유전자변형 콩 GMB151
안전성 심사 결과 보고서

2023. 6. 30.

신소재식품과

<차 례>

I. 요약 ····· 1
II. 심사 경위 ····· 2
III. 심사 경과 ····· 2
IV. 심사 방법 ····· 2
V. 심사 신청 자료 검토 ····· 2
1. 유전자변형 농축수산물의 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 ····· 3
3. 공여체 ····· 4
가. 분류학적 특성 ····· 4
나. 안전한 식경험의 유무, 식품용 이외의 노출 경로 ····· 4
다. 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성 ····· 4
4. 유전자변형 ····· 4
가. 형질전환과정에 대한 정보 ····· 4
나. 도입 유전자에 대한 정보 ····· 6
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. 심사신청 자료 검토 결과 ····· 14
7. 기타 ····· 14
[참고문헌] ····· 15
[첨부] ····· 18

유전자변형 콩 GMB151
안전성 심사 결과 보고서

I. 요약

바스프(BASF)는 해충저항성 및 제초제내성을 나타내는 유전자변형 콩 GMB151에 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 GMB151는 *Bacillus thuringiensis*(*Bt*) 유래 *cry14Ab-1.b* 유전자 도입으로 해충저항성 및 *Pseudomonas fluorescens* 유래 변형된 *hppdPf-4Pa* 유전자 도입으로 HPPD 저해 제초제(아이소자플루톨 등) 내성을 나타내며, ('20)호주/뉴질랜드, ('21)캐나다, ('22)EU, 일본 등에서 승인되었다.

안전성 확인을 위해 숙주, 공여체, 유전자변형 과정, GMB151의 특성에 관한 자료를 제출받아 검토한 결과, 식품용으로 이용시 안전성 문제를 유발하지 않는 것으로 확인되었다.

GMB151 콩에 도입된 *cry14Ab-1.b* 및 *hppdPf-4Pa* 유전자는 차세대 염기서열 분석(NGS)자료를 통해 GMB151에서 안정적으로 유지되는 것으로 확인되었다.

Cry14Ab-1 및 HPPD-4 단백질에 대해 독소 단백질 데이터베이스('18)를 이용하여 기존에 알려진 독소와 아미노산 서열 유사성을 비교한 자료를 검토한 결과, 상동성은 없는 것으로 확인되었고, 단회투여독성 및 90일 반복투여독성 평가자료를 검토한 결과, 독성이 없는 것으로 확인되었다.

또한, Cry14Ab-1 및 HPPD-4 단백질에 대해 알레르겐 데이터베이스('18)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 GMB151과 비유전자변형(non-GM) 대조군 콩의 주요영양성분, 미량영양성분, 항영양소 등의 함량을 비교한 결과, 유의한 차이가 없었으며, 육계(broiler)를 대상으로 GMB151과 대조군 콩을 42일간 급이 시험한 결과, 영양성에 차이가 없는 것으로 확인되었다.

따라서, 심사위원회는 유전자변형 콩 GMB151에 대해 지금까지 식품으로 섭취해온 콩과 비교하여 안전성에 문제가 없는 것으로 결론 내렸다.

Ⅱ. 심사경위

○ 한국바스프(주)는 해충저항성 및 제초제내성을 나타내는 유전자변형 콩 GMB151을 식품위생법 제18조에 따른 안전성 심사를 받기 위하여 2019년 12월 19일 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

○ 심사대상 품목

대상품목	신청자	개발자
유전자변형 콩 GMB151	한국바스프(주)	BASF Agricultural Solutions Seed US LLC

○ 심사경과

- 2019년 12월 19일 : 안전성 심사 신청
- 2020년 9월 15일 ~ 22일 : 1차 안전성 심사위원회(서면)
- 2022년 6월 21일 : 제2차 심사위원회
- 2022년 12월 20일 : 제3차 심사위원회

Ⅳ. 심사방법

○ 본 품목과 관련하여 심사 신청된 유전자변형농축수산물이 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

○ 심사 신청된 식품의 개요

- 한국바스프(주)가 심사 신청한 유전자변형 콩 GMB151은 Cry14Ab-1 단백질을 발현하여 해충저항성과 HPPD-4 단백질을 발현하여 제초제내성을 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 콩 GMB151은 *cry14Ab-1.b* 유전자에 의해 Cry14Ab-1 단백질이 발현되어 선충(nematode)* 저항성 및 *hppdPf-4Pa* 유전자에 의해 HPPD-4 단백질이 발현되어 아이소자플루톨(isoxaflutole) 제초제내성을 나타낸다. 그 밖의 재배 및 이용 방법은 일반 콩과 동일하다.

* 콩 시스트선충(Heterodera glycines) 및 뿌리썩이선충(Pratylenchus)

2. 숙주

가. 분류학적 특성

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

나. 재배·사육 및 품종개량의 역사

- 콩은 기원전 11세기경 중국에서 처음 재배된 것으로 추정되며, 15~17세기 콩은 일본, 인도네시아 등의 국가에 도입되었고, 유럽과 미국으로 서서히 전파되었다. 중국에서 주로 재배된 품종은 황색 종자의 *Glycine max*와 작은 검은색 종자의 *Glycine soja*인 것으로 알려져 있다.[1),2)]
- 2018~2019년, 세계 콩 총생산량은 3억 톤 이상으로 예측되었고, 2016년 주요 수출국은 미국과 브라질이며, 주요 수입국은 중국, 네덜란드, 멕시코이다.[3)]

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

- 콩에는 올리고당, 피트산, 트립신저해제, 렉틴 등이 함유되어 있으나 가공·조리 등을 통해 항영양소의 영향이 감소된다. 올리고당은 다른 콩이나 해바라기씨 등에 함유된 수준과 유사하고, 피트산은 발아되는 종자의 효소에 의해 가수분해된다. 또한, 트립신 저해제 및 렉틴의 경우, 열처리에 의해 불활성화되는 것으로 알려져 있다.[4)~8)]
- 콩은 전체 식품 알레르기의 원인이 되는 8대 알레르기성 식품 중 하나이지만 알레르기성 식품군 중에서 알레르기성이 약하며 심각한 반응은 드물게 나타난다.

라. 안전한 식경험의 유무

- 콩은 식품과 사료용으로 종자 전체 또는 대두유와 박을 분리한 형태가 이용된다. 두부, 된장, 간장, 콩가루 등으로 가공되어 섭취되고, 식용 대두유는 가장 많이 생산·소비되는 식물성 유지로 베이킹, 튀김 등에 사용된다. 또한, 대두박은 가축의 중요한 단백질 공급원으로 이용된다.[9),10)]

3. 공여체

가. 분류학적 특성

1) *cry14Ab-1.b* 유전자
- 과(Family): *Bacillaceae*
- 속(Genus): *Bacillus*
- 종(Species): *B. thuringiensis*

2) *hppdPf-4Pa* 유전자
- 과(Family): *Pseudomonadaceae*
- 속(Genus): *Pseudomonas*
- 종(Species): *P. fluorescens*
- 균주(Strain): A32

나. 안전한 식경험의 유무, 식품용 이외의 노출 경로

- *Bacillus thuringiensis(Bt)*는 그람양성 세균으로 토양, 물 등의 다양한 자연환경에서 발견되며, 국제적인 미생물 분류 기준에 의해 비병원성 세균으로 분류된다.[11)]
- *Pseudomonas fluorescens*는 그람음성 세균으로 토양 등의 환경에 존재하며, 농업용이나 치료용으로 이용된다.[12)]

다. 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성

- *Bt*는 오랜 기간 생물농약으로 사용되어 왔다. 살충효과는 Cry(crystal, 결정성) 내독소 단백질에 의해 나타나며, 농작물의 특정 해충군에 특이적으로 작용한다. 수년간 연구에 따르면 *Bt*는 사람이나 포유류에 무해한 것으로 나타났다.[11),13)]
- *P. fluorescens*는 농업 분야에서 안전하게 사용되어 왔다.[12)] HPPD 단백질은 동·식물에 존재하고, 독성이나 알레르기성이 있는 것으로 알려진 바 없다.

4. 유전자변형

가. 형질전환 과정에 대한 정보

1) 형질전환 방법

- 유전자변형 콩 GMB151은 숙주(Thorne 품종) 절편체(explant)와 벡터 pSZ8832를 이용한 아그로박테리움(Agrobacterium)법으로 형질전환되었다. 절편체는 LBA4404 계통 아그로박테리움과 배양된 후, 형질전환체 선발용 배지로 옮겨졌다. 형질전환된 유묘(shoot)는 성장을 위한 배지와 뿌리 분화용 배지로 옮겨졌다. 뿌리가 분화된 식물은 온실로 옮겨져 종자 생산이 이루어졌다.[14),15),16)]

2) 벡터에 대한 정보

가) 기원

- 형질전환 벡터 pSZ8832는 pGSC1700으로부터 유도된 식물 형질전환 벡터로 T-DNA 부분에 두 개의 유전자 발현 카세트를 포함한다. *cry14Ab-1.b* 발현 카세트는 Cry14Ab-1 단백질을 발현하고, *hppdPf-4Pa* 발현 카세트는 변형된 HPPD-4(4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase)* 단백질을 발현한다(그림 1).[14),15)]

  * 변형(아미노산 치환) : E335P, G336W, K339A, A340Q

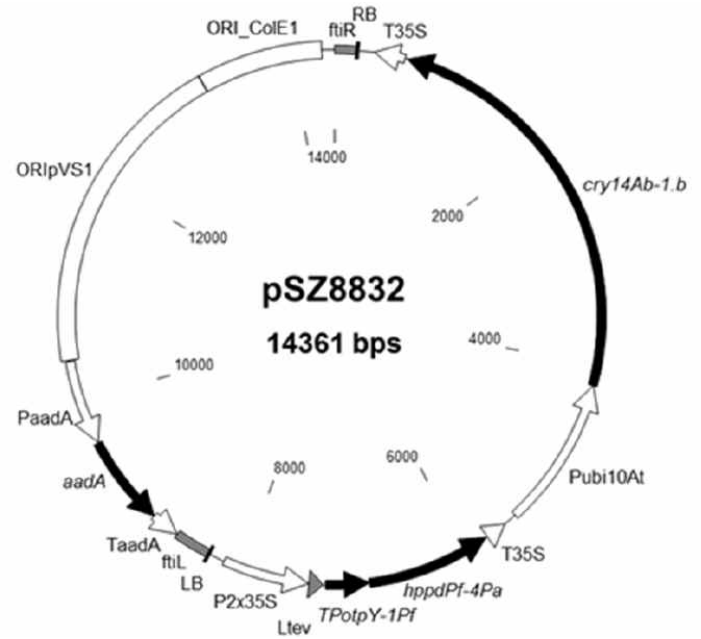


그림 1. 벡터 pSZ8832

나) 숙주에서의 확인

- 벡터 pSZ8832의 크기는 14,361 bp이며, 염기서열 분석[17)]으로 T-DNA 서열 및 주변 염기서열이 확인되었다. 차세대 염기서열분석(Next Generation Sequencing, NGS)[18)]으로 단일 사본의 T-DNA가 삽입되었음이 확인되었다.

다) 숙주에서의 기능

- *cry14Ab-1.b* 유전자는 Cry14Ab-1 단백질을 발현하여 선충에 대한 해충저항성을 나타낸다. *hppdPf-4Pa* 유전자는 변형된 HPPD-4 단백질을 발현하여 아이소자플루톨 등 HPPD 저해 제초제에 대한 내성을 나타낸다.

라) 제한효소 절단 지도

- 차세대 염기서열 분석법(NGS)이 이용되어 제한효소는 사용되지 않았다.

마) 유해염기 서열 유무

- 4. 나. 2) 벡터 내 유전자 크기 및 명칭에서 제시된 바와 같이 벡터 pSZ8832 내 유해염기서열은 존재하지 않는 것으로 나타났다.[15)]

바) 전달성에 관한 정보

- 벡터 pSZ8832는 숙주 이외의 다른 생물체로 스스로 이동될 수 있는 전달성과 관련된 유전자를 포함하고 있지 않다.

3) 중간숙주에 대한 정보

- 비병원성 아그로박테리움 계통인 LBA4404가 식물체 형질전환에 사용되었다.[16)]

나. 도입유전자에 대한 정보

1) 구성 유전자의 특성, 염기서열, 제한효소 절단지도

가) 선발표지유전자

- *hppdPf-4Pa* 유전자에 의한 HPPD 저해 제초제(아이소자플루톨) 내성이 이용되었다.

나) 조절인자

- *cry14Ab-1.b* 유전자 : 애기장대(*Arabidopsis thaliana*) 유래 *Pubi10At* 프로모터와 컬리플라워 모자이크 바이러스(Cauliflower Mosaic Virus, CaMV) 유래 35S 터미네이터에 의해 조절된다.[19)]
- *hppdPf-4Pa* 유전자 : CaMV 유래 P2x35S 프로모터와 35S 터미네이터에 의해 조절된다.[20)]

다) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

- 제시된 조절인자 이외의 T-DNA 기능에 영향을 미치는 인자는 사용되지 않았다.

2) 크기 및 명칭

- *cry14Ab-1.b* 유전자의 길이는 3558 bp이고, *hppdPf-4Pa* 유전자의 길이는 1077 bp이다. 도입된 구성 유전자의 명칭은 표 1에 제시되어있다.

표 1. 벡터 pSZ8832의 주요 구성 요소

명칭	벡터 내 위치	유래 및 기능
RB	190 - 214	*Agrobacterium tumefaciens* 유래 T-DNA 우측 경계(Right border)
	215 - 344	개재서열(intervening sequence) : 클로닝 사용된 서열
T35S	345 - 614	Cauliflower mosaic virus(CaMV) *35S* 유전자의 3′ 비번역부위(UTR, untranslated region) 서열
	615 - 625	개재서열
cry14Ab-1.b	626 - 4183	*Bacillus thuringiensis* 유래 *cry14Ab-1.b* 유전자의 코딩서열
Pubi10At	4184 - 5490	*Arabidopsis thaliana* 유래 *ubiquitin-10* 유전자의 프로모터 서열

	5491 - 5595	개재서열
T35S	5596 - 5790	CaMV *35S* 유전자의 3′ UTR 서열
	5791 - 5802	개재서열
hppdPf-4Pa	5803 - 6879	*Pseudomonas fluorescens* 유래 변형된 *HPPD*(4-hydroxyphenyl pyruvate dioxygenase) 유전자의 코딩서열
TPotpY-1Pf	6880 - 7251	*Zea mays* 및 *Helianthus annuus* 유래 RuBisCO small subunit 유전자의 최적화된 수송 펩티드 유도체의 코딩서열
	7252 - 7272	개재서열
Ltev	7273 - 7399	Tobacco Etch Virus genomic RNA의 Leader 서열
	7400 - 7405	개재서열
P2x35S	7406 - 8155	CaMV 35S 유전자의 2x 프로모터 서열
	8156 - 8282	개재서열
LB	8283 - 8307	*A. tumefaciens* 유래 T-DNA 좌측 경계(Left border)

3) 완성된 발현 벡터내의 유전자 염기서열의 위치 및 방향성

- 벡터 pSZ8832의 구성요소 위치와 방향성은 제시되었다.[15)]

4) 구성 유전자의 기능

- *cry14Ab-1.b* 유전자는 Cry14Ab-1 단백질을 암호화하며, 해충에 대한 저항성을 부여한다.
- *hppdPf-4Pa* 유전자는 HPPD-4 단백질을 암호화하며, 야생형 HPPD와 비교하여 4개 아미노산(E335P, G336W, K339A, A340Q)이 치환된 단백질은 HPPD 저해 제초제(아이소자플루톨 등)에 대한 내성을 부여한다.

5) 유해염기서열의 유무

- 삽입 유전자 및 조절인자의 특성이 밝혀져 있으며, 유해 염기서열을 포함하지 않는다.

6) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현 가능성

- GMB151 콩의 삽입 유전자 서열에 대해 외래전사해독프레임(ORF) 유무가 확인되었고, 동정된 ORF 서열에 대한 알려진 독소 및 알레르겐 서열과 상동성 검색이 수행되었다. NCBI 단백질 데이터베이스('18)[21)]를 이용하여 분석한 결과, 독소와 유의한 서열 상동성은 확인되지 않았다. COMPARE 알레르겐 데이터베이스('18)[22)]를 이용하여 분석한 결과, 알레르겐과 80개 이상의 아미노산 잔기 중 35% 이상의 상동성은 관찰되지 않았다. 다만, 한 개의 알레르겐 서열과 8개 연속한 아미노산 일치(Cas s 5, SSPTTTTS)가 확인되었으나 전체서열 분석에서는 확인되지 않았고, 번역 시작코돈과 RNA 스플라이싱 부위의 부재로 발현 가능성이 없으므로 ORF 관련 잠재적 독성 및 알레르기성은 관찰되지 않았다.[23)]

7) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입

- GMB151 내 벡터 backbone 서열의 혼입 여부가 차세대 염기서열 분석(NGS) 및 접합부

염기서열 분석(Junction Sequence Analysis, JSA)[18]으로 확인되었다. GMB151에서는 두 개의 접합부(junction)가 특정되었고, 접합부는 벡터 backbone 위치에서 발견되지 않았다.

- 인접하는 숙주 게놈 서열을 특정하기 위한 BLAST 검색 결과, 삽입 유전자와 3′ 주변 염기서열 사이에서 filler 서열(39 bp)이 확인되었으나 삽입부와 식물 게놈 서열 사이의 접합부에서 filler 서열의 삽입은 아그로박테리움 매개 형질전환에서 발생 될 수 있음이 제시되었다. 해당 서열 크기는 NGS/JSA 분석의 검출한계(30 bp) 미만으로 형질전환 벡터(pSZ8832) 유래 ORIpVS1 서열(21bp) 및 3′ 주변 게놈 서열(17bp)과 일치하였다. 또한, filler 서열이 포함된 ORF 분석 결과, 독성이나 알레르기성과 유의한 서열 상동성은 확인되지 않았다.[23]

5. 유전자변형농축수산물의 특성

가. 유전자변형농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보

1) 유전자변형농축수산물의 게놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

- *cry14Ab-1.b* 유전자는 Cry14Ab-1 단백질을 암호화하여 해충저항성을 부여하고, *hppdPf-4Pa* 유전자는 HPPD-4 단백질을 암호화하여 HPPD 저해 제초제내성을 부여한다.

2) 삽입부위의 수

- NGS 분석[18] 결과, GMB151은 *cry14Ab-1.b* 및 *hppdPf-4Pa* 유전자 발현 카세트를 포함하는 단일 사본의 T-DNA 서열이 하나의 유전자좌에 삽입된 것으로 확인되었다.

3) 각 삽입부위의 삽입유전자의 구성

가) 복제수, 염기서열

- NGS[18] 및 염기서열[17] 분석으로 단일 사본의 T-DNA가 하나의 유전자좌에 도입되었고, 도입된 염기서열은 좌측 경계(LB) 및 P2x35S 프로모터의 5′ 부분 결실을 제외하고 벡터 pSZ8832 내 T-DNA 서열과 동일한 것으로 확인되었다.

나) 이미 알려져 있는 독소나 항영양소를 암호화하는 유전자와의 상동성

- Cry14Ab-1 및 HPPD-4 단백질의 아미노산 서열을 NCBI 단백질 데이터베이스('18)[21]와 UniProt 기반 독소 데이터베이스('18)[24]를 이용하여 분석한 결과, 독소 또는 항영양소와 유의한 서열 상동성이 나타나지 않았다.[25],[26]

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

- GMB151 콩의 삽입 유전자 및 인접 염기서열을 대상으로 외래전사해독프레임(ORF)이 동정되었고, ORF 아미노산 서열에 대해 독소 및 알레르겐 데이터베이스를 이용하여 분석한 결과, 독소 단백질과 서열 유사성은 확인되지 않았다. 1개의 알레르겐 서열과 8개 연속하는 아미노산 일치(Cas s 5, SSPTTTTS)가 확인되었으나 80개 이상의 아미노산 잔기 중 35% 이상의 상동성은 관찰되지 않았으며, 이 ORF의 발현 가능성은 없으므로 생물학적으로 유의한 상동성은 아닌 것으로 확인되었다.[23]

5) 안정성에 관한 사항

가) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

- NGS[18] 및 분리비[27] 분석 결과, 삽입 유전자가 5개 세대에서 안정적으로 유지되며, 멘델 유전법칙에 따라 분리 및 유전되어 단일 위치에 하나의 사본이 삽입된 것으로 확인되었다.

나) 복수세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- GMB151 콩의 복수 세대(T4, T6 및 BC2F3)에서 단백질 발현량 확인을 위해 잎, 뿌리 및 알곡 시료가 수집되었고, 효소면역측정법(ELISA) 분석[29]이 수행되었다.
- (Cry14Ab-1 단백질) 발현량은 잎에서 86.66~265.99 µg/g dw(dry weight), 뿌리에서 17.25~87.54 µg/g dw, 알곡에서 90.0~149.34 µg/g dw인 것으로 확인되었다.
- (HPPD-4 단백질) 발현량은 잎에서 52.95~162.33 µg/g dw, 뿌리에서 10.62~25.17 µg/g dw, 알곡에서 1.26~3.38 µg/g dw인 것으로 확인되었다.

나. 유전자산물에 관한 정보

1) 유전자산물의 화학적 성질

- Cry14Ab-1 단백질은 1,185개 아미노산으로 구성되어 있으며, 분자량은 131.5 kDa이다.
- HPPD-4 단백질은 358개 아미노산으로 구성되어 있으며, 분자량은 40.3 kDa이다.

2) 유전자산물의 기능

- *Bt* Cry 단백질은 곤충의 중장에서 분해되고 장벽의 수용체에 결합하여 곤충 장 세포의 사멸을 유도한다. Cry14Ab-1은 Cry14Aa1과 87%의 서열 동일성을 나타내며, 선충에 특이적인 활성을 나타낸다.[29),30),31]
- 아이소자플루톨(isoxaflutole) 제초제에 의해 식물체 내 HPPD 효소가 저해되면, 카로티노이드 생합성 경로 차단, 광합성 저해, 백화현상 등에 의해 식물체가 고사하게 된다. GMB151에서 발현되는 HPPD-4 단백질은 아미노산 치환(E335P, G336W, K339A, A340Q)으로 HPPD 저해제에 대한 결합력이 감소하여 제초제내성을 나타낸다.[32]

3) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

- 당화 분석 결과, GMB151 유래 Cry14Ab-1 및 HPPD-4 단백질에서 당화 반응이 관찰되지 않았고, 번역 후 변이가 일어나지 않은 것으로 확인되었다.[33),34]

4) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- (Cry14Ab-1 단백질) SDS-PAGE 및 Western blot 분석 결과, GMB151 콩 유래 Cry14Ab-1 단백질은 예상된 분자량(131.5 kDa) 및 특이적 항체에 대한 면역반응성이 관찰되었고, 당화 반응은 관찰되지 않았다. 펩타이드 맵핑 분석으로 GMB151 유래 단백질의 아미노산 서열(약 71%)이 동정되었고, N-말단 서열 분석으로 1~13번째 추론된 아미노산

서열이 확인되었다. 또한, 생물활성 분석으로 GMB151 및 미생물 유래 Cry14Ab-1 단백질의 기능 활성(ED_{50})*이 동등한 것으로 확인되었다.[33)]

* 곤충의 생장을 50% 저해하는데 요구되는 유효량(Effective Dose)

- (HPPD-4 단백질) SDS-PAGE 및 Western blot 분석 결과, GMB151 콩 유래 HPPD-4 단백질은 예상된 분자량(40.3 kDa) 및 특이적 항체에 대한 면역반응성이 관찰되었고, 당화 반응은 관찰되지 않았다. 펩타이드 맵핑 분석으로 GMB151 유래 단백질의 아미노산 서열(약 73%)이 동정되었고, N-말단 서열 분석으로 메티오닌이 제거된 2~11번째 아미노산 서열 또는 N-말단에 시스테인 잔기가 포함된 서열이 확인되었다. 또한, LC-MS/MS를 이용한 GMB151 및 미생물 유래 HPPD-4 단백질의 기능 활성 분석으로 두 단백질의 활성(효소 당 생성물 형성 수준)이 유사한 것으로 확인되었다.[34)]

5) 새로운 특성의 표현형

- Cry14Ab-1 단백질은 해충저항성을 나타내고, HPPD-4 단백질은 HPPD 저해 제초제 내성을 나타낸다.

6) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- 2016년 미국의 3개 포장시험 장소에서 재배된 4개 반복구로부터 잎, 뿌리, 꽃, 알곡 등의 시료가 수집되었고, 효소면역측정법(ELISA)으로 단백질 발현량이 분석[35)]되었다.
- (Cry14Ab-1 단백질) GMB151 콩 조직 중 단백질 발현량은 잎에서 31.3~279.73 µg/g dw, 뿌리에서 0.75~40.91 µg/g dw, 꽃에서 30.71~72.1 µg/g dw, 알곡에서 15.17~144.81 µg/g dw인 것으로 확인되었다.
- (HPPD-4 단백질) GMB151 콩 조직 중 단백질 발현량은 잎에서 34.57~1028.76 µg/g dw, 뿌리에서 9.58~138.82 µg/g dw, 꽃에서 39.59~121.6 µg/g dw, 알곡에서 1.31~12.71 µg/g dw인 것으로 확인되었다.

다. 독성

1) 유전자산물이 단백질인 경우

가) 발현단백질의 안전한 식경험의 유무

- *Bt* Cry 단백질은 오랜 기간 이용된 생물 농약으로 비표적 동물 연구 결과, 생물 농약이 사람과 동물에 미치는 위험성은 낮은 것으로 보고되었다.[13),30),36),37)]
- *P. fluorescens* 유래 HPPD 단백질은 토양 등의 자연환경이나 일반 식품에 존재하며, 농업, 환경 정화 등에 이용되고 있다. 또한, 일반적으로 사람과 동물에 대해 알레르기성이나 독성이 보고된 바 없다.[12)]

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

- Cry14Ab-1 및 HPPD-4 단백질의 아미노산 서열에 대해 이미 알려진 독소 단백질과 서열 유사성 확인을 위해 NCBI 단백질 데이터베이스('18)[21] 및 UniProt 기반 독소 데이터베이스('18)[24]를 이용하여 분석한 결과, 독소 단백질과 유의한 서열 유사성은 없는 것으로 확인되었다.[25),26)]

다) 발현단백질의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- (Cry14Ab-1 단백질) SDS-PAGE 및 Western blot 분석 결과, Cry14Ab-1 단백질은 인공위액에서 30초 이내 완전히 분해되었고, 인공장액에서 60분 동안 부분적으로 분해되었다. 또한, 열처리(75°C, 30분)로 Cry14Ab-1 단백질이 안정성을 잃으며, 95°C에서 단백질이 분해되는 것으로 관찰되었다.[38),39),40)]
- (HPPD-4 단백질) SDS-PAGE 및 Western blot 분석 결과, HPPD-4 단백질은 인공위액에서 30초 이내 분해되었고, 인공장액에서 10분 이내 분해되었다. 또한, 55°C 이상의 열처리에 의해 HPPD-4 단백질이 변성된 것으로 관찰되었다.[41),42),43)]

라) 발현단백질의 단회투여독성

(1) 단회투여독성

- C57BL/6J 마우스(암수 각 6마리/군)를 이용하여 위관영양법(oral gavage)으로 Cry14Ab-1 단백질을 2,000 mg/kg bw 용량 투여하고 14일 동안 관찰한 결과, 폐사율, 체중, 임상증상, 육안 병리 검사 등에 미치는 영향은 없었다.[44)]
- C57BL/6J 마우스(암수 각 10마리/군)를 이용하여 위관영양법으로 HPPD-4 단백질을 2,000 mg/ kg bw 용량 투여하고 14일 동안 관찰한 결과, 폐사율, 체중, 임상 증상, 육안병리 검사 등에 미치는 영향은 없었다.[45)]

(2) 90일 반복투여독성

- SD 랫드(암수 각 16마리/군)를 대상으로 90일간 GMB151 대두박이 포함된 사료(30%)를 급이한 처리군과 대조군을 비교한 결과, 폐사율, 체중, 사료섭취량, 안검사, 임상 증상(행동·외형 등), 요검사, 혈액학, 혈액 생화학, 육안병리검사, 장기 중량, 조직병리검사에서 시험물질과 관련된 부정적 영향이 관찰되지 않았다.[46)]

라. 알레르기성

1) 유전자산물이 알레르겐으로 알려져 있는지 여부

- Cry14Ab-1 및 HPPD-4 단백질은 알레르기성이 있는 것으로 보고된 사례는 없다.

2) 유전자산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 인공위·장액 조건에서 Cry14Ab-1 및 HPPD-4 단백질의 소화성을 평가한 결과, 발현단백질의 분해가 관찰되었다. 또한, 열처리에 의해 발현 단백질이 변성되고 안정성이 소실되는 것으로 관찰되었다.[38)~43)]

3) 유전자산물 중 이미 알려져 있는 알레르겐과의 상동성

- Cry14Ab-1 및 HPPD-4 단백질의 아미노산 서열과 이미 알려져 있는 알레르겐의 아미노산 서열을 COMPARE 알레르겐 데이터베이스('18)[22]를 이용하여 비교한 결과, 80개 이상의 아미노산 잔기 중 35% 이상의 상동성 및 연속하는 8개의 아미노산 잔기와 일치하는 서열의 상동성이 관찰되지 않았다.[25),26)]

4) 유전자산물이 1일 단백질섭취량의 유의한 양을 차지하고 있는지 여부

- 2016년 미국에서 재배된 GMB151 콩 알곡 중 Cry14Ab-1 및 HPPD-4 단백질의 평균 발현량은 각각 73.93 및 3.97 μg/g fw이다.
- 국민건강영양조사(KHIDI, '17)에 따르면 한국인 1인 1일당 콩 섭취량 예상치는 32 g 이며, 정제된 대두유의 단백질 함량은 최소정량한계 이하로 만성 식이노출량이 적용되지 않았다. 국내에서 소비된 모든 콩류 식품이 GMB151 콩으로부터 확보된 식품이라고 가정할 때, Cry14Ab-1 및 HPPD-4 단백질의 1인 1일당 만성 식이노출량은 각각 $2.36x10^3$ 및 $1.27x10^2$ μg인 것으로 추정되었다. 또한, 한국인의 1인 1일당 평균 단백질 섭취량은 73.4 g으로 1일 총단백질 섭취량 중 Cry14Ab-1 및 HPPD-4 단백질이 차지할 수 있는 최대 비율(%)은 각각 0.00322% 및 0.000173% 수준으로 1일 총단백질 섭취량에 비해 극히 미량인 것으로 확인되었다.

마. 숙주와의 차이

- 2017년 미국 8개 포장시험 장소에서 재배된 GMB151, 비변형 대조군, 비변형 상업종 참조군으로부터 알곡을 수확하여 분석하였다. 포장은 시험장소당 4개 반복구의 난괴법(randomized complete block design)*으로 배열하였다.[47)]

  * 난괴법 : 모든 처리가 한 블록 안에 포함되도록 하고, 블록의 시험구를 무작위로 배치하는 시험계획법

- OECD 권고항목[Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Soybean('12)]에 기반하여 선정된 성분 중, 75개 성분에 대해 통계분석이 실시되었고, 17개 성분[지방산 16종(C8:0, C10:0, C12:0, C14:1, C15:0, C15:1, C18:4, C19:0, C20:2, C20:3, C20:4, C20:5, C22:1, C22:5(N3), C22:5(N6), C22:6) 및 나트륨]은 분석치가 정량한계(LOQ) 미만으로 통계분석에서 제외되었다. 통계학적으로 유의적 차이가 나타난 성분은 참조범위(reference range), 허용범위(tolerance interval) 또는 문헌범위[48)]와 비교되었다.

1) 주요영양성분

(1) 주요영양성분

- 회분, 조지방, 산성세제불용성섬유(ADF) 및 총식이섬유(TDF)의 함량에서 통계적 유의차가 관찰되지 않았다. 수분, 탄수화물, 조단백질 및 중성세제불용성섬유(NDF)의 함량에서 통계적 유의차가 나타났으나, 참조범위 또는 허용범위 내에 포함되었다.

(2) 아미노산

- 분석한 아미노산 성분(18개) 모두 통계적 유의차가 나타나지 않았다.

(3) 지방산

- 분석한 지방산 성분(13개) 중 팔미트산(C16:0), 헵타데센산(C17:1), 올레산(C18:1), 리놀레산(C18:2), 에이코센산(C20:1), 베헨산(C22:0) 및 리그노세르산(C24:0)의 함량에서 통계적 유의차가 나타났으나, 참조범위, 허용범위 또는 문헌범위 내에 포함되었다.

2) 미량영양성분

(1) 무기질

- 분석한 무기질 성분(8개) 중, 칼슘, 구리, 아연의 함량에서 통계적 유의차가 나타났으나, 참조범위 내에 포함되었다.

(2) 비타민

- 분석한 비타민 성분(8개) 중, 비타민B1, 비타민B5, 비타민B9의 함량에서 통계적 유의차가 나타났으나, 참조범위 또는 허용범위 내에 포함되었다.

3) 내재성독소

- 총다이드제인, 총제니스테인, 총글리시테인, 총이소플라본 및 피틴산의 함량에서 통계적 유의차가 나타났으나, 참조범위 또는 허용범위 내에 포함되었다.

4) 항영양소

- 렉틴, 라피노스, 스타키오스 및 트립신저해제의 함량에서 통계적 유의차가 관찰되지 않았다. 피틴산의 함량에서 통계적 유의차가 나타났으나, 참조범위 및 허용범위 내에 포함되었다.

5) 알레르기 유발성분

- Gly m 8(2S 알부민) 및 Gly m Bd 30k 함량에서 통계적 유의차가 나타났으나 참조범위 또는 허용범위 내에 포함되었다. Kunitz 트립신저해제 1 함량에서 통계적 유의차가 나타났으나, 8개 포장(4개 반복구) 중 한 지역의 하나의 시료에서 관찰된 것으로 전체 포장에 걸쳐 관찰된 양상이 아니며, 그 외의 값은 허용범위 내에 포함되었다.

6) 삽입된 유전자산물의 대사산물

- 관행종과 비교하여 GMB151에서 의도된 기능(해충저항성 및 제초제내성) 외 구성성분에 추가적이거나 의도되지 않은 변화가 관찰되지 않았다.

7) 영양성

- 육계(Ross 308 계통, 암수 각 70마리)를 이용하여 42일간 GMB151 성장 단계별 대두박 배합(33, 36, 40%) 사료를 급이한 결과, 대조군 또는 참조군 급이군과 차이가 없었고, 이에 영양성에 차이가 없는 것으로 확인되었다.[49)]

바. 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향

- Cry 단백질은 특정 표적 해충에 대한 작용 특이성을 나타내며, HPPD 단백질은 미생물, 동·식물 등의 자연환경에 흔히 존재하며, 단백질과 관련된 독성이나 알레르기성이 보고된 바 없다. 따라서, GMB151 콩에서 발현되는 Cry14Ab-1 및 HPPD-4 단백질은 영양성분 분석 결과 등을 바탕으로 내재성 대사경로에 영향을 줄 것으로 간주되지 않는다.

사. 식품용으로서의 저장 및 가공에 관한 설명

- GMB151 콩의 저장 및 가공은 관행종 콩의 경우와 동일하다.

아. 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황

- ('20)호주/뉴질랜드, ('21)캐나다, ('22)EU, 일본 등에서 승인되었다.

6. 심사신청 자료 검토 결과

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 콩과 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

7. 기타

가. 「유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률」에 따라 유전자변형 콩 GMB151의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성은 농식품부(농촌진흥청), 환경부(국립생태원), 해양수산부(국립수산과학원)에서 심사 완료하였다.

나. 유전자변형 콩 GMB151의 정성 및 정량 시험법에 대한 검토가 완료되었다.

다. 유전자변형 콩 GMB151의 안전성 심사 결과보고서(안)을 식품의약품안전처 누리집 및 정책메일서비스(PMS)에 '23년 5월 23일 ~ '23년 6월 21일까지 공개하여 의견을 수렴한 결과, 접수된 의견은 없었다.

[참고문헌]

1. Joshi and Nguyen et al., (2013) Genomic differences between cultivated soybean, *G. max* and its wild relative *G. soja*, BMC Genomics, 14 (Suppl 1), S5.
2. Chae and Lee et al., (2015) Identification of environmentally stable wild soybean genotypes with high alpha-linolenic acid concentration, Crop Science, Vol 55, 1629-1636.
3. FAOSTAT (2018) Food and Agriculture Organization of the United States, http:// www.fao.org/faostat/en/#home, accessed in June 2018.
4. Maga (1982) Phytate: Its Chemistry, Occurrence, Food Interactions, Nutritional Significance, and Methods of Analysis. J. Agric. And Food Chem. Vol 30, 1-9.
5. Ravindran et al., (1994) Total and phytate phosphorous contents of various foods and feedstuffs of plant origin. Food chemistry. Vol 50, 133-136.
6. OECD (2012) Revised Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]: Key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients, Toxicants and Allergens, ENV/JM/MONO(2012)24.
7. Reddy and Pierson (1994) Reduction in antinutritional and toxic components in plant foods by fermentation. Food Research International 27: 281-285.
8. Liener (1994) Implications of Antinutritional Components in Soybean Foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 34(l): 31-67.
9. USDA-ARS, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, National Nutrient Database for Standard Reference Legacy Release, https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list?home=true, accessed in June 2018.
10. US Soy, https://ussoy.org/uses-for-soybeans/, accessed in June 2018.
11. OECD (2007) Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology No. 42 - Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* – derived insect control proteins. Organisation for Economic Co-Operation and Development, Paris, France. Pages: 109.
12. OECD (1997) Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology No.6 – Consensus document on information used in the assessment of environmental applications involving *Pseudomonas*. Pages: 110.
13. Betz et al., (2000) Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis* protected plants to control insect pests. Regulatory Tox. Pharm. 32: 156-173.
14. Cornelissen and Vandewiele (1989) Nuclear transcriptional activity of the tobacco plastid psbA promoter. Nucleic Acids Research. 17:19-25.

15. Description of vector pSZ8832 - amended report(개발사, 2018)

16. Hoekema et al., (1983) A binary plant vector strategy based on separation of vir- and T-region of the *Agrobacterium tumefaciens* Ti-plasmid. Nature. 303:179-180.

17. DNA sequence determination of the transgenic and insertion loci of GMB151 soybean(개발사, 2017)

18. Molecular characterization of GMB151 soybean by means of next-generation sequencing and junction sequence analysis(개발사, 2018)

19. Grefen et al., (2010) A ubiquitin-10 promoter-based vector set for fluorescent protein tagging facilitates temporal stability and native protein distribution in transient and stable expression studies. The Plant journal: for cell and molecular biology, 64(2), 355-365.

20. Kay et al., (1987) Duplication of CaMV 35S Promoter Sequences Creates a Strong Enhancer for Plant Genes. Science (New York), 236(4806), 1299-1302.

21. NCBI non-redundant database(https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)

22. COMprehensive Protein Allergen Resource(COMPARE) database (http://comparedatabase.org/)

23. GMB151 soybean - Identification of Open Reading Frames and homology search of sequences ≥30 amino acids to known allergens and toxins(개발사, 2018)

24. UniProtKB(http://www.uniprot.org/)

25. Cry14Ab-1 protein Amino acid sequence homology search with known allergens and known toxins(개발사, 2018)

26. HPPD-4 protein Amino acid sequence homology search with known allergens and known toxins(개발사, 2018)

27. GMB151 soybean - Inheritance of the insert over generations(개발사, 2018)

28. Protein expression analysis of Cry14Ab-1and HPPD-4 proteins in leaf, root and grain matrices over three generations of GMB151 soybean(개발사, 2017)

29. Palma et al., (2014) *Bacillus thuringiensis* toxins: An overview of their biocidal activity. Toxins. 6:3296-3325.

30. Koch et al., (2015) The food and environmental safety of *Bt* crops. Frontiers in Plant Science. 6:283.

31. Sanahuja et al. (2011) Bacillus thuringiensis: a century of research, development and commercial applications. Plant Biotechnology Journal. 9:283-300.

32. The crystal structures of *Zea mays* and arabidopsis 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (개발사, 2004)

33. Characterization of Cry14Ab-1 protein purified from GMB151 soybean and comparability with the bacterially-produced Cry14Ab-1 protein batch 1514_Cry14Ab-1(개발사, 2018)

34. Characterization of HPPD-4 protein purified from GMB151 soybean and comparability with the bacterially-produced HPPD-4 protein batch 1338_HPPD-4(개발사, 2018)

35. GMB151 Soybean – Expression of Cry14Ab-1 and HPPD-4 Proteins in Field Samples Grown in the USA during 2016(개발사, 2018)

36. McClintock et al., (1995) A comparative review of the mammalian toxicity of *Bacillus thuringiensis*-based pesticides

37. Rosenquist et al., (2005) Occurrence and significance of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* in ready-to-eat food

38. Cry14Ab-1 protein *In vitro* digestibility study in human simulated gastric fluid at pH 1.2(개발사, 2014)

39. Cry14Ab-1 protein *In vitro* digestibility study in human simulated intestinal fluid(개발사, 2014)

40. The Effect of Temperature on Cry14Ab-1 as Assessed by SDS-PAGE and Western Blot(개발사, 2015)

41. HPPD-4 protein *In vitro* digestibility study in human simulated gastric fluid at pH 1.2(개발사, 2014)

42. HPPD-4 protein *In vitro* digestibility study in human simulated intestinal fluid(개발사, 2014)

43. The Effect of Temperature on HPPD-4 as Assessed by SDS-PAGE and Western Blot(개발사, 2015)

44. Cry14Ab-1 protein Acute toxicity study by oral gavage in mice(개발사, 2016)

45. HPPD-4 protein Acute toxicity study by oral gavage in mice(개발사, 2016)

46. GMB151 Soybean 90-Day Toxicity Study in the Rat by Dietary Administration(개발사, 2018)

47. GMB151 Soybean – Composition and Endogenous Allergen Assessment of GMB151 Treated Soybean Grown in the USA during 2017(개발사, 2018)

48. International Life Sciences Institute(ILSI) Crop Composition Database(www.cropcomposition.org)

49. Broiler Chicken Feeding Study with GMB151 Soybean Meal(개발사, 2019)

[첨부] 영양성분 분석자료

1. 주요 영양성분

Parameter	Non-GM Counterpart (Entry A) Mean ± SD (Min–Max)	GMB151 Treated (Entry E) Mean ± SD (Min–Max)	Non-GM Reference Varieties Range (Entries F-N) [b] Mean ± SD (Min-Max)	Tolerance Interval Non-GM Reference Varieties (Entries F-N) [c] (Lower-Upper)	Comparison t-test A vs E [d] p-value
Moisture (% FW)	12.2 ± 2.70 (9.7 – 19.7)	11.3 ± 2.30 (9.1 – 17.2)	11.9 ± 2.66 (8.9 – 19.4)	(4.0 – 19.7)	<.001
Ash (% DW)	4.93 ± 0.23 (4.32 – 5.39)	4.94 ± 0.24 (4.46 – 5.33)	4.94 ± 0.22 (4.09 – 5.63)	(4.27 – 5.60)	0.814
Carbohydrates (% DW)	35.2 ± 0.85 (33.8 – 37.6)	34.5 ± 1.14 (32.2 – 37.6)	36.0 ± 1.34 (32.3 – 39.1)	(32.1 – 40.0)	0.013
Crude Fat (% DW)	20.2 ± 0.77 (18.4 – 21.5)	20.1 ± 0.92 (18.4 – 21.7)	20.0 ± 1.43 (17.5 – 23.8)	(15.8 – 24.2)	0.721
Crude Protein (% DW)	39.7 ± 1.07 (36.7 – 41.6)	40.4 ± 1.37 (37.9 – 43.4)	39.1 ± 2.19 (33.6 – 44.1)	(32.6 – 45.5)	0.009
Acid Detergent Fiber (% DW)	16.2 ± 2.10 (11.1 – 20.6)	15.7 ± 1.41 (13.6 – 19.2)	15.3 ± 1.89 (10.6 – 21.2)	(9.8 – 20.9)	0.271
Neutral Detergent Fiber (% DW)	16.3 ± 1.52 (12.1 – 20.0)	15.7 ± 1.00 (13.9 – 17.3)	15.9 ± 1.42 (13.1 – 19.1)	(11.7 – 20.1)	0.019
Total Dietary Fiber (% DW)	17.5 ± 1.64 (14.6 – 22.8)	17.4 ± 2.07 (13.6 – 21.4)	17.9 ± 1.93 (12.1 – 21.9)	(12.2 – 23.6)	0.766

[a] Composition samples were derived from eight field trials conducted in USA in 2017.
[b] Range of results from nine reference varieties (entries F – N).
[c] 99% Tolerance Interval: Range of reference varieties based on tolerance intervals specified to contain 99% of the population with 95% confidence.
[d] t-Test p-value: Pairwise comparison to the non-GM counterpart (Entry A).

2. 아미노산

Parameter	Non-GM Counterpart (Entry A) Mean ± SD (Min–Max)	GMB151 Treated (Entry E) Mean ± SD (Min–Max)	Non-GM Reference Varieties Range (Entries F-N) [b] Mean ± SD (Min-Max)	Tolerance Interval Non-GM Reference Varieties (Entries F-N) [c] (Lower-Upper)	Comparison t-test A vs E [d] p-value
Alanine	1.74 ± 0.066 (1.64 – 1.85)	1.76 ± 0.083 (1.50 – 1.90)	1.71 ± 0.094 (1.48 – 2.00)	(1.43 – 1.98)	0.230
Arginine	2.72 ± 0.182 (2.41 – 3.16)	2.78 ± 0.245 (2.22 – 3.24)	2.70 ± 0.272 (2.05 – 3.48)	(1.90 – 3.50)	0.111
Aspartic Acid	4.75 ± 0.149 (4.44 – 5.01)	4.82 ± 0.286 (3.88 – 5.25)	4.74 ± 0.359 (3.93 – 5.66)	(3.68 – 5.80)	0.243
Cystine	0.514 ± 0.053 (0.387 – 0.626)	0.527 ± 0.055 (0.366 – 0.635)	0.489 ± 0.069 (0.314 – 0.645)	(0.285 – 0.692)	0.368
Glutamic Acid	7.49 ± 0.25 (6.86 – 7.94)	7.64 ± 0.46 (6.08 – 8.35)	7.53 ± 0.57 (6.15 – 8.81)	(5.85 – 9.21)	0.121
Glycine	1.76 ± 0.09 (1.59 – 1.92)	1.79 ± 0.11 (1.51 – 1.96)	1.73 ± 0.11 (1.41 – 1.96)	(1.40 – 2.06)	0.137
Histidine	1.08 ± 0.067 (0.943 – 1.20)	1.08 ± 0.091 (0.851 – 1.23)	1.07 ± 0.086 (0.845 – 1.25)	(0.815 – 1.32)	0.741
Isoleucine	1.88 ± 0.081 (1.72 – 2.04)	1.90 ± 0.100 (1.62 – 2.03)	1.84 ± 0.116 (1.52 – 2.13)	(1.50 – 2.19)	0.213
Leucine	3.08 ± 0.12 (2.87 – 3.35)	3.11 ± 0.16 (2.65 – 3.34)	3.03 ± 0.19 (2.53 – 3.51)	(2.46 – 3.59)	0.235
Lysine	2.89 ± 0.24 (2.54 – 3.43)	2.92 ± 0.19 (2.52 – 3.31)	2.84 ± 0.25 (2.33 – 3.41)	(2.11 – 3.56)	0.635
Methionine	0.513 ± 0.039 (0.382 – 0.581)	0.528 ± 0.035 (0.436 – 0.596)	0.493 ± 0.045 (0.376 – 0.583)	(0.361 – 0.625)	0.105
Phenylalanine	2.06 ± 0.15 (1.78 – 2.49)	2.09 ± 0.20 (1.67 – 2.53)	2.05 ± 0.19 (1.58 – 2.56)	(1.50 – 2.61)	0.517
Proline	2.07 ± 0.088 (1.91 – 2.24)	2.11 ± 0.118 (1.75 – 2.28)	2.04 ± 0.146 (1.66 – 2.46)	(1.61 – 2.46)	0.109
Serine	2.11 ± 0.11 (1.93 – 2.36)	2.13 ± 0.13 (1.81 – 2.36)	2.06 ± 0.13 (1.71 – 2.35)	(1.67 – 2.46)	0.350
Threonine	1.63 ± 0.071 (1.51 – 1.75)	1.64 ± 0.095 (1.35 – 1.79)	1.59 ± 0.099 (1.33 – 1.79)	(1.30 – 1.88)	0.487
Tryptophan	0.542 ± 0.025 (0.475 – 0.581)	0.531 ± 0.022 (0.493 – 0.578)	0.511 ± 0.038 (0.370 – 0.603)	(0.398 – 0.624)	0.199
Tyrosine	1.24 ± 0.10 (1.06 – 1.45)	1.25 ± 0.12 (1.00 – 1.46)	1.22 ± 0.12 (0.92 – 1.46)	(0.88 – 1.56)	0.613
Valine	1.90 ± 0.076 (1.76 – 2.06)	1.93 ± 0.104 (1.59 – 2.07)	1.87 ± 0.121 (1.55 – 2.21)	(1.52 – 2.23)	0.208

[a] Composition samples were derived from eight field trials conducted in USA in 2017.
[b] Range of results from nine reference varieties (entries F – N).
[c] 99% Tolerance Interval: Range of reference varieties based on tolerance intervals specified to contain 99% of the population with 95% confidence.
[d] t-Test p-value: Pairwise comparison to the non-GM counterpart (Entry A).

3. 지방산

Parameter	Non-GM Counterpart (Entry A) Mean ± SD (Min–Max)	GMB151 Treated (Entry E) Mean ± SD (Min–Max)	Non-GM Reference Varieties Range (Entries F-N) [b] Mean ± SD (Min-Max)	Tolerance Interval Non-GM Reference Varieties (Entries F-N) [c] (Lower-Upper)	Comparison t-test A vs E [d] p-value
C14:0 Myristic Acid	0.0701 ± 0.0072 (0.0591 – 0.0863)	0.0702 ± 0.0084 (0.0586 – 0.0861)	0.0707 ± 0.0064 (0.0574 – 0.0873)	(0.0520 – 0.0895)	0.934
C16:0 Palmitic Acid	11.0 ± 0.24 (10.4 – 11.4)	10.7 ± 0.27 (10.2 – 11.1)	11.5 ± 0.43 (10.7 – 12.4)	(10.2 – 12.8)	0.002
C16:1 Palmitoleic Acid	0.0833 ± 0.0054 (0.0727 – 0.0940)	0.0847 ± 0.0047 (0.0763 – 0.0931)	0.0834 ± 0.0082 (0.0648 – 0.1010)	(0.0593 – 0.1075)	0.300
C17:0 Heptadecanoic Acid	0.0913 ± 0.0053 (0.0785 – 0.0978)	0.0902 ± 0.0062 (0.0752 – 0.0998)	0.0901 ± 0.0088 (0.0725 – 0.1080)	(0.0643 – 0.1160)	0.368
C17:1 Heptadecenoic Acid	0.0618 ± 0.0038 (0.0555 – 0.0702)	0.0652 ± 0.0050 (0.0566 – 0.0786)	0.0579 ± 0.0049 (0.0257 – 0.0673)	(0.0433 – 0.0724)	0.006
C18:0 Stearic Acid	4.38 ± 0.32 (3.81 – 4.96)	4.38 ± 0.34 (3.69 – 4.87)	4.38 ± 0.33 (3.79 – 5.24)	(3.41 – 5.36)	0.996
C18:1 Oleic Acid	21.8 ± 1.37 (19.4 – 24.5)	23.4 ± 2.05 (20.9 – 28.0)	22.1 ± 2.29 (17.2 – 28.0)	(15.3 – 28.8)	0.006
C18:2 Linoleic Acid	53.7 ± 1.18 (51.7 – 56.0)	52.6 ± 1.51 (48.9 – 54.8)	52.8 ± 1.89 (49.4 – 56.9)	(47.2 – 58.3)	0.009
C18:3 Linolenic Acid	7.81 ± 0.43 (6.87 – 8.77)	7.52 ± 0.51 (6.39 – 8.35)	7.99 ± 1.02 (6.26 – 10.40)	(5.00 – 10.98)	0.096
C19:0 Nonadecanoic Acid	NA (<LOQ - 0.0943)	NA (<LOQ - 0.0653)	<LOQ - 0.307	NA	NA
C20:0 Arachidic Acid	0.315 ± 0.018 (0.281 – 0.344)	0.324 ± 0.019 (0.291 – 0.361)	0.326 ± 0.026 (0.277 – 0.393)	(0.250 – 0.403)	0.062
C20:1 Eicosenoic Acid	0.182 ± 0.019 (0.153 – 0.223)	0.191 ± 0.019 (0.161 – 0.237)	0.187 ± 0.025 (0.135 – 0.256)	(0.115 – 0.260)	0.003
C20:2 Eicosadienoic Acid	NA (<LOQ - 0.0546)	NA (<LOQ - 0.0579)	<LOQ - 0.0579	NA	NA
C20:5 Eicosapentaenoic Acid	NA (<LOQ - 0.104)	NA (<LOQ - 0.0657)	<LOQ - 0.0856	NA	NA
C22:0 Behenic Acid	0.331 ± 0.010 (0.313 – 0.368)	0.382 ± 0.012 (0.362 – 0.400)	0.347 ± 0.018 (0.320 – 0.390)	(0.294 – 0.401)	< 001
C22:5 N6 Docosapentaenoic Acid	NA <LOQ - 0.0515	NA <LOQ	<LOQ - 0.081	NA	NA
C22:6 Docosahexaenoic Acid	NA (<LOQ - 0.0567)	NA (<LOQ - 0.109)	<LOQ - 0.0654	NA	NA
C24:0 Lignoceric Acid	0.111 ± 0.021 (0.039 – 0.147)	0.098 ± 0.032 (0.041 – 0.141)	0.095 ± 0.036 (0.038 – 0.180)	(0 – 0.200)	0.024

[a] Composition samples were derived from eight field trials conducted in USA in 2017.
[b] Range of results from nine reference varieties (entries F – N).
[c] 99% Tolerance Interval: Range of reference varieties based on tolerance intervals specified to contain 99% of the population with 95% confidence.
[d] 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. 미량영양성분

Parameter	Non-GM Counterpart (Entry A) Mean ± SD (Min–Max)	GMB151 Treated (Entry E) Mean ± SD (Min–Max)	Non-GM Reference Varieties Range (Entries F-N) [b] Mean ± SD (Min-Max)	Tolerance Interval Non-GM Reference Varieties (Entries F-N) [c] (Lower-Upper)	Comparison t-test A vs E [d] p-value
Calcium	2547 ± 362 (1980 – 3355)	2343 ± 334 (1858 – 3058)	2495 ± 507 (1480 – 3689)	(1004 – 3987)	0.017
Copper	14.8 ± 4.50 (8.6 – 26.4)	13.3 ± 2.61 (8.2 – 18.8)	11.9 ± 2.98 (6.8 – 23.2)	(3.2 – 20.7)	0.040
Iron	118 ± 29.2 (81 – 206)	115 ± 45.3 (73 – 324)	100 ± 45.2 (59 – 364)	(0 – 233)	0.786
Magnesium	2580 ± 201 (2122 – 3011)	2498 ± 268 (1884 – 2995)	2518 ± 258 (1954 – 3177)	(1758 – 3278)	0.164
Manganese	39.2 ± 9.72 (28.4 – 66.2)	38.2 ± 10.46 (28.4 – 70.2)	35.9 ± 10.94 (23.8 – 74.7)	(3.7 – 68.1)	0.520
Phosphorus	6135 ± 762 (3955 – 7421)	6090 ± 730 (4452 – 7877)	6099 ± 683 (4789 – 7773)	(4088 – 8109)	0.723
Potassium	19545 ± 1214 (17466 – 22375)	19862 ± 1425 (16341 – 22743)	19856 ± 1415 (16973 – 22831)	(15691 – 24021)	0.392
Sodium	NA (<LOQ - 45.7)	NA (<LOQ - 51.2)	<LOQ - 55.5	NA	NA
Zinc	58.4 ± 11.47 (41.9 – 85.8)	54.2 ± 9.90 (38.9 – 71.8)	49.3 ± 10.63 (33.0 – 85.6)	(18.0 – 80.6)	0.024

[a] Composition samples were derived from eight field trials conducted in USA in 2017.
[b] Range of results from nine reference varieties (entries F – N).
[c] 99% Tolerance Interval: Range of reference varieties based on tolerance intervals specified to contain 99% of the population with 95% confidence.
[d] 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.

5. 비타민

Parameter	Non-GM Counterpart (Entry A) Mean ± SD (Min–Max)	GMB151 Treated (Entry E) Mean ± SD (Min–Max)	Non-GM Reference Varieties Range (Entries F-N) [b] Mean ± SD (Min-Max)	Tolerance Interval Non-GM Reference Varieties (Entries F-N) [c] (Lower-Upper)	Comparison t-test A vs E [d] p-value
Alpha Tocopherol (Vitamin E)	27.6 ± 9.59 (9.4 – 50.0)	28.1 ± 9.36 (16.7 – 50.4)	26.5 ± 10.43 (12.3 – 53.2)	(0 – 57.2)	0.717
Vitamin B1 (Thiamine)	1.80 ± 0.72 (0.42 – 2.97)	1.46 ± 0.74 (0.42 – 2.80)	1.14 ± 0.61 (0.41 – 2.54)	(0 – 2.93)	<.001
Vitamin B2 (Riboflavin)	4.44 ± 0.74 (2.22 – 5.99)	4.33 ± 0.88 (2.58 – 6.13)	4.18 ± 0.63 (2.26 – 5.92)	(2.32 – 6.03)	0.507
Vitamin B3 (Niacin)	26.7 ± 6.57 (14.6 – 43.1)	29.3 ± 6.58 (15.8 – 47.1)	26.4 ± 7.01 (13.7 – 46.9)	(5.7 – 47.0)	0.075
Vitamin B5 (Pantothenic Acid)	8.64 ± 1.76 (5.38 – 12.00)	9.50 ± 2.22 (5.68 – 13.20)	10.03 ± 2.05 (5.42 – 14.60)	(4.01 – 16.05)	0.026
Vitamin B6 (Pyridoxine)	4.59 ± 1.18 (2.51 – 7.32)	4.81 ± 1.20 (2.70 – 6.94)	4.64 ± 1.29 (2.12 – 7.69)	(0.85 – 8.43)	0.461
Vitamin B9 (Folic Acid)	5.50 ± 1.64 (2.56 – 8.85)	6.77 ± 2.50 (2.63 – 12.10)	6.04 ± 2.22 (2.19 – 13.30)	(0 – 12.57)	0.021
Vitamin K1	0.703 ± 0.330 (0.204 – 1.420)	0.707 ± 0.335 (0.220 – 1.250)	0.762 ± 0.282 (0.344 – 1.440)	(0 – 1.592)	0.895

[a] Composition samples were derived from eight field trials conducted in USA in 2017.
[b] Range of results from nine reference varieties (entries F – N).
[c] 99% Tolerance Interval: Range of reference varieties based on tolerance intervals specified to contain 99% of the population with 95% confidence.
[d] t-Test p-value: Pairwise comparison to the non-GM counterpart (Entry A).

6. 내재성 독소/항영양소

Parameter	Non-GM Counterpart (Entry A) Mean ± SD (Min–Max)	GMB151 Treated (Entry E) Mean ± SD (Min–Max)	Non-GM Reference Varieties Range (Entries F-N) [b] Mean ± SD (Min-Max)	Tolerance Interval Non-GM Reference Varieties (Entries F-N) [c] (Lower-Upper)	Comparison t-test A vs E [d] p-value
Total Daidzein (mg/kg DW)	850 ± 217 (427 – 1305)	709 ± 203 (389 – 1055)	855 ± 317 (380 – 1696)	(0 – 1788)	<.001
Total Genistein (mg/kg DW)	808 ± 211 (392 – 1184)	703 ± 211 (403 – 1074)	909 ± 229 (428 – 1498)	(236 – 1582)	0.002
Total Glycitein (mg/kg DW)	160 ± 29.0 (84 – 237)	134 ± 18.2 (99 – 169)	172 ± 50.1 (102 – 350)	(24 – 320)	0.002
Total Isoflavones (mg/kg DW)	1818 ± 436 (941 – 2679)	1546 ± 421 (912 – 2182)	1935 ± 534 (947 – 3455)	(364 – 3506)	<.001
Lectins (mg/g DW)	2.54 ± 0.71 (1.02 – 3.99)	2.43 ± 0.76 (0.94 – 4.09)	2.32 ± 0.71 (0.78 – 4.64)	(0.23 – 4.41)	0.579
Phytic Acid (% DW)	1.45 ± 0.25 (0.93 – 1.88)	1.60 ± 0.25 (0.90 – 1.99)	1.51 ± 0.25 (0.88 – 2.11)	(0.77 – 2.26)	0.001
Raffinose (% DW)	1.02 ± 0.23 (0.49 – 1.38)	0.99 ± 0.21 (0.47 – 1.49)	0.90 ± 0.17 (0.40 – 1.38)	(0.39 – 1.40)	0.583
Stachyose (% DW)	3.18 ± 0.18 (2.83 – 3.55)	3.19 ± 0.25 (2.33 – 3.64)	3.47 ± 0.36 (2.59 – 4.50)	(2.40 – 4.53)	0.890
Trypsin Inhibitor (TIU/mg DW)	35.8 ± 5.66 (26.4 – 50.4)	36.3 ± 5.88 (22.3 – 45.6)	29.8 ± 4.97 (18.1 – 41.8)	(15.1 – 44.4)	0.657

[a] Composition samples were derived from eight field trials conducted in USA in 2017.
[b] Range of results from nine reference varieties (entries F – N).
[c] 99% Tolerance Interval: Range of reference varieties based on tolerance intervals specified to contain 99% of the population with 95% confidence.
[d] t-Test p-value: Pairwise comparison to the non-GM counterpart (Entry A).

7. 알레르기 유발성분

Parameter	Non-GM Counterpart (Entry A) Mean ± SD (Min–Max)	GMB151 Treated (Entry E) Mean ± SD (Min–Max)	Non-GM Reference Varieties Range (Entries F-N) [b] Mean ± SD (Min-Max)	Tolerance Interval Non-GM Reference Varieties (Entries F-N) [c] (Lower-Upper)	Comparison t-test A vs E [d] p-value
Gly m 1	190 ± 41.9 (131 – 309)	199 ± 33.4 (136 – 283)	223 ± 92.9 (2 – 463)	(0 – 496)	0.426
Gly m 3	22.9 ± 3.05 (18.3 – 32.9)	22.0 ± 3.36 (16.3 – 30.0)	22.3 ± 3.61 (14.0 – 36.8)	(11.7 – 32.9)	0.257
Gly m 4	116 ± 27.0 (74.8 – 185)	116 ± 23.0 (82.7 – 160)	130 ± 26.0 (82.4 – 209)	(53.7 – 206)	0.935
Gly m 5 (beta conglycinin)	31567 ± 2877 (25920 – 39969)	32138 ± 3314 (26950 – 42081)	30965 ± 3879 (20496 – 39200)	(19549 – 42381)	0.508
Gly m 6	55294 ± 6608 (43606 – 73687)	55527 ± 5785 (45117 – 70751)	56316 ± 7580 (38492 – 75734)	(34007 – 78625)	0.858
Gly m 7	350 ± 54.3 (255 – 494)	350 ± 51.9 (242 – 486)	374 ± 74.2 (247 – 544)	(156 – 593)	0.998
Gly m 8 (2S albumin)	5218 ± 560 (3717 – 6414)	4952 ± 491 (3826 – 5963)	4773 ± 649 (3263 – 6607)	(2863 – 6683)	0.014
Kunitz Trypsin Inhibitor 1	1482 ± 228 (1009 – 1916)	1384 ± 275 (895 – 2080)	1111 ± 279 (650 – 1701)	(291 – 1931)	0.014
Kunitz Trypsin Inhibitor 3	5347 ± 648 (4046 – 6518)	5157 ± 807 (3906 – 7342)	4594 ± 675 (3306 – 6270)	(2606 – 6582)	0.115
Gly m Bd 28k	386 ± 40.5 (316 – 512)	386 ± 44.3 (274 – 446)	372 ± 50.2 (286 – 536)	(224 – 520)	0.942
Gly m Bd 30k	4772 ± 576 (3602 – 5836)	4329 ± 536 (3480 – 6027)	4329 ± 716 (2815 – 6164)	(2221 – 6438)	<.001

[a] Composition samples were derived from eight field trials conducted in USA in 2017.
[b] Range of results from nine reference varieties (entries F – N).
[c] 99% Tolerance Interval: Range of reference varieties based on tolerance intervals specified to contain 99% of the population with 95% confidence.
[d] t-Test p-value: Pairwise comparison to the non-GM counterpart (Entry A).