**해충저항성 옥수수 (MIR604) 심사결과 보고서**

**1. 심사경위**

○ 신젠타종묘(주)는 옥수수 해충인 뿌리벌레(*Diabrotica spp*)에 저항성을 갖는 옥수수 MIR604(상품명 : Agrisure™) 에 대해 식품위생법 제15조에 따른 안전성 평가심사를 받기 위하여 2005년 10월 21일 식품의약품안전청에 「유전자재조합식품의안전성평가심사등에관한규정」(이하 ‘심사규정’이라함)에 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.

**2. 심사경과**

 ○ 심사대상품목

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 대상품목 | 신청자 | 개발자 | 제외국의 안전성  확인(승인) 현황 |
| 유전자재조합옥수수  MIR604 | 신젠타종묘(주) | Syngenta Seeds (Swiss) | 미국(2007. 1), 호주(2006. 8) |

 ○ 심사경과

- 2005년 10월 21일  안전성 평가자료 심사의뢰

- 2005년 10월 25일  심사위원회 서류심사 의뢰

- 2006년  5월 30일  1차 심사위원회 개최

- 2006년  6월 13일  보완자료 요구

- 2006년  6월 27일  2차 심사위원회 개최

- 2006년  8월 10일  보완자료 검토의뢰

- 2006년 12월 28일  3차 심사위원회 개최

- 2007년  2월~ 3월   심사결과보고서(안) 의견수렴

- 2007년  3월  7일   심사결과보고서(안) 작성완료

- 2007년  4월 17일   4차 심사위원회 심사결과보고서 최종 검토 완료

- 2007년  4월 19일   심사완료

**3. 심사방법**

  - 본 제품과 관련하여 심사 의뢰된 유전자재조합체가 심사규정의 적용대상인지를 검토하고,

  - 제출된 안전성 평가자료가 심사규정에서 요구하는 자료를 갖추었는지를 확인하여 미비한 부분에 대해서는 보완하도록 하면서 자료의 내용을 토대로 안전성 평가자료를 심사하였다.

**4. 심사의뢰 자료 검토**

**4-1. 심사 의뢰된 식품의 개요**

 ○ 신젠타종묘(주)가 개발한 유전자재조합옥수수 MIR604는 *mcry3A*유전자를 가져 옥수수뿌리벌레(*Diabrotica spp*)에 대하여 저항성을 나타낸다.

**4-2. 식품으로의 적합성 검토**

 ○ 본 제품과 관련하여 제출된 안전성 평가자료가 「유전자재조합식품의 안전성평가 심사 등에 관한규정」제12조에서 요구하는 자료를 만족시키는지 여부를 검토하였으며,

 ○ 자료의 내용을 토대로 다음과 같이 식품으로서의 안전성이 확보되어 있는 지를 심사하였다.

**4-2-1 유전자재조합체의 안전성**

 가. 유전자재조합체의 개발목적 및 이용방법에 관한 자료

 ○ 신젠타는 미국 내 3대 주요 뿌리벌레 종인 서부 옥수수 뿌리벌레 (*D. virgifera virgifera* Le Conte), 북부 옥수수 뿌리벌레 (*D. longicornis barberi* Smith and Lawrence) (Chen and Stacy, 2003), 멕시코 옥수수 뿌리벌레에 내성을 가지도록 Cry3A단백질을 발현하는 옥수수를 개발하였다.

 ○ 그 밖의 재배방법 및 이용방법은 기존의 옥수수와 동일하다.

 나. 숙주에 관한 자료

   (1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)

  - 학명 : *Zea mays* L. (Dent 종에 속함)

  - 과 : Graminaceae

  - 일반명 : corn(미국), maize(그 외 지역)

  - 계통명 : Indentata NP2500

   (2) 재배 및 품종개량의 역사

      - 북아메리카 원주민에 의해 수천 년간 재배되어왔으며, 16세기 구미에 전파되고, 20세기 들어 잡종 종자에 의한 생산이 증가하였다.

   (3) 기지의 독성 또는 알레르기 유발성

      - 옥수수가 속하는 Zea 속 식물은 자연적으로 독소를 생산하지 않는 것으로 보고(International Food Biotechnology Council, 1990) 되었다.

      - 옥수수의 알레르기 유발성은 낮다.

   (4) 안전한 식경험의 유무

      - 옥수수는 세계 3대 곡물중의 하나이며, 고과당 옥수수시럽, 전분, 식용유, 옥수수가루, 옥수수분말 등으로 이용되어 안전한 식경험을 가지고 있다고 할 수 있다.

 다. 공여체에 관한 자료

   (1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)

      - mcry3A유전자의 공여체 : *Bacillus thuringiensis var. tenebrionis*

        ※ mcry3A유전자는 *B. thuringiensis*의 포자형성 시 생성되는 crystalline inclusion 유래

      - phosphomannose isomerase(pmi, 선발표지 유전자)의 공여체 : *Escherichia coli*

   (2) 안전한 식경험의 유무

- *B. thuringiensis* 및 *E. coli*는 직접적인 식품원료로 이용되지는 않으나, 토양 환경에 있어 야채나 과일의 재배 환경에서 부터 부착해서 검사시 보편적으로 검출되는 미생물이다.

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

      - *B. thuringiensis*는 살충성 단백질(Bt단백질)을 생산하지만, 지금까지 Bt 단백질은 사람을 포함한 포유류에 대한 독성 및 알레르기 유발성이 없다고 알려져 있다.

 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 pZM26은 *E. coli* 유래의 pUC19에 *Agrobacterium tumerfaciens*의 T-DNA에서 유래하며,

          - 벡터의 구성요소는 다음과 같이 밝혀져 있다.   

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Element | | Size (bp) | Function | Donor |
| T-DNA | *RB* | *25* | *Right border region of*  *T-DNA* | *A. tumefacien*  *nopaline ti-plasmid* |
| *LB* | *25* | *Left border region of*  *T-DNA* | *A. tumefacien*  *nopaline ti-plasmid* |
| pUC19 | *ColE1 ori* | *807* | *Origin of replication* | *E. coli* |
| *Spec* | *789* | *Streptomycin*  *adenyltransferase*  *(bacterial selectable*  *marker)* | *E. coli Tn7* |
| *VirG* | *726* | *Regulatory system for the vir regulon in*  *Agrobacterium.* | *VirGN54D from pAD1289* |
| *repA* | *1074* | *pVS1 replication protein* | *Pseudomonas* |
| *VS1ori* | *405* | *Origin of replication and*  *partitioning region.* | *pVS1 of Pseudomonas* |

size:10.

       2) 숙주에서의 확인

          - 숙주 내 삽입된 유전자 T1세대에서 유전자산물을 면역항체반응 strip으로 검정하여 확인하고, 이를 자가수분하여 얻은 T2세대는 TaqMan PCR을 이용하여 mcry3A에 대해 동형접합성을 확인, 이들을 자가수분하여 T3세대를 확보, 이를 비유전자변형순계와 교배한 T4세대를 확보하고 이들을 역교배하여 T5세대를 확보한다.

          - T5세대에서 멘델유전양상 비교와 PCR분석결과를 토대로 안정적으로 1 copy 삽입되고 있음이 확인되었다.

         3) 숙주에서의 기능

           - MIR604에 도입된 *mcry3A*유전자는 딱정벌레목 해충에 저항성을 나타내는 mCry3A단백질을 암호화한다. pmi (*manA*) 유전자는 선발표지 유전자로서 mannose 이용성을 갖게 하는 PMI를 암호화한다.

      (다) 중간숙주에 대한 정보

           - 삽입유전자는 *E. coli*에서 대량생산한 후,

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

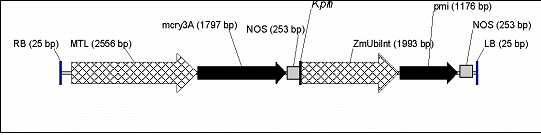
      (라) 전달성에 관한 정보

          - Southern 분석 및 DNA 염기서열 분석 결과, MIR604에는 의도한 유전자(MTL promoter와 ZmUbInt promoter의 단일 copy)를 제외하고 그 밖의 다른 서열은 포함되지 않음이 확인되었다.

   (2) 도입 유전자에 대한 정보

     (가) 구성 유전자의 특성

          도입유전자의 구성은 다음과 같이 설명되고 있다.



**pZM26의 plasmid map.**

       1) 선발표지유전자

          - *pmi* : phosphomannose isomerase를 암호화하는 *E. coli manA* 유전자로 mannose를 에너지원으로 첨가한 선택배지를 사용 가능하게 한다.

          - *Spec* : *E. coli* Tn7에서 유래한 Streptomycin adenylyltransferase, *aadA* 유전자로 에리트로마이신, 스트렙토마이신 및 스펙티노마이신에 대한 내성을 부여하여 중간숙주에서 선발표지 유전자로 이용된다.

        2) 조절인자

          - 전사개시인자 :

             ․MTL promoter (2556 bp) :  옥수수 metallothionein-유사 유전자 (GenBank Accession number S57628) 유래로 옥수수 뿌리에서 선택적으로 발현 시킨다 (de Framond, 1991)

             ․ZmUbiInt (1993 bp) : 옥수수 polyubiquitin 유래로 1st intron이 있고(GenBank Accession number S94464), 외떡잎 식물에서 발현 시킨다(Christensen et al., 1992).

          - 전사종결인자 : NOS (253 bp):

             ․*A. tumefaciens*의 nopaline synthase 유전자 유래 terminator (GenBank Accession number V00087)로, polyadenylation site를 제공한다 (Depicker et al., 1982).

        3) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

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

     (나) 크기 및 명칭

        ○ *mcry3A* 유전자 발현카세트

           - MTL promotor : 2,556 bp, 옥수수 유래 constitutive promoter

           - *mcry3A* : 1,797 bp, *B. thuringiensis var.*. *tenebrionis* 유래

           - NOS terminator : 253 bp, *A. tumefaciens* 유래

        ○ *pmi* 유전자발현 카세트

           - ZmUbiInt promotor : 1,993 bp, polyubiquitin 유래로 외떡잎 식물에서 발현

           - pmi : 1,176 bp, *E. coli* phosphomannose isomerase 암호화 하는 *manA* 유전자 유래

           - NOS terminator : 253 bp, *A. tumefaciens* 유래

     (다) 완성된 벡터내의 유전자 염기서열의 위치 및 방향성

         - 제한효소지도, 벡터 내에서의 유전자위치, 방향성이 제시되었다.

     (라) 구성 유전자의 기능

        ○ *mcry3A* 유전자  :

         - *B. thuringiensis var. tenebrionis* 유래 *cry3A*를 카텝신-G serin protease 인식부위를 갖도록 변형한 것이다. 옥수수 뿌리벌레인 *D. virgifera virgifera 및 D. longicornis barberi*에 대한 살충활성이 증가(Chen and Stacy, 2003). *mcry3A* 유전자의 전체 암호화 영역은 옥수수에 대한 codon usage를 사용하여 합성하였다.

     (마) 유해염기서열의 유무

         - 알려진 유해 염기서열을 포함하지 않으며, mCry3A 및 PMI 단백질은 기지의 독소 단백질 및 인체 건강에 악영향을 주는 활성을 가지는 효소 및 아미노산 서열과 상동성을 갖지 않는 것이 확인되었다.

     (바) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현가능성

         - 목적으로 하는 mCry3A 및 PMI 단백질의 발현과 관련된 이외의 외래전사해독프레임은 없으며, 그 전사 및 발현가능성도 없다.

     (사) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입 (유전자의 순도)

         - 염기서열 결정결과 목적하는 유전자이외의 유전자는 혼입되지 않았다.

         - 플라스미드 pZM26에 포함된 모든 유전자는 그 성질이 규명되고 있다.

  마. 유전자재조합체의 특성에 관한 자료

   (1) 유전자재조합체 내 도입된 유전자에 관한 정보

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| *MTL promoter* | *2556* | *Root-preferential expression* | *Z. mays* |
| *mcry3A* | *1797* | *Rootworm resistant protein* | *B. thuringiensis*  *var. tenebrionis* |
| *nos terminator* | *253* | *Provides a polyadenylation site* | *Agrobaterium*  *tumefaciens* |
| *ZmUbiInt* | *1993* | *Provides constitutive expression*  *in monocots.* | *Z. mays* |
| *pmi* | *1176* | *Phosphomannose issomerase*  *(isomerization of M-6-P to F-6-P)* | *E. coli* |
| *nos terminator* | *253* | *Provides a polyadenylation site* | *Agrobaterium*  *tumefaciens* |

     (가) 유전자재조합체의 게놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

        ○ m*cry3A*유전자

          - Cry3A단백질을 암호화하며 살충성을 나타낸다.

        ○ *pmi* 유전자

          - mannose 선택배지에서 형질전환체를 선발하게 한다.

     (나) 삽입부위의 수

         - Southern blot 분석과 DNA 염기서열 분석결과 *mcry3A* 및 *pmi* 유전자와 MTL 및 ZmUbiInt promoter로 구성된 T-DNA 영역이 단일 copy가 존재하는 것으로 확인되고 있다.

     (다) 각 삽입부위의 삽입유전자의 구성

        1) 복제수, 염기서열(주변염기서열 포함)

        ○ 삽입 유전자의 복제수 :

          - 삽입 유전자의 복제수와 완전성을 확인하기 위해 역교배 6세대 잎조직 pool을 이용한 Southern blot 및 멘델유전법칙에 따른 형질 분리비를 분석한 결과 1 copy 삽입된 때에 발생하는 크기 및 수와 일치하여 삽입 유전자는 1 copy 도입된 것으로 확인되었다.

        ○ 삽입유전자 염기서열 :

          - 5세대 시료를 대상으로 삽입유전자의 전 서열을 pZM26 플라스미드의 서열과 비교분석한 자료를 제시하고 있으며,

*- MTL* 부위에서 1군데, *pmi*부위에서 2군데 상이하나, 이들 차이는 유전자 발현에 영향을 주지 않으며, *mcry3A*는 동일함이 확인되고 있다.

        ○ 주변염기서열 :

*-* 삽입유전자의 5‘말단과 3’말단의 염기서열이 제시되고 있다.

        2) 기지의 독성이나 항영양소를 암호화하는 유전자가 없음을 입증하는 자료

         - 알려진 알레르겐과 독성 단백질의 아미노산 서열과의 상동성을 NCBI GenBank D/B(NCBI2003)을 이용하여 조사한 결과, D/B 내 mCry3A이나 PMI 단백질과 유의한 상동성을 보이는 단백질 중 아미노산 서열이 독성물질로 알려진 것도 없음을 확인하고 있다.

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

         - 삽입유전자의 5‘말단과 3’말단의 주변 경계부위의 염기서열에 대해 BLASTN분석한 결과, 삽입유전자는 옥수수 식물 유전자와 유의한 상동성을 보이지 않았으며, 게놈내 삽입유전자의 연결부에서 해독전사프레임으로서 개연성을 보이는 6개의 전사프레임이 있었으나, 새로운 해독전사프레임은 형성되지 않은 것으로 나타났다.

         - 또한 Event MIR604 T-DNA 삽입부로 인해 옥수수의 내재 유전자에 교란이 일어나는 사례는 보고된 바 없으며, 새로운 ORF가 옥수수 유전자와 MIR604 T-DNA의 5' 말단과 3' 말단의 접합부 사이에 걸쳐 새로운 ORF는 존재하지 않는 것을 확인하고 있다.

         - 따라서 외래전사해독프레임에 의한 전사 및 발현가능성은 없다.

     (마) 안정성에 관한 사항

         - 유전자의 안정성을 확인하기 위한 시험은 역교배 4, 5, 6세대에 대하여 세대당 10개의 식물체를 이용하여 실시한 결과로 설명하였다.

        1) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

         - 역교배 4, 5, 6세대로부터 얻은 잎조직을 이용한 유전자분석에 의해 *mcry3*A와 *pmi* 유전자가 단일 copy로 들어 있음을 확인하여 유전자카세트가 모두 안정되게 세대간 발현된다고 설명하고 있다.

        2) 복수 세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

         - 옥수수의 생육단계(윤생, 개화, 종자성숙, 노화)의 4단계에서 ELISA방법에 의해 분석한 결과를 각 조직별로 제시하였으며, 세대간 차이가 없음을 보고하였다.

   (2) 유전자산물에 관한 정보

    (가) 유전자산물의 화학적 성질 (단백질이나 전사되지 않은 RNA)

        ○ mCry3A 단백질 :

         - mCry3A 단백질 분자량은 약 67,700Da로 식물체에서는 N말단이 메티오닌-48부터 시작하여 약 55,000Da이며, *B. thuringiensis var. tenebrionis*에서 만들어지는 Cry3A 단백질과 유사하고,

         - “발린-세린-세린”부위를 카텝신-G 인식부위인 “알라닌-알라닌-프롤린-페닐알라닌”서열로 대체한 점만이 다른 것으로 밝혔다.

        ○ PMI단백질 :

         - PMI단백질은 391개 아미노산으로 되어 있다고 밝히고 있다.

    (나) 유전자산물의 기능

         - 삽입된 유전자가 발현하는 단백질 중 mCry3A 단백질은 옥수수의 해충인 옥수수 뿌리벌레에 저항성을 보이고,

         - PMI단백질은 mannose 요구성을 갖게 하여 선발표지로 이용되고 있음을 밝히고 있다.

    (다) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

         - 대장균에서 발현한 mCry3A 및 PMI단백질과 식물에서 발현한 단백질을 분자량, 면역반응, 당화분석 및 생물학적 활성에 대해 비교한 결과

         - PMI에서 2군데 아미노산이 대체되고 있으나, 이들 변화가 PMI단백질의 기능에 영향을 미치지 않음을 확인하여,

         - 결과적으로 발현단백질 모두 번역 후 아미노산 서열의 변이에 따른 영향이나 당화는 없는 것으로 확인하고 있다.

    (라) 발현단백질의 구조적 변화 여부

         - 상기 (다) 항에서와 같음.

    (마) 새로운 특성의 표현형

       ○ mCry3A단백질

         - 옥수수 뿌리벌레(WCRW; *D. virgifera virgifera)* 및 기타 연관된 해충에 살충성을 나타낸다.

       ○ PMI단백질

         - 유전자재조합체의 mannose 이용성을 부여하여 재생시키는 과정에서 선발표지로 사용되었다.

    (바) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

         - 유전자의 안정성(stability)을 확인하기 위한 시험은 역교배 4, 5, 6세대에 대하여 생육단계(윤생, 개화, 종자성숙, 노화)의 4단계에서 ELISA방법에 의해 조직별 발현량을 분석한 결과를 제시하고 있으며,

        ○ mCry3A단백질 발현량

         - 근친교배 품종인 MIR604-A 및 MIR604-B과 MIR604-C 교잡 품종 모두에서 mCry3A 단백질은 검출한계(0.07 g/g fresh wt. 0.15 g/g dry wt) 미만의 값을 나타내었다.

        ○ PMI단백질 발현량

         - 종자 성숙기 및 노화기의 이삭(kernel)에서 정량한계(<0.06 g/g fresh wt.) 미만에서 약 0.8 g/g fresh wt. (<0.2～6.8 g/g dry wt.)까지의 편차 범위에 분포하는 것으로 분석되고 있다.

   (3) 독성

     (가) 생산물이 단백질인 경우

      1) 안전한 식경험의 유무

         - mCry3A는 자연계에서는 존재하지 않는 단백질로서 현재까지의 식경험은 없으며 종자에서의 mCry3A 단백질 발현량도 0.7ppm으로서 극히 적은 양이 발현되는 것으로 확인되었다.

      2) 기지의 독성 및 항영양소와의 아미노산 서열 유사성

         - mCry3A 단백질과 기지의 독성 단백질 사이에 구조 상동성을 확인하기 위하여 미국 NCBI 데이터베이스와의 비교 대조 분석한 결과, 독성물질로 알려진 non-Bt 단백질과 상동성을 보이지 않는 것으로 확인되었다.

         - PMI 단백질 역시 미국 NCBI 데이터베이스와의 비교 대조 분석한 결과, 알려진 독성 단백질과 상동성을 보이지 않는 것으로 확인되었다.

      3) 유전자 산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

       ○ 열 안정성

        - mCry3A 단백질은 95℃ 가열처리시 생물활성을 잃게 되며, 일반적인 옥수수 가공법인 전분가공 처리시 습식분쇄 및 알칼리성 처리에 의해서도 대부분의 생물활성이 저하된다고 한다.

        - PMI단백질은 65℃, 30분 가열로 효소활성이 없어진다.

       ○ 소화액 안정성

        - mCry3A 및 PMI 단백질은 인공 위액에서 2분내 분해되었다.

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

        - mCry3A 단백질을 마우스에 2,377mg/Kg body wt.(실제로는 90.3%순도의 MCRY3A-0102 2,632mg/Kg body wt.)까지 경구 투여했으나, 이상 없었다.

        - PMI단백질을 마우스에 3,080mg/Kg body wt.(실제로는 61%순도의 PMI-0198 5,050mg/Kg body wt.)까지 경구 투여했으나, 이상 없었다.

   (4) 알레르기성

     (가) 유전자산물이 알레르겐으로 알려지고 있는가에 관한 자료

        - mCry3A 및 PMI단백질이 사람에 대한 알레르기 유발성을 갖는다는 보고는 없다.

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

        - mCry3A단백질은 열처리 및 알칼리처리나 소화효소에 의해 쉽게 분해되며,

        - PMI 단백질은 65℃ 30분 열처리로 효소활성이 상실되며, 구조적 특성을 보면 cysteine 잔기가 2개만 있어 단백질 안정성에 영향을 주는 disulfide bond를 구성할 가능성은 낮다고 판단된다.

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

        ○ mCry3A 단백질

         - mCry3A 단백질의 아미노산서열과 알레르겐 서열을 FASTA 탐색 알고리즘을 이용하여 유사성을 검사한 결과, 80개씩의 아미노산 펩타이드 비교에서 35%이상의 상동성을 나타내는 알레르겐 서열을 확인할 수 없었다.

         - 또한 8개씩의 인접 아미노산 비교에서 mCry3A 단백질과 동일한 8개의 인접 아미노산 염기배열을 갖는 알레르겐 서열도 없음을 확인하였다.

        ○ PMI단백질 :

         - PMI 단백질의 아미노산서열과 알레르겐 서열을 FASTA 탐색 알고리즘을 이용하여 유사성을 검사한 결과, 80개씩의 아미노산 펩타이드 비교에서 35%이상의 상동성을 나타내는 알레르겐 서열을 확인할 수 없었다.

         - 8개씩의 인접 아미노산 비교에서 MIR604 유래 PMI와 최근의 알레르겐으로 밝혀진 식용개구리의 α-parvalbumin(110개 아미노산) 사이에 알레르겐 서열과의 상동성 조사가 실시되었다. MIR604 유래 PMI 단백질에서 확인된 두 개의 아미노산 치환은 위에서 확인된 공통 서열에는 존재하지 않아 상동성 조사 결과와 본질적으로 관련되지 않았다. 실제 환자혈청을 이용한 PMI의 IgE 결합실험에서도 음성 결과를 나타냈다.

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

        - 우리나라 국민(연령전체)이 섭취한 옥수수가 모두 MIR604 유래이고, 가공에 의한 손실이 전혀 없다고 가정하고, 국민 1인당 1일 옥수수 섭취량이 18.90 g(2003년 기준, 농림부)이라고 한다면, 옥수수 알곡에 약 1 ppm 함유되어 있는 Cry3A, PMI 양은 17.3 ㎍정도로 하루 단백질 섭취량인 71.6g(2001년 기준, 보건복지부)에 비해 0.000024%로 극히 미미한 양이다. 따라서 발현된 Cry3A, PMI 단백질은 국내 단백질 섭취량에서 유의적 비중을 차지하지 않는 것으로 추정된다.

   (5) 숙주와의 차이

    (가) 주요영양성분

- 미국의 10-12개 지역에서 2작기에 걸쳐 재배된 시료에 대해 각각의 유전자재조합 옥수수와 비 유전자재조합 옥수수 간 주요영양성분의 차이를 비교하여,

- 조단백질 및 수분을 비롯한 일부 성분은 통계적 유의차가 있었지만, 연차 및 지역에 따른 일관된 차이는 나타나지 않았으며 일부 유의차를 보이는 항목의 분석치도 문헌상 편차 범위에 포함되는 것으로 설명되고 있다.

- 지방산 조성분석에서는 팔미트산을 제외하고는 기타 지방산에서 유의차가 있었지만 이 중 올레인산을 제외한 나머지는 연차 및 지역에 따른 일관된 차이는 나타나지 않은 것으로 설명되고 있으며, 유의차를 보이는 올레인산의 경향은 재배지에 따라 큰 변이를 보이므로 유전형에 의한 차이로 판단하기 어렵고, 전반적으로 문헌에 보고된 범위 내에 분포하는 것으로 보이고 있음을 설명하고 있다.

- 아미노산에 대한 조성 분석의 결과, 아스파라긴, 트레오닌, 세린, 글루타메이트, 알라닌, 시스테인, 발린, 아이소루신, 루신, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판에서 일부 통계적 유의차를 보였으나, 연차 및 지역에 따른 일관된 차이는 나타나지 않았으며, 일부 유의차를 보이는 항목의 분석치도 문헌상 편차 범위에 포함되는 것으로 설명되고 있다.

    (나) 미량영양성분

무기질분석 결과 생육기에 걸쳐 일반적인 차이를 보이지 않았으며 모든 분석 결과는 문헌상의 편차 범위 내에 분포하는 것으로 설명되고 있다.

    (다) 내재성독소

옥수수에는 유해 생리활성 물질의 생성이 알려져 있지 않다.

    (라) 영양억제인자 (항영양소)

        Ferulic acid, para-coumaric acid, furfural acid, inositol, phytic acid, raffinose, trypsin inhibitor를 분석한 결과, ferulic acid와 para-coumaric acid에서 통계적으로 유의한 차이를 보였으나, 모든 결과값은 문헌상 범위 내 분포하는 것으로 설명되고 있다.

    (마) 알레르기유발성분

       MIR604의 발현단백질인 Cry3A 단백질은 알레르기 유발 단백질이 아니며, 알려진 알레르기 단백질과 8개의 연속적인 아미노산 서열이 일치하지 않아 알레르기를 일으키지 않는 것으로 판단되었다.

    (바) 삽입된 유전자의 대사산물

- mCry3A는 표적해충의 카텝신-G protease에 의해 개열되어 살충활성을 지니는 것으로 설명되었다. 대장균에서 발현된 시험물질과 MIR604 옥수수에서 발현시킨 단백질에 대해, 분자량 및 면역반응, 당화 분석 및 생물학적 활성에 대한 분석을 수행한 결과, 삽입유전자에서 발현된 mCry3A 단백질은 대장균에서 발현된 단백질과 동등성을 보이는 것으로 설명되었다.

- PMI 단백질은 Mannose 6-phosphate를 기질로 하여 Fructose 6- phosphate를 생성시키는 것으로 설명되었다.

    (사) 영양성

         MIR604는 영양소 함량 분석결과 다른 상업용 옥수수와 실질적으로 다르지 않음을 확인하고 있다.

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

        - 성분분석을 통해 대사경로와 다형질 발현에 있어 의도하지 않은 효과는 나타나지 않는 것으로 설명되었다.

   (7) 유전자재조합체의 생존 증식에 대한 정보

       삽입유전자에 의해 발현되는 단백질에 의해 옥수수뿌리 벌레(corn rootworm)에 대한 저항성과 mannose를 이용하는 특성 외에는 일반적 옥수수와 생존능력이 동일한 것으로 설명하고 있다.

   (8) 유전자재조합체의 불활성화 방법

       가열하거나 소각하여 불활성화 할 수 있는 것으로 설명되어 있다.

   (9) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황

      2007년 기준으로 영국, 스위스, 일본, 중국에서 승인 절차가 진행 중인 것으로 설명되어 있다.

**5. 심사의뢰 자료 검토 결과**

   ○ 이상의 검토 내용과 같이 심사규정에 따라 제출된 자료의 안전성을 평가한 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 옥수수와 차이가 없음을 확인하였다.