

유전자변형 옥수수 DP-915635-4
안전성 심사 결과 보고서

2024. 7. 8.

〈차 례〉

I. 요약	1
II. 심사 경위	3
III. 심사 경과	3
IV. 심사 방법	3
V. 심사 신청 자료 검토 결과	4
1. 유전자변형 농축수산물의 개발목적 및 이용방법	4
2. 숙주	4
가. 분류학적 특성	4
나. 재배 및 품종개량의 역사	4
다. 이미 알려져 있는 독성, 알레르기 유발성 또는 병원성 외래인자와 관련성	5
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	6
가. 형질전환과정에 대한 정보	6
나. 도입 유전자에 대한 정보	7
5. 유전자변형 농축수산물의 특성	8
가. 유전자변형 농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보	8
나. 유전자산물에 관한 정보	9
다. 독성	10
라. 알레르기성	11
마. 숙주와의 차이	12
바. 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향	14
사. 식품용으로서의 저장 및 가공에 관한 설명	14
아. 외국의 식품유통 승인 및 식품용 등의 이용 현황	14
6. 결론	14
7. 기타	14
[참고문헌]	15

유전자변형 옥수수 DP-915635-4

안전성 심사 결과 보고서

I. 요약

코르테바 아그리사이언스코리아는 해충저항성 및 제초제 내성을 나타내는 유전자변형 옥수수 DP-915635-4에 대해 식품의약품안전처에 「식품위생법」 제18조 및 「유전자변형식품등의 안전성 심사 등에 관한 규정」(이하 ‘심사 규정’이라 한다)에 따른 유전자변형식품등의 안전성 심사를 신청하였고, 「유전자변형식품등 안전성 심사위원회」(이하 ‘심사위원회’라 한다)는 심사 규정에 따라 신청자가 제출한 자료를 검토하였다.

신청된 DP-915635-4는 *Ophioglossum pendulum* 유래 *ipd079Ea* 유전자 도입으로 해충저항성, *Streptomyce viridochromogenes* 유래 *mo-pat* 유전자 도입으로 글루포시네이트 제초제내성, 선발표지 유전자로 *Escherichia coli* 유래 *pmi* 유전자가 도입되어 만노오스(mannose) 이용성을 가지도록 개발하였다. 캐나다, 콜롬비아, 대만(‘22), 미국, 유럽연합(‘23), 호주/뉴질랜드(‘24) 등에서 승인되었다.

안전성 확인을 위해 숙주, 공여체, 유전자변형 과정, DP-915635-4의 특성에 관한 자료를 제출 받아 검토한 결과, 식품용으로 이용시 안전성 문제를 유발하지 않는 것으로 확인되었다.

DP-915634-4 옥수수에 도입된 *ipd079Ea*, *mo-pat* 및 *pmi* 유전자는 차세대 염기서열 분석(NGS)자료 및 서던 블롯(Southern blot) 자료를 통해 안정적으로 유지되는 것으로 확인되었다.

IPD079Ea, PAT 및 PMI 단백질에 대하여 독소 단백질 데이터베이스(‘23)를 이용하여 기존에 알려진 독소와 아미노산 서열 유사성을 비교한 자료를 검토한 결과, 상동성이 없는 것으로 확인되었고, 90일 반복투여독성 평가자료를 검토한 결과, 독성이 없는 것으로 확인되었다.

또한 IPD079Ea, PAT 및 PMI 단백질에 대해 알레르겐 데이터베이스(‘20)를 이용하여 기존에 알려진 알레르겐과 서열 유사성을 비교한 자료를 검토한 결과, 80개의 아미노산 절편에 걸쳐 35% 이상의 상동성 및 연속된 8개 이상의 아미노산과 일치하는 알레르겐 서열이 없음이 확인되었다.

영양성을 확인하기 위해 DP-915635-4와 비유전자변형(non-GM) 대조군 옥수수의 주요영양성분, 미량영양성분, 항영양소 등의 함량을 비교한 결과, 유의한 차이가 없었으며, 육계(broiler)를

대상으로 DP-915635-4과 대조군 옥수수를 42일간 급이 시험한 결과, 영양성에 차이가 없는 것으로 확인되었다.

따라서, 심사위원회는 유전자변형 옥수수 DP-915635-4에 대해 지금까지 식품으로 섭취해온 옥수수와 비교하여 안전성에 문제가 없는 것으로 결론 내렸다.

II. 심사경위

- 코르테바 아그리사이언스코리아는 해충저항성 및 글루포시네이트 제초제내성을 나타내는 유전자변형 옥수수 DP-915635-4를 식품위생법 제18조에 따른 안전성 심사를 받기 위하여 2021년 6월 30일 식품의약품안전처에 「유전자변형식품등의 안전성 심사 등에 관한 규정」(이하 심사규정)에서 규정한 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 안전성 평가가 이루어졌는지 여부를 확인하였다.

III. 심사경과

- 심사대상품목

대상품목	신청자	개발자
유전자변형 옥수수 DP-915635-4	코르테바 아그리사이언스코리아	Pioneer Hi-Bred International, Inc.

- 심사경과

- 2021년 6월 30일 : 안전성 심사 신청
- 2021년 12월 21일 : 1차 안전성 심사위원회
- 2023년 3월 21일 : 2차 안전성 심사위원회
- 2023년 4월 18일 : 3차 안전성 심사위원회
- 2023년 5월 16일 : 4차 안전성 심사위원회
- 2023년 7월 18일 : 5차 안전성 심사위원회
- 2023년 10월 24일 : 6차 안전성 심사위원회
- 2023년 11월 21일 : 7차 안전성 심사위원회
- 2024년 3월 19일 : 8차 안전성 심사위원회

IV. 심사방법

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

V. 심사 신청 자료 검토 결과

1. 유전자변형농축수산물의 개발목적 및 이용방법

- DP-915635-4 옥수수는 *ipd079Ea* 유전자에 의해 IPD079Ea 단백질을 발현되어 옥수수뿌리 벌레류 해충저항성, *mo-pat* 유전자에 의해 PAT 단백질을 발현되어 글루포시네이트 제초제 내성을 나타낸다. *pmi* 유전자에 의해 발현된 PMI(phosphomannose isomerase) 단백질은 만노오스(mannose)를 이용가능하게 하여 형질전환 과정에서 선발표지로 사용되었다.
- 그 밖의 재배방법 및 이용방법은 기존의 일반 옥수수와 동일하다.

2. 숙주

가. 분류학적 특성

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

나. 재배·사육 및 품종개량의 역사

- 현재 경작되고 있는 옥수수의 기원은 *teosinte*로 추정되며¹⁾, 약 6000년 전 옥수수의 작물화(domestication)가 시작된 것으로 보인다²⁾. 15세기 유럽인들이 미주 지역 중 기후가 온화한 지역에 도착한 이후 세계로 전파되었다²⁾. 현재 미국에서 재배되는 옥수수의 대다수가 잡종 옥수수이며, 1920년대에 잡종 옥수수의 재배가 시작되었다³⁾.

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

- 옥수수와 관련하여 독성이나 알레르기성이 유해한 수준으로 보고된 바는 없다.

라. 안전한 식경험의 유무

- 옥수수는 전분, 감미료(과당, 옥수수 시럽 등), 옥수수유, 옥수수 가루 등 다양하게 가공되어 식품원료로 사용되고 있다.

3. 공여체

가. 분류학적 특성

- 1) *ipd079Ea* 유전자
 - 과(Family): *Ophioglossaceae*
 - 속(Genus): *Ophioglossum* L.

- 종(Species): *O. pendulum* L.

- 일반명: *O. pendulum* L.

2) *mo-pat* 유전자

- 과(Family): Streptomycetaceae

- 속(Genus): *Streptomyces*

- 종(Species): *S. viridochromogenes*

- 일반명: *S. viridochromogenes* Tü494

3) *pmi* 유전자

- 과(Family): Enterobacteriaceae

- 속(Genus): *Escherichia*

- 종(Species): *E. coli*

- 일반명: *E. coli* K-12

나. 안전한 식경험의 유무, 식품용 이외의 노출 경로

- *ipd079Ea*의 공여체인 *Ophioglossum pendulum*은 *Ophioglossum* 속 양치류가 약용 또는 식용으로 사용된다는 설이 있지만, 이에 대한 자료는 한정적이다⁴⁻⁷. *O. pendulum*이 인간, 동물에 독성이 있는 것으로 보고된 바 없다.

- *mo-pat*의 공여체인 *Streptomyces viridochromogenes*는 토양 중에 흔히 존재하는 그람 양성균으로서 식물, 인체, 기타 동물에 대해 병원성이 있는 것으로 알려진 바 없다⁸⁻¹⁰. PAT 단백질은 국내외에서 안전성이 승인되어 이미 상업화된 여러 품목들에 존재하는 PAT 단백질과 동일하다.

- *pmi*의 공여체인 *Escherichia coli*(*E. coli*)는 통성 혐기성, 그람 음성 간상 세균으로 *E. coli* K-12는 일반적으로 인간 장관 내에서 콜로니를 형성하지 못하고 환경 중 생존율이 낮고, 인체 의약품 분야 등에서 안전한 사용 역사가 있다¹¹. PMI 단백질은 국내외에서 안전성이 승인되어 이미 상업화된 여러 품목에 존재한다¹².

다. 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성

- *ipd079Ea*의 공여체인 *Ophioglossum pendulum*은 안전성이나 알레르기 유발성에 관한 보고는 없다.

- *mo-pat*의 공여체인 *Streptomyces viridochromogenes*는 토양 중에 흔히 존재하는 그람 양성균으로서 식물, 인체, 기타 동물에 대해 병원성을 나타내지 않으며, 안전성에 대한 부정적인 보고 및 알레르기성에 대한 보고는 없다.

- *pmi*의 공여체인 *E. coli* K-12는 일반적으로 인간 장관 내에서 콜로니를 형성하지 못하고 환경 중 생존율이 낮고, 안전성이나 알레르기 유발성에 관한 보고는 없다.

4. 유전자변형

가. 형질전환 과정에 대한 정보

1) 형질전환 방법

- 2단계의 순차적(sequential) 형질전환을 통한 ‘위치 특이적 유전자 도입(sitespecific integration, 이하 ‘SSI’라고 칭함)’ 방법¹³⁾으로 개발되었다.
- 옥수수 게놈의 특정 위치에 DNA 서열을 도입하기 위해 1차 형질전환 단계로서 입자총법 및 CRISPR-Cas9(Clustered regularly interspaced palindromic repeats) 매개 표적 위치 도입 과정 후 아그로박테리움법에 의해 의도한 발현 카세트를 포함한 DNA 서열로 치환하는 2차 형질전환을 통해 개발되었다.
- 형질전환 및 조직 배양 과정을 통해 재생된 T0 세대 식물체를 선발했다.

2) 벡터에 대한 정보

가) 기원

- 플라스미드 벡터 PHP73878은 숙주 *zm*-SEQ158 및 *zm*-SEQ159 서열에 도입하려는 *pmi* 유전자 발현 카세트 일부(*ubi*AM1 프로모터, *ubi*AM1 5'UTR, *ubi*AM1 인트론), FRT1, FRT6 서열을 포함하고 있다. PHP83175는 FRT1, FRT6, *pmi*, *mo-pat*, *ipd079Ea* 코딩서열을 포함하고 있다.
- 각 벡터의 주요 구성 요소의 기원이 제시되었다.

나) 숙주에서의 확인

- DP-915635-4 옥수수에 도입된 DNA는 PHP73878 플라스미드 서열 일부 및 주로 PHP83175 플라스미드 유래 서열로 구성된 것으로서 염기서열 분석¹⁴⁾으로 T-DNA 서열 및 주변 염기서열을 확인하였고, 서던 블롯(southern blot)¹⁵⁾ 및 차세대 염기서열 (NGS)¹⁶⁾ 분석으로 단일사본의 T-DNA가 도입되었음이 확인되었다.

다) 숙주에서의 기능

- *ipd079Ea* 유전자는 IPD079Ea 단백질이 발현되어 옥수수뿌리벌레류(*Diabrotica* spp.) 해충의 중장 상피조직 파괴를 유도함으로써 해충저항성 형질을 나타낸다.
- *mo-pat* 유전자는 PAT 단백질이 발현되어 글루포시네이트 제초제 내성 형질을 나타낸다.
- *pmi* 유전자는 PMI 단백질을 발현하여 탄소원으로 만노오스를 이용가능하게 하여 형질 전환 과정에서 선발표지의 기능을 나타낸다.

라) 제한효소 절단 지도

- 플라스미드 PHP73878 및 PHP83175의 제한효소 절단지도는 제시되었다¹⁵⁾.

마) 유해염기 서열 유무

- 도입된 DNA 서열은 landing pad 서열 도입에 이용된 PHP73878 플라스미드 유래 서열 및 의도했던 발현 카세트 도입에 이용된 PHP83175 플라스미드 유래 서열로 구성되며 유해 염기서열을 포함하지 않는다.

바) 전달성에 관한 정보

- 플라스미드 벡터는 T-DNA를 옥수수 게놈으로 전달하는데 필요한 우측 및 좌측 경계 서열을 포함하고 있으며, 이는 T-DNA를 옥수수 게놈으로 이동시키는데 필요하다. 하지만 형질전환 이후 T-DNA 경계 영역이 온전하게 남아 있지 않으므로 T-DNA 내의 유전자가 다른 생물로 전달될 가능성은 없다.

3) 중간숙주에 대한 정보

- 아그로박테리움(*Agrobacterium tumefaciens*)을 매개로 PHP83175 플라스미드 T-DNA 영역에서 유래한, 의도했던 유전자 발현 카세트를 포함한 DNA 서열이 옥수수 게놈에 도입되었다.

나. 도입유전자에 대한 정보

1) 구성 유전자의 특성, 염기서열, 제한효소 절단지도

가) 선발표지유전자

- *pmi* 유전자는 *Escherichia coli* 유래로, PMI 단백질 발현에 의해 탄소원으로 만노오스를 이용가능하게 하여 형질전환 과정에서 선발표지로 사용되었다.

나) 조절인자

- 도입된 구성 유전자의 크기 및 명칭이 제시되었다.

다) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

- 삽입유전자 발현과 관련된 인자 이외의 다른 염기서열은 삽입되지 않았다^{15,16}.

2) 크기 및 명칭

- 도입된 구성 유전자의 크기 및 명칭이 제시되었다.

3) 완성된 발현 벡터내의 유전자 염기서열의 위치 및 방향성

- 벡터 PHP73878의 크기는 10,974 bp, 벡터 PHP83175의 크기는 74,997 bp로 각 구성요소의 위치와 방향성이 제시되었다^{15,16}.

4) 구성 유전자의 기능

- 구성 유전자의 기능이 제시되었다.

5) 유해염기서열의 유무

- 도입된 DNA 서열은 landing pad 서열 도입에 이용된 PHP73878 플라스미드 유래 서열 및 의도했던 발현 카세트 도입에 이용된 PHP83175 플라스미드 유래 서열로 구성되며 유해 염기서열을 포함하지 않는다.

6) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현 가능성

- DP-915635-4 옥수수의 삽입 유전자 서열에 대해 외래전사해독프레임(ORF) 유무를 확인한 자료¹⁷⁾를 검토한 결과, IPD079Ea, PAT, PMI 단백질 이외의 번역산물이 생성될 가능성은 없으며, 잠재적 알레르기성, 독성 또는 기타 안전성이 우려되는 단백질과 서열 유사성이 없는 것으로 확인되었다.

7) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입

- DP-915635-4 옥수수 도입 DNA 및 인접 부위에 Sanger 방법에 의한 염기서열 분석¹⁴⁾ 및 targeted NGS 분석 자료¹⁶⁾, 서던블롯 자료¹⁵⁾를 검토한 결과, 삽입유전자 이외의 염기서열은 혼입되지 않았음이 확인되었다.

5. 유전자변형농축수산물의 특성

가. 유전자변형농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보

1) 유전자변형농축수산물의 게놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

- *ipd079Ea* 유전자는 IPD079Ea 단백질이 발현되어 옥수수뿌리벌레류(*Diabrotica* spp.) 해충의 중장 상피조직 파괴를 유도함으로써 해충저항성 형질을 나타낸다.
- *mo-pat* 유전자는 PAT 단백질이 발현되어 글루포시네이트 제초제 내성 형질을 나타낸다.
- *pmi* 유전자는 PMI 단백질을 발현하여 탄소원으로 만노오스를 이용가능하게 하여 형질 전환 과정에서 선발표지의 기능을 나타낸다.

2) 삽입부위의 수

- 차세대 염기서열(NGS) 분석자료¹⁶⁾, 서던 블롯 실험 자료¹⁵⁾, 멘델 분리비 분석자료¹⁸⁾를 검토한 결과, 의도했던 도입 DNA 단일사본이 DP-915635-4 옥수수의 핵 게놈에 존재 하며, 멘델의 유전 법칙에 따라 유전되고 있음이 확인되었다.

3) 각 삽입부의 삽입유전자의 구성

가) 복제수, 염기서열

- 차세대 염기서열(NGS) 분석자료¹⁶⁾를 검토한 결과 *ipd079Ea* 유전자 발현 카세트, *mo-pat* 유전자 발현 카세트, *pmi* 유전자 발현 카세트를 포함하는 도입하고자 의도 했던 DNA가 단일 부위에 단일 사본으로 삽입되었고, 플라스미드 backbone은 존재 하지 않으며 도입된 염기서열의 온전성이 확인되었다.

나) 이미 알려져 있는 독소나 항영양소를 암호화하는 유전자와의 상동성

- IPD079Ea, PAT, PMI 단백질의 아미노산 서열을 독소 데이터베이스(NCBI non-redundant 단백질 DB, '23)를 이용하여 검색한 결과, 독소 또는 항영양소와 유의한 서열 상동성이 나타나지 않았다.^{19)~21)}

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

- 삽입유전자 및 인접하는 숙주 게놈 유전자를 대상으로 외래전사해독프레임(ORF)이 검색되었고^{17),22)}, ORF 아미노산 서열에 대해 독소 및 알레르겐 데이터베이스를 이용하여 분석한 자료^{19)~21)}를 검토한 결과, 서열 유사성은 없는 것으로 확인되었다.

5) 안정성에 관한 사항

가) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

- DP-915635-4에 존재하는 삽입 DNA의 안정성을 평가하기 위해 5세대의 시료를 수집하여 Southern blot 분석한 자료^{15),23)}를 검토한 결과, 5세대에 걸쳐 삽입 DNA가 유지됨이 확인되었다.
- 3개 세대에 대한 분리비를 측정한 결과¹⁸⁾, 멘델법칙에 따른 분리 비율이 관찰되어, 단일 위치에 하나의 사본이 삽입된 것으로 확인되었다.

나) 복수세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- 복수세대(3세대) 뿌리, 잎, 화분, 경엽, 곡립에서 IPD079Ea, PAT 및 PMI 단백질의 발현을 효소면역측정법(ELISA)으로 분석한 결과, 3세대에 걸쳐 발현됨이 확인되었다^{24),25)}.

나. 유전자산물에 관한 정보

1) 유전자산물의 화학적 성질

- IPD079Ea 단백질은 479개 아미노산으로 구성되어 있으며, 분자량은 약 52 kDa이다.
- PAT 단백질은 183개 아미노산으로 구성되어 있으며, 분자량은 약 21 kDa이다.
- PMI 단백질은 391개 아미노산으로 구성되어 있으며, 분자량은 약 43 kDa이다.

2) 유전자산물의 기능

- *ipd079Ea* 유전자가 도입되어 IPD079Ea 단백질을 발현한다. IPD079Ea 단백질은 pore를 형성하는 기능을 가지는데, 옥수수뿌리벌레류 해충의 중장 상피조직 파괴를 유도함으로써 해충저항성을 부여한다^{26)~28)}.
- *pat* 유전자가 도입되어 PAT 단백질을 발현하며 PAT 단백질은 제초제인 글루포시네이트 암모늄의 유효성분인 L-phosphinothricin 이성체를 아세틸화하여 해당 제초제를 약독화(detoxifying)시켜 내성을 나타낸다^{29),30)}.
- *pmi* 유전자가 도입되어 PMI 단백질을 발현한다. 탄소원으로서 mannose를 포함하는 배지에서 식물 세포가 생존할 수 있으므로 PMI 단백질이 선발표지로 사용될 수 있다^{31),32)}.

3) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

- IPD079Ea, PAT 및 PMI 단백질의 번역 후 변이 유무를 확인하기 위한 당화 분석 자료^{33~35})가 제출되었으며, 번역 후 변이가 일어나지 않은 것으로 확인되었다.

4) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- 미생물 생산 IPD079Ea, PAT 및 PMI 단백질과 DP-915635-4에서 생산된 단백질의 동등성은 N-말단 분석, LC MS/MS 질량분석, Western blot, 분자량 분석, 기능활성 분석, 당화 분석을 통하여 확인한 자료^{33~35})가 제출되었으며, 두 단백질의 동등함이 확인되었다.

5) 새로운 특성의 표현형

- 새롭게 도입된 *ipd079Ea*, *mo-pat* 및 *pmi* 유전자는 IPD079Ea, PAT 및 PMI 단백질을 발현하여 옥수수뿌리벌레류 해충저항성, 글루포시네이트 제초제내성, 만노오스를 이용가능하게 하여 형질전환 과정에서 선발표지 특성을 나타낸다.

6) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- 2019년 미국 및 캐나다의 6개 포장시험 장소에서 4개 반복구로부터 뿌리, 잎, 화분, 경엽, 곡립의 시료가 수집되었고, 다중면역분석법(multiplexed immunoassay)으로 단백질 발현량을 분석한 자료^{24),25})가 제출되었다.
- IPD079Ea 평균 단백질 발현 수준은 잎에서 LOQ~1.6 µg/g dw, 뿌리에서 0.28~30 µg/g dw, 알곡에서 0.075~0.36 µg/g dw이었다.
- PAT 평균 단백질 발현 수준은 잎에서 1.9~9.0 µg/g dw, 뿌리에서 0.57~23 µg/g dw, 알곡에서 3.9~9.9 µg/g dw이었다.
- PMI 평균 단백질 발현 수준은 잎에서 3.4~38 µg/g dw, 뿌리에서 1.2~9.6 µg/g dw, 알곡에서 1.5~5.7 µg/g dw이었다.

다. 독성

1) 유전자산물이 단백질인 경우

가) 발현단백질의 안전한 식경험의 유무

- IPD079Ea 단백질은 *Ophioglossum pendulum* 유래로 *Ophioglossum* 속 양치류가 약용 또는 식용으로 사용된다는 설이 있지만, 이에 대한 자료는 한정적이다^{4~7}). *O. pendulum*이 인간, 동물에 독성이 있는 것으로 보고된 바 없다.
- PAT 단백질은 일반 토양 미생물 6종 이상에서 PAT 관련 단백질이 발견되었지만, 이들 모두 인축 독성 및 알레르기성을 가진다고 보고된 바 없고, 여러 작물 및 상업종 옥수수들에 도입되어 안전하게 이용되고 있다^{30),36),37}).

- PMI 단백질은 *Escherichia coli* 유래로 일반적으로 인간 장관 내에서 콜로니를 형성하지 못하고 환경 중 생존율이 낮고, 인체 의약품 분야 등에서 안전한 사용 역사가 있다¹¹⁾. PMI 단백질은 국내외에서 안전성이 승인되어 이미 상업화된 여러 품목에 존재한다¹²⁾.

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

- IPD079Ea, PAT, PMI 단백질의 아미노산 서열을 NCBI non-redundant 단백질 데이터베이스('23)를 이용하여 분석한 자료^{19)~21)}를 검토한 결과, 서열 유사성은 없는 것으로 확인되었다.

다) 발현단백질의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 인공 위·장액 조건에서 IPD079Ea, PAT 및 PMI 단백질의 소화성을 평가한 결과, 발현 단백질은 인공 위·장액에서 분해되었으며, 열처리에 의해 활성이 소실되는 것으로 확인되었다^{38)~41)}.

라) 발현단백질의 단회투여독성

(1) 단회투여독성

- Crl:CD1(ICR) 마우스(암, 수 각 6마리)를 대상으로 IPD079Ea, PAT 및 PMI 단백질을 각각 5,000 mg/kg bw, 5,000 mg/kg bw, 3,030 mg/kg bw 로 투여하고 14일 동안 관찰한 결과, 폐사율, 체중, 임상 증상, 육안 병리 검사 등에 미치는 영향은 없었다^{42~44)}.

(2) 90일 반복투여독성

- SD 랫드(암수 각 16마리/군)를 대상으로 90일간 DP-915635-4를 포함한 사료(33% 및 50%)를 급이한 처리군과 대조군을 비교한 결과, 폐사율, 체중, 사료섭취량, 안 검사, 임상 증상(행동·외형 등), 요검사, 혈액학, 혈액 생화학, 육안병리검사, 장기 중량, 조직병리검사에서 시험물질과 관련된 부정적 영향이 관찰되지 않았다⁴⁵⁾.

라. 알레르기성

1) 유전자산물이 알레르겐으로 알려져 있는지 여부

- IPD079Ea, PAT 및 PMI 단백질은 알레르기성이 있는 것으로 보고된 사례는 없다.

2) 유전자산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 인공 위·장액 조건에서 IPD079Ea, PAT 및 PMI 단백질의 소화성을 평가한 결과, 발현 단백질은 인공 위·장액에서 분해되었으며, 열처리에 의해 활성이 소실되는 것으로 확인되었다^{38)~41)}.

3) 유전자산물 중 이미 알려져 있는 알레르겐과의 상동성

- IPD079Ea, PAT 및 PMI 단백질의 아미노산 서열을 이미 알려졌거나 추정된 알레르겐 데이터베이스인 COMPARE 데이터베이스(20)를 이용하여 비교한 결과, 80개 이상의 아미노산 잔기로서 35%이상 상동성 및 연속한 8개 아미노산 잔기가 일치하는 서열의 상동성이 관찰되지 않았다^{46)~48)}.

4) 유전자산물이 1일 단백질섭취량의 유의한 양을 차지하고 있는지 여부

- 국민건강영양통계(2016)⁴⁹⁾에 따르면 1인당 일일 평균 단백질 섭취량은 71.78 g이었으며, 1인당 일일 평균 옥수수 섭취량은 2.93 g(만 1~2세), 4.49 g(만 50~64세)이었다.
- 1일 단백질 섭취량 중 IPD079Ea 단백질이 차지할 수 있는 비율은 국민건강영양통계를 바탕으로 $1.06 \times 10^{-6}\%$ (만 1~2세) 및 $1.63 \times 10^{-6}\%$ (만 50~64세)로 추산되었고, 2016 식품수급표(2017)⁵⁰⁾를 바탕으로 $1.71 \times 10^{-5}\%$ 로 추산되었다.
- 1일 단백질 섭취량 중 PAT 단백질이 차지할 수 있는 비율은 국민건강영양통계를 바탕으로 $3.51 \times 10^{-5}\%$ (만 1~2세) 및 $5.38 \times 10^{-5}\%$ (만 50~64세)로 추산되었고, 2016 식품수급표(2017)⁵⁰⁾를 바탕으로 $5.65 \times 10^{-4}\%$ 로 추산되었다.
- 1일 단백질 섭취량 중 PMI 단백질이 차지할 수 있는 비율은 국민건강영양통계를 바탕으로 $3.18 \times 10^{-5}\%$ (만 1~2세) 및 $4.88 \times 10^{-5}\%$ (만 50~64세)로 추산되었고, 2016 식품수급표(2017)⁵⁰⁾를 바탕으로 $5.13 \times 10^{-4}\%$ 로 추산되었다.
- DP-915635-4 옥수수가 상업화되어 한국에서의 옥수수 섭취량 또는 공급량 전체를 DP-915635-4 옥수수로 대체한다고 가정하더라도, IPD079Ea, PAT 및 PMI 단백질이 국내 소비자의 단백질 섭취량에서 차지하는 비율은 매우 낮을 것으로 추산되었다.

마. 숙주와의 차이

- 2019년 미국 및 캐나다의 8개 지역에서 4반복으로 DP-915635-4 곡립과 6종의 일반 옥수수 곡립을 수확하여 성분분석을 실시하였으며, OECD 합의문의 주요 작물별 검토 성분을 참고하여 분석한 자료⁵¹⁾가 제출되었다. 통계적 유의적 차이가 관찰된 성분은 허용범위 또는 문헌범위와 비교한 결과, 모두 허용범위 또는 문헌범위 내에 포함되었다.

1) 주요영양성분

(1) 일반성분

- 분석한 일반성분(9개) 모두 통계적으로 유의적인 차이가 없었다.

(2) 아미노산

- 분석한 아미노산(18개) 모두 통계적으로 유의적인 차이가 없었다.

(3) 지방산

- 분석한 지방산(15개) 중 팔미톨레산(C16:1), 리그노세르산(C24:0)에서 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 참조범위, 허용범위 및 문헌범위 내에 포함되었다.

2) 미량영양성분

(1) 무기질

- 분석한 무기질(9개) 중 철(iron)에서 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 문헌범위 내에 포함되었다.

(2) 비타민

- 분석한 비타민(12개) 모두 통계적으로 유의적인 차이가 없었다.

3) 내재성독소

- 옥수수에 대한 오랜 기간의 안전한 식경험을 통해, 인체 및 동물의 건강에 부정적인 영향을 줄 수 있는 내재성 독소가 옥수수에 존재한다는 보고는 없었다.

4) 항영양소

- 분석한 2차 대사산물 및 항영양소(7개) 중 p-쿠마르산(p-coumaric acid)에서 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 문헌범위 내에 포함되었다.

5) 알레르기 유발성분

- 옥수수는 주요한 알레르기성 식품으로 간주되지 않는다.

6) 삽입된 유전자산물의 대사산물

- IPD079Ea 단백질은 해충저항성을 부여하는 형질, PAT 단백질은 기질특이적으로 글루코시네이트 제조제내성을 부여하는 형질, PMI 단백질은 만노오스를 탄소원으로 이용할 수 있도록 하는 형질을 제외하면 관행 옥수수와 비교하여 DP-915635-4 유래 식품의 성분에 의도된 변화가 없다. 따라서, DP-915635-4 옥수수에서 발현된 IPD079Ea, PAT 및 PMI 단백질이 옥수수 식물체의 내재 성분들에 작용하여 새로운 대사산물을 생성하지 않을 것으로 설명하였다.

7) 영양성

- 육계(암수 각 400마리, 총 800마리)를 이용하여 사료에 옥수수 알곡을 배합하여 42일간 급이하였으며, 별도로 6종의 비유전자변형 참조군도 함께 시험한 자료⁵²⁾가 제출되었다. 성장 단계별 60~67%가 포함된 사료를 42일간 섭취시킨 결과, 생존율, 사료섭취량, 육계의 증체량, 폐사율, 폐사율을 고려한 사료효율, 장기 수율, 도체수율 등 특이적 영향은 관찰되지 않았다.

바. 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향

- IPD079Ea 단백질은 옥수수뿌리벌레류 해충의 중장 상피조직 파괴를 유도함으로써 해충저항성을 부여하는데, 초시목 3종에 대해서 활성을 보였고, 인시목 4종 및 다른 초시목 7종에 대해서는 유의한 활성을 보이지 않았다²⁸⁾. IPD079Ea 단백질이 식물체 내에서 효소 활성을 가진다는 보고는 없다.
- PAT 단백질은 phosphinothricin 제초제 활성 성분인 글루포시네이트 암모늄에 내성을 부여한다. PAT 단백질은 기질 특이적이어서 L-글루포시네이트에는 작용하지만 L-글루포시네이트의 광학 이성체인 D-글루포시네이트는 기질로 이용되지 않는다⁵³⁾.
- PMI 단백질은 mannose-6-phosphate 및 fructose-6-phosphate 간 가역적 상호전환을 촉매하며, 이들 화합물 2종만이 PMI 단백질의 기질로 이용된다^{31),32)}.
- 이처럼 IPD079Ea, PAT 및 PMI 단백질은 각각 고유의 작용기작을 가지며, 기질에 특이적이다. 따라서 옥수수 식물체의 내재성 대사경로에 영향을 줄 가능성은 낮다.

사. 식품용으로서의 저장 및 가공에 관한 설명

- DP-915635-4 옥수수의 저장 및 가공은 기존의 상업화된 옥수수와 같다.

아. 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황

- 캐나다, 콜롬비아, 대만('22), 미국('23), 유럽연합('23), 호주/뉴질랜드('24) 등에서 승인되었다.

6. 결론

- 가. 이상의 검토 내용과 같이 심사 규정에 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 따라 유전자변형 옥수수 DP-915635-4의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성은 농식품부(농촌진흥청), 환경부(국립생태원), 해양수산부(국립수산물과학원)에서 심사 완료하였다.
- 나. 유전자변형 옥수수 DP-915635-4의 정성 및 정량 시험법에 대한 검토가 완료되었다.
- 다. 유전자변형 옥수수 DP-915635-4의 안전성 심사 결과보고서(안)을 식품의약품안전처 누리집 및 정책메일서비스(PMS)에 2024년 6월 5일 ~ 7월 4일까지 공개하여 의견을 수렴한 결과, 접수된 의견은 없었다.

[참고문헌]

1. OECD(Organisation for Economic Co-operation and Development) (2003) Consensus Document on the Biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize). ENV/JM/MONO(2003)
2. OGTR(Office of the Gene Technology Regulator) (2008) The Biology of *Zea mays* L. ssp *mays*(maize or corn)
3. Wych, (1988) Production of hybrid seed corn, Agronomy Monograph no. 18, 3rd edition
4. Fernandez H (2011) Chapter 1 Introduction. In H Fernandez, A Kumar, A Revilla, eds, Working with Ferns Issues and Applications. Springer. Verlag New York, pp 1.8
5. de Winter WP, Amoroso VB (2003) Ophioglossum pendulum L. In Plant Resources of South-East Asia; Cryptograms: Ferns and fern allies, Vol 15(2). Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp 151-153
6. Hanum IF, Hamzah N (1999) The Use of Medicinal Plant Species by the Temuan Tribe of Ayer Hitam Forest, Selangor, Peninsular Malaysia. Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science 22: 85-94
7. Silalahi M, Nisyawati, Walujo EB, Supriatna J, Mangunwardoyo W (2015) The local knowledge of medicinal plants trader and diversity of medicinal plants in the Kabanjahe traditional market, North Sumatra, Indonesia. Journal of Ethnopharmacology 175: 432-443
8. Cross, (1989) Other Genera, Section 33
9. Goodfellow and Williams, (1983), Ecology of Actinomycetes, Ann. Rev. Microbiol, 37: 189~216
10. Locci, (1989) Streptomyces and Related Genera, Section 29
11. US-EPA (1997) Escherichia coli K.12 Derivatives Final Risk Assessment. United States Environmental Protection Agency, http://epa.gov/biotech_rule/pubs/fra/fra004.htm
12. ISAAA (2020) Gene: pmi (events list). International Service for the Acquisition of Agribiotech Applications, <https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/gene/default.asp?GeneID=37&Gene=pmi>
13. Anand A, Wu E, Li Z, TeRonde S, Arling M, Lenderts B, Mutti JS, Gordon.Kamm W, Jones TJ, Chilcoat ND(2019) High efficiency Agrobacterium-mediated site-specific gene integration in maize utilizing the FLP.FRT recombination system. Plant Biotechnology Journal 17: 1636.1645
14. Sequence Characterization of Insert and Flanking Genomic Regions of DP-915635-4 Maize(개발사, 2019)
15. Molecular Characterization of DP-915635-4 Maize for Copy Number, Insert Intactness and Backbone Analysis using Southern Blot Analysis(개발사, 2020)
16. Southern-by-Sequencing Analysis of the T1 Generation of DP-915635-4 Maize(개발사, 2020)
17. Reading Frame Analysis at the Insertion Site of Maize Event DP-915635-4(개발사, 2020)
18. Segregation Analysis and Tissue Production of Multiple Maize Generations Containing Event DP-915635-4(개발사, 2019)

19. Comparison of the IPD079Ea Protein Sequence to the Protein Sequences in the NCBI nr Protein Database(개발사, 2023)
20. Comparison of the PAT Protein Sequence to the Protein Sequences in the NCBI nr Protein Database(개발사, 2023)
21. Comparison of the PMI Protein Sequence to the Protein Sequences in the NCBI nr Protein Database(개발사, 2023)
22. Characterization of the Genomic Border Regions of Maize Event DP-915635-4(개발사, 2020)
23. Characterization of DP-915635-4 Maize for Insertion Stability in Five Generations Using Southern Blot Analysis(개발사, 2020)
24. Expressed Trait Protein Concentrations of a Maize Line Containing Event DP-915635-4: U.S. and Canada Test Sites(개발사, 2019)
25. Expression Analysis of Multiple Maize Generations Containing Event DP-915635-4(개발사, 2020)
26. Rosado CJ, Kondos S, Bull TE, Kuiper MJ, Law RHP, Buckle AM, Voskoboinik I, Bird PI, Trapani JA, Whisstock JC, Dunstone MA (2008) The MACPF/CDC family of pore-forming toxins. *Cellular Microbiology* 10: 1765-1774
27. Yu L, Liu D, Chen S, Dai Y, Guo W, Zhang X, Wang L, Ma S, Xiao M, Qi H, Xiao S, Chen Q(2020) Evolution and Expression of the Membrane Attack Complex and Perforin Gene Family in the Poaceae. *International Journal of Molecular Sciences* 21: 5736
28. Evaluation of IPD079Ea Protein Activity Against Multiple Insect Species(개발사, 2019)
29. CERA - ILSI Research Foundation (2011) A Review of the Environmental Safety of the PAT Protein. International Life Sciences Institute, Center for Environmental Risk Assessment
30. Herouet C, Esdaile DJ, Mallyon BA, Debruyne E, Schulz A, Currier T, Hendrickx K, van der Klis R-J, Rouan D(2005) Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the pat and bar sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 41: 134-149
31. Negrotto D, Jolley M, Beer S, Wenck AR, Hansen G (2000) The use of phosphomannose-isomerase as a selectable marker to recover transgenic maize plants (*Zea mays* L.) via *Agrobacterium* transformation. *Plant Cell Reports* 19: 798-803
32. Reed J, Privalle L, Powell ML, Meghji M, Dawson J, Dunder E, Sutthel J, Wenck A, Launis K, Kramer C, Chang Y-F, Hansen G, Wright M (2001) Phosphomannose isomerase: An efficient selectable marker for plant transformation. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 37: 127-132
33. Registration-Specific Summary of the Characterization Results of the DP915635 Maize and Microbially Derived IPD079Ea Proteins(개발사, 2021)
34. Characterization of PAT Protein Derived from DP-915635-4 Maize(개발사, 2020)

35. Characterization of PMI Protein Derived from DP-915635-4 Maize(개발사, 2020)
36. Bartsch K, Tebbe CC (1989) Initial Steps in the Degradation of Phosphinothricin (Glufosinate) by Soil Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 55: 711-716
37. Kutzner HJ (1981) The Family Streptomycetaceae. In MP Starr, H Stolp, eds, *The Prokaryotes: A Handbook on Habitats, Isolation, and Identification of Bacteria*, Vol 2. Springer-Verlag, pp 2028-2090
38. Characterization of the In Vitro Pepsin Resistance of IPD079Ea Using SDS-PAGE and Western Blot Analysis(개발사, 2020)
39. Characterization of the In Vitro Pancreatin Resistance of IPD079Ea Using SDSPAGE and Western Blot Analysis(개발사, 2020)
40. Characterization of IPD079Ea Following In Vitro Pepsin and Sequential Pancreatin Digestion Using SDS-PAGE Analysis(개발사, 2020)
41. Determination of the Biological Activity of Heat-Treated IPD079Ea Protein Incorporated in an Artificial Diet and Fed to *Diabrotica virgifera virgifera*(개발사, 2020)
42. IPD079Ea Protein: Acute Oral Toxicity Study in Mice(개발사, 2019)
43. Brooks KJ (2000) PAT Microbial protein (FL): Acute Oral-Toxicity Study in CD-1 Mice. Dow AgroSciences LLC, Study No. 991249
44. Reed J, Privalle L, Powell ML, Meghji M, Dawson J, Dunder E, Sutthe J, Wenck A, Launis K, Kramer C, Chang Y-F, Hansen G, Wright M (2001) Phosphomannose isomerase: An efficient selectable marker for plant transformation. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 37: 127-132
45. 90-Day Rat Feeding Study with Grain from Maize Containing Event DP-915635-4(개발사, 2020)
46. Comparison of the Amino Acid Sequence of the IPD079Ea Protein to the Amino Acid Sequences of Known and Putative Protein Allergens(개발사, 2020)
47. Comparison of the Amino Acid Sequence of the PAT Protein to the Amino Acid Sequences of Known and Putative Protein Allergens(개발사, 2020)
48. Comparison of the Amino Acid Sequence of the PMI Protein to the Amino Acid Sequences of Known and Putative Protein Allergens(개발사, 2020)
49. 한국보건산업진흥원, 2016 국민건강영양통계 (<https://www.khidi.or.kr/nutristat>)
50. 한국농촌경제연구원, 2016 식품수급표('17) (<https://www.krei.re.kr>)
51. Nutrient Composition of an Herbicide-Treated Maize Line Containing Event DP-915635-4: U.S. and Canada Test Sites(개발사, 2019)
52. Nutritional Equivalency Study of Maize Grain DP-915635-4 — Poultry Feeding Study(개발사, 2020)
53. OECD (1999) Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. Organisation for Economic Co-operation and Development, ENV/JM/MONO(99)13