유전자변형 옥수수 MON87403 안전성 심사결과 보고서

2017. 4. 27.

식품의약품안전처
식품의약품안전평가원

<차례>

□ **요약** ····· **1**
□ **심사경위** ····· **2**
□ **심사경과** ····· **2**
□ **심사방법** ····· **2**
□ **심사 신청 자료 검토** ····· **3**
1. 유전자변형농축수산물의 개발목적 및 이용방법 ····· 3
2. 숙주 ····· 3
가. 분류학적 특성 ····· 3
나, 재배 및 품종개량의 역사 ····· 3
다. 이미 알려져 있는 독성, 알레르기 유발성 또는 병원성 외래인자와 관련성 4
라. 안전한 식경험의 유무 ····· 4
3. 공여체 ····· 4
가. 분류학적 특성 ····· 4
나. 안전한 식경험의 유무, 식품용 이외의 노출 경로 ····· 4
다. 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성 ····· 4
4. 유전자변형 ····· 5
가. 형질전환과정에 대한 정보 ····· 5
나. 도입 유전자에 대한 정보 ····· 6
5. 유전자변형농축수산물의 특성 ····· 9
가. 유전자변형농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보 ····· 9
나. 유전자산물에 관한 정보 ····· 10
다. 독성 ····· 11
라. 알레르기성 ····· 13
마. 숙주와의 차이 ····· 14
바. 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향 ····· 15
사. 식품용으로서의 저장 및 가공에 관한 설명 ····· 16
아. 외국의 식품유통 승인 및 식품용 등의 이용 현황 ····· 16
6. 심사신청 자료 검토 결과 ····· 16
7. 기타 ····· 16
[붙임] 영양성분 분석 자료 ····· 16

유전자변형 옥수수 MON87403
안전성 심사 결과 보고서

□ 요약

몬산토코리아(유)는 이삭 중량 증가 옥수수 MON87403에 대해 식품의약품안전처에 안전성 심사를 신청하였고, 유전자변형식품등 안전성 심사위원회(이하 '심사위원회'라 한다)는「유전자변형식품등의 안전성 심사등에 관한 규정」(이하 '심사규정'이라 한다)에 따라 안전성을 심사하였다.

MON87403은 *ATHB17* 유전자 도입을 통한 ATHB17Δ113 단백질 발현으로 이삭의 성장을 조절하는 내인성 HD-ZipII 단백질의 억제 작용을 완화하여 이삭 중량이 증가된 옥수수이다.

MON87403에 도입된 *ATHB17* 유전자가 Southern blot을 통해 5세대에 걸쳐 안정적으로 유지되는 것이 확인되었다.

기존에 알려진 독소와의 유사성을 알아보기 위해 TOX_2013 독소 데이터베이스를 이용하여 독소 및 항영양소의 아미노산 서열과 ATHB17Δ113 아미노산 서열을 생물정보학적으로 비교 분석한 결과, 서열 상동성이 없는 것으로 확인되었다. ATHB17Δ113 단백질에 대한 마우스 단회투여독성 평가 자료를 검토한 결과, 독성이 없는 것으로 확인되었다. 또한, MON87403 옥수수가 약 33% 혼합된 사료를 90일간 랫드에 급이시험한 결과, 독성이 없는 것으로 확인되었다.

기존에 알려진 알레르겐과의 유사성을 알아보기 위해 AD_2013(FARRP, 2013) 알레르겐 데이터베이스를 이용, ATHB17Δ113 단백질에 대하여 기존의 알려진 알레르기 유발물질을 대상으로 80개 이상의 아미노산 서열에서 35% 이상 상동성을 가지는지 여부와 8개의 연속적인 아미노산이 일치하는지 여부를 검색한 결과, 기존 알레르기 유발 물질과 상동성이 없음이 확인되었다.

MON87403과 기존 옥수수의 주요영양성분, 미량영양성분, 항영양소 등의 함량을 비교한 결과, 생물학적 차이가 없었다. 육계를 대상으로 MON87403 옥수수를 42일 동안 급이한 결과, 기존 옥수수와 영양성에 차이가 없는 것이 확인되었다.

결론적으로 MON87403 옥수수는 지금까지 식품으로 섭취해온 옥수수와 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

□ 심사경위

○ 몬산토코리아(유)는 이삭 중량이 증가된 유전자변형 옥수수 MON87403을 식품위생법 제18조에 따른 안전성 심사를 받기 위하여 2015년 5월 29일 식품의약품안전처 심사규정에서 규정한 관련 자료를 첨부하여 심사 신청하였다.

○ 이에 식품의약품안전처장은 본 품목이 심사규정에 따라 안전성 평가가 이루어졌는지 여부에 대하여 심사위원회에 검토 의뢰하고,

○ 심사위원회는 신청인이 제출한 자료에 근거하여 아래와 같이 심사규정에 따라 안전성평가가 이루어졌는지 여부를 확인하였다.

□ 심사경과

○ 심사대상품목

대상품목	신청자	개발사	식품으로서 제외국의 안전성 확인(승인) 현황
유전자변형 옥수수 MON87403	몬산토코리아(유)	Monsanto	미국(2015), 캐나다(2015), 호주(2016)

○ 심사경과

- 2015년 5월 29일 : 안전성 심사 신청
- 2015년 10월 20일 : 1차 심사위원회 개최
- 2016년 5월 17일 : 2차 심사위원회 개최
- 2016년 8월 16일 : 3차 심사위원회 개최
- 2016년 10월 18일 : 4차 심사위원회 개최
- 2017년 3월 21일 : 5차 심사위원회 개최

□ 심사방법

○ 본 품목과 관련하여 심사 신청된 유전자변형농산물이 심사규정의 적용대상인지를 검토하였고,

○ 제출된 안전성 심사 자료가 심사규정에서 요구하는 자료를 갖추었는지를 확인한 후 자료의 내용을 토대로 안전성 심사자료를 심사하였다.

□ 심사 신청 자료 검토

○ 심사 신청된 식품의 개요

- 몬산토코리아(유)가 심사 신청한 유전자변형 옥수수 MON87403은 *ATHB17* 유전자가 도입된 것으로 관행 대조군 옥수수와 비교하여 초기 생식단계(R1)에서 이삭 생물량(ear biomass)이 증가함으로써 알곡 수량이 증가되었다.

- 옥수수의 초기 생식단계는 옥수수 생장에서 대단히 중요한 시기로써 유전학 및 환경 조건의 조합에 의해 최대 이삭 생물량(sink size)이 결정되는 기간이다. 식물의 생식단계에서 생성되는 광합성산물(photosynthate)은 sink의 크기가 결정된 후 식물의 생장을 위해 이삭(ear)으로 할당(allocate)된다. 따라서, 생식단계 초기에 정해지는 이삭 생물량은 생식 성공도(reproductive success)의 중요 결정요인으로 간주되며 초기 생식단계에서 이삭 생물량이 클수록 수확시 알곡 수량 증가와 관련된다.

○ 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

○ 몬산토코리아(유)는 관행 대조군 옥수수와 비교하여 초기 생식단계(R1)에서 이삭 생물량(ear biomass)이 증가함으로써 알곡 수량이 증가한 유전자변형 옥수수 MON87403을 개발하였다.

○ 그 밖의 재배방법 및 이용방법은 기존의 일반 옥수수와 동일하다.

2. 숙주

가. 분류학적 특성

- 종(Species) : *mays* L.
- 속(Genus) : *Zea*
- 과(Family) : *Gramineae*
- 일반명(Common Name) : 옥수수
- 품종명 : LH244 (Inbred line)

나. 재배·사육 및 품종개량의 역사

- 옥수수가 실질적으로 유럽에 최초로 도입된 것은 1493년이며, 전 세계의 재배 가능지역으로 배포되어 식용, 사료용, 연료용 필수 작물이 되었다.
- 오늘날 미국에서 재배되는 거의 모든 옥수수는 잡종(hybrid)형태이며, 옥수수

잡종은 잠재적 수량성 증가 및 잡종강세의 특성을 이용하기 위해 개발 및 사용되고 있다.

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

- 항영양소로서 피트산, 라피노스, 트립신 저해제 등이 있으며(OECD, 2002),
- 일부 연구에서는 알레르기 반응이 보고된 바 있으나, 옥수수는 알레르기를 유발할 가능성이 낮은 식품으로 간주된다(OCED, 2002).

라. 안전한 식경험의 유무

- 옥수수는 전분, 식용류, 옥수수가루 등 다양한 식품에서 사용되고 있다.

3. 공여체

가. 분류학적 특성

○ *ATHB17* 유전자는 *Arabidopsis thaliana*에서 유래하였다.

- 종(Species): *thaliana*
- 속(Genus): *Arabidopsis*
- 과(Family): *Brassicaceae*

나. 안전한 식경험의 유무, 식품용 이외의 노출 경로

- *Arabidopsis thaliana*는 직접적으로 식용으로 사용된 식경험의 사례 및 동물에서의 섭취 기록도 없으나 브로콜리, 콜리플라워(cauliflower), 양배추 및 카놀라(canola)/유채씨(rapeseed)와 같이 잘 알려진 식품이나 유지작물(oilseed crop)이 속해 있는 Brassicaceae과(family)에 속한다. 유지작물인 *Camelina sativa*도 Brassicaceae과에 속하며 *Arabidopsis*와 가장 근접한 재배종으로 보고되었다. *Camelina sativa* 잎은 조지아(Georgia)에서는 신선 채소식품으로 섭취되고 있으며, 박은 가축 사료의 성분으로 이용될 수 있으며, 작물 환경 내 식물들은 야생동물의 먹이가 된다. 인간이나 동물에 의한 *Arabidopsis thaliana* 근연종의 안전한 섭취는 동 생물체의 안전성을 뒷받침한다.

다. 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성

- *Arabidopsis thaliana*는 일반적으로 알레르기성 또는 독성 생물체로 간주되지 않는다. *Arabidopsis thaliana*에는 다른 식물종에서 이미 알레르겐으로 제시된 단백질(예를 들면, 저민(germin), 지질전달단백질(lipid transfer protein), 프로필린(profilin) 및 저분자량 칼슘결합단백질)의 상동체(homolog)가 포함되어 있으나, Arabidopsis 단백질은 기지의 알레르겐에 관한 상호심사 데이터베이스(peer-reviewed database)에 기재된 바 없다(FARRP, 2013).

4. 유전자변형

가. 형질전환 과정에 대한 정보

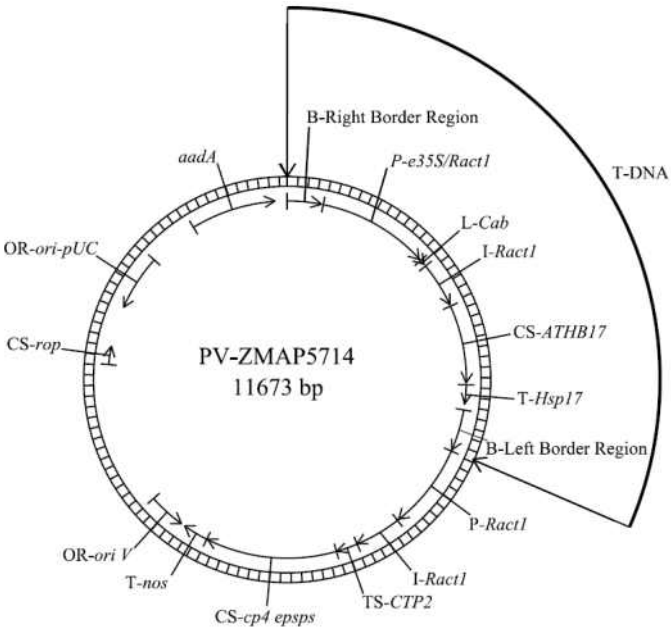
1) 형질전환 방법

- 아그로박테리움법을 사용하였다.

2) 벡터에 대한 정보

가) 기원

- 형질전환에는 플라스미드 벡터인 PV-ZMAP5714를 사용하였으며, 다음과 같이 구성되어 있다.
  - Vector A[*ATHB17* 발현 카세트(P-*e35S/Ract1*, L-*Cab*, I-*Ract1* 및 T-*Hsp17*), backbone 서열(*P-Ract1, I-Ract1, TS-CTP2, CS-CP4-epsps, T-nos, OR-Ori V, CS-rop, OR-ori-pUC* 및 *aadA*), B-우측 경계 영역, B-좌측 경계영역]
  - Segment B1[CS-*ATHB17* 서열]



<플라스미드 벡터 PV-ZMAP5714>

나) 숙주에서의 확인

- 삽입된 DNA 서열은 상응하는 변형 플라스미드 DNA 서열과 동일함을 확인하였다.

다) 숙주에서의 기능

- *ATHB17* 코딩서열은 ATHB17Δ113 단백질을 발현하여 이삭의 성장을 조절하는 내인성 HD-ZipⅡ 단백질의 억제작용을 완화하여 이삭 생물량을 증가시킨다.

라) 제한효소 절단 지도

- 제시되었다.

마) 유해염기 서열 유무

- 유해염기 서열은 존재하지 않는다.

바) 전달성에 관한 정보

- 플라스미드 벡터 PV-ZMAP5714는 숙주 이외의 다른 생물체로 스스로 이동될 수 있는 전달성과 관련된 유전자를 포함하고 있지 않다.

3) 중간숙주에 대한 정보

- 비병원성 *Agrobacterim tumefaciens* strain ABI 계통이 중간숙주로 사용되었다.

나. 도입유전자에 대한 정보

1) 구성 유전자의 특성, 염기서열, 제한효소 절단지도

가) 선발표지유전자

- *cp4 epsps* : *A. tumefaciens* strain CP4의 *aroA* 유전자 서열에서 유래되어 합성된 것이다. *cp4 epsps* 유전자는 CP4 EPSPS 단백질을 암호화하며 글리포세이트에 대한 내성을 부여한다.

나) 조절인자

ATHB17 유전자는 *e35S/Ract1* promoter, chlorophyll a/b binding protein (CAB) leader, *Ract1* intron 및 heat shock protein 17 (*Hsp17*) 3′ 비번역영역의 조절을 받는다.

- *e35S/Ract1* promoter : Actin 1을 인코딩하는 *Oryza sativa* 유래 *act1* 유전자의 promoter와 CaMV 35S RNA promoter에서 유래한 중복하는 enhancer 영역이 결합한 융합(chimeric) promoter이다.
- CAB leader : *Triticum aestivum*의 엽록소 a/b-결합(CAB) 단백질에서 유래하는 5′ 비번역영역으로 유전자 발현의 조절에 관여한다.
- *Ract1* intron : *Oryza sativa* 유래 *act1* 유전자에서 유래한 intron이다.
- *Hsp17* 3′ 비번역영역 : *Triticum aestivum*의 heat shock protein, Hsp17 유래 3′ 비번역영역으로 mRNA의 polyadenylation을 지시한다.

다) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

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

2) 크기 및 명칭

- 벡터 내 유전적 요소의 크기 및 명칭이 제시되었다.

<벡터 내 유전자 크기, 위치 및 기능>

유전인자	플라스미드 내 위치	기능(참고문헌)
T-DNA		
B[1]-우측경계영역	1-357	T-DNA 전달에 사용된 우측경계서열을 포함하는 *Agrobacterium tumefaciens* 유래 DNA 영역 (Depicker et al., 1982; Zambryski et al., 1982)
개재서열	358-375	DNA 클로닝에 사용된 서열
P[2]-*e35S/Ract1*	376-1556	Actin 1 (McElroy et al., 1990)을 인코딩하는 *Oryza sativa* 유래 *act1* 유전자의 promoter 와 Cauliflower mosaic virus 35S RNA promoter (CaMV) (Kay et al., 1987) 유래 중복된 enhancer 영역으로 이루어진 키메라 promoter (chimeric promoter). 식물세포에서 전사를 지시
개재서열	1557-1561	DNA 클로닝에 사용된 서열
L[3]-*Cab*	1562-1622	*Triticum aestivum* (밀)의 chlorophyll a/b-binding (CAB) protein 유래 5' UTR leader 서열. 유전자 발현 조절에 관여 (Lamppa et al., 1985)
개재서열	1623-1638	DNA 클로닝에 사용된 서열
I[4]-*Ract1*	1639-2118	Rice Actin 1 protein 을 인코딩하는 *Oryza sativa* (벼) 유래 *act1* 유전자의 Intron 및 인접 UTR 서열. 유전자 발현 조절에 관여 (McElroy et al., 1990)
개재서열	2119-2130	DNA 클로닝에 사용된 서열
CS[5]-*ATHB17*	2131-2958	Class II homeodomain-leucine zipper gene family (HD-Zip II)의 일원을 인코딩하는 *Arabidopsis thaliana* 유래 *ATHB17* 유전자의 코딩서열. 전사인자로 작용함 (Ariel et al., 2007)
개재서열	2959-2971	DNA 클로닝에 사용된 서열
T[6]-*Hsp17*	2972-3181	*Triticum aestivum* (밀)의 heat shock protein, Hsp17 유래 3' UTR 서열 (McElwain and Spiker, 1989). mRNA 의 polyadenylation 지시
개재서열	3182-3234	DNA 클로닝에 사용된 서열
B-좌측경계영역	3235-3676	T-DNA 전달에 사용되는 좌측경계 서열을 포함하는 *Agrobacterium tumefaciens* 유래 DNA 영역 (Barker et al., 1983)

<벡터 내 유전자 크기, 위치 및 기능> (계속)

유전인자	플라스미드 내 위치	기능(참고문헌)
Backbone		
개재서열	3677-3682	DNA 클로닝에 사용된 서열
P-*Ract1*	3683-4603	Rice Actin 1 protein 을 인코딩하는 *Oryza sativa* (벼) 유래 *act1* 유전자의 Promoter 및 leader (McElroy et al., 1990). 식물세포에서 전사를 지시
I-*Ract1*	4604-5081	Rice Actin 1 protein 을 인코딩하는 *Oryza sativa* (벼) 유래 *act1* 유전자의 Intron 및 인접 UTR 서열 (McElroy et al., 1990). 유전자 발현 조절에 관여.
개재서열	5082-5090	DNA 클로닝에 사용된 서열
TS[7]-*CTP2*	5091-5318	EPSPS transit peptide 영역을 인코딩하는 *Arabidopsis thaliana* 유래 *ShkG* 유전자의 표적서열. 동 단백질의 엽록체로의 이동을 지시 (Herrmann, 1995; Klee et al., 1987)
CS-*cp4 epsps*	5319-6686	CP4 EPSPS protein 을 인코딩하는 *Agrobacterium* sp. strain CP4 유래 *aroA* 유전자의 유전자변형된 코딩서열. glyphosate 저항성 제공 (Barry et al., 2001; Padgette et al., 1996)
개재서열	6687-6701	DNA 클로닝에 사용된 서열
T-*nos*	6702-6954	NOS 를 인코딩하는 *Agrobacterium tumefaciens* pTi 유래 *nopaline synthase* (*nos*) 유전자의 3' UTR 서열 (Bevan et al., 1983; Fraley et al., 1983). mRNA 의 polyadenylation 지시
개재서열	6955-7005	DNA 클로닝에 사용된 서열
OR[8]-*ori V*	7006-7402	*Agrobacterium* 에서 플라스미드를 유지하기 위해 사용된 광범위 숙주 플라스미드 *RK2* 에서 유래한 복제기점 (Stalker et al., 1981)
개재서열	7403-8910	DNA 클로닝에 사용된 서열
CS-*rop*	8911-9102	*E. coli* 에서 플라스미드 사본수를 유지하기 위한 ColE1 플라스미드에서 유래한 ROP 단백질의 코딩서열 (Giza and Huang, 1989)
개재서열	9103-9529	DNA 클로닝에 사용된 서열
OR-*ori-pUC*	9530-10118	*E. coli* 에서 플라스미드를 유지하기 위한 플라스미드 pUC 유래 복제기점 (Vieira and Messing, 1987)
개재서열	10119-10648	DNA 클로닝에 사용된 서열
aadA	10649-11537	Transposon *Tn7* 유래 aminoglycoside-변형 효소 3"(9)-*O*-nucleotidyltransferase 에 대한 박테리아성 promoter, 코딩서열 및 3'UTR (Fling et al., 1985). Spectinomycin 및 streptomycin 저항성 제공
개재서열	11538-11673	DNA 클로닝에 사용된 서열

[1]B: 경계, [2]P: Promotor, [3]L: Leader, [4]I: Intron, [5]CS: 코딩서열, [6]T: 전사종결서열, [7]TS: 표적서열, [8]OR: 복제기점

3) 완성된 발현 벡터내의 유전자 염기서열의 위치 및 방향성

- 벡터 내 유전자 서열의 위치 및 방향은 4, 가, 2), 가)에 제시되었다.

4) 구성 유전자의 기능

- *ATHB17* 코딩서열에 의해 발현된 ATHB17Δ113 단백질이 이삭의 성장을 조절하는 내인성 HD-ZipⅡ 단백질의 억제작용을 완화하여 이삭 생물량을 증가시킨다.

5) 유해염기서열의 유무

- 유해염기서열은 존재하지 않는 것으로 나타났다.

6) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현 가능성

- 목적하는 단백질의 발현과 관련된 서열 이외의 전사 및 발현 가능성이 있는 새로운 외래전사해독프레임이 존재하지 않는 것으로 나타났다.

7) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입

- 목적하는 유전자 이외의 염기서열은 혼입되지 않았다.

5. 유전자변형농축수산물의 특성

가. 유전자변형농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보

1) 유전자변형농축수산물의 게놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

- *ATHB17* 코딩서열에 의해 발현된 ATHB17Δ113 단백질이 이삭의 성장을 조절하는 내인성 HD-ZipⅡ 단백질의 억제작용을 완화하여 이삭 생물량을 증가시킨다.

2) 삽입부위의 수

- MON87403에는 단일 유전자 자리에 1개의 *ATHB17* 유전자 카세트가 삽입되었으며, 플라스미드 backbone은 존재하지 않음이 확인되었다.

3) 각 삽입부의의 삽입유전자의 구성

가) 복제수, 염기서열

- Southern blot, NGS/JSA 분석 결과 MON87403 게놈에는 PV-ZMAP5714에서 유래한 T-DNA의 단일 사본이 도입되었음이 확인되었다.

나) 이미 알려져 있는 독소나 항영양소를 암호화하는 유전자와의 상동성

- 기지의 독성물질이나 항영양소를 암호화하는 것으로 알려진 유전인자는 유전자변형 옥수수 MON87403의 삽입 DNA에 존재하지 않는다.

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

- 목적하는 단백질의 발현과 관련된 서열 이외의 전사 및 발현 가능성이 있는 새로운 외래전사해독프레임이 존재하지 않는 것으로 나타났다.

5) 안정성에 관한 사항

가) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

- 삽입 DNA의 안정성을 평가하기 위해 5세대에 걸친 southern blot, NGS/JSA 분석을 실시한 결과, 5세대에 걸쳐 도입 DNA가 유지되는 것이 확인되었다.
- 복수세대에 걸쳐 표현형 및 유전형 분리자료를 통해 관찰된 분리비와 예상 분리비 사이에 통계적으로 유의한 차이가 없어 MON87403 T-DNA가 옥수수 게놈 내의 단일 유전자에 존재하며 멘델의 유전법칙에 따라 유전됨을 확인하였다.

나) 복수 세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- MON87403 알곡에서의 ATHB17Δ113 단백질 발현량을 Western blot 분석으로 확인한 결과, 발현 단백질 ATHB17Δ113 단백질이 5세대에 걸쳐 안정적으로 발현됨이 확인되었다.

나. 유전자산물에 관한 정보

1) 유전자산물의 화학적 성질

- ATHB17 단백질의 야생형 서열과 비교하여, MON87403에서 발현되는 ATHB17 인코딩 단백질은 대체 mRNA splicing으로 인해 113개 아미노산이 결손되었고, 이에 따라 ATHB17Δ113으로 표시한다. ATHB17Δ113 단백질은 162개의 아미노산으로 이루어지며, 약 22kDa의 분자량을 가진다.

2) 유전자산물의 기능

- *ATHB17* 유전자 도입으로 고유의 N-말단 및 대부분의 억제 도메인이 없는 ATHB17Δ113 단백질을 발현하여 이삭의 성장을 조절하는 내인성 HD-ZipⅡ 단백질의 억제작용을 완화하여 이삭 생물량을 증가시킨다.
- *Arabidopsis thaliana* HB17 (ATHB17) 단백질은 전사인자인 Homeodomain-Leucine zipper (HD-Zip) Ⅱ subfamily의 일원이다. 애기장대(Arabidopsis) HD-Zip II 단백질은 수많은 식물의 생장과 발달과 관련된 생물학적 과정에 영향을 미치며, 이 중에는 음지회피반응(shade avoidance response), 광합성 역량의 발달, 그리고 옥신(auxin) 반응, 생식 생장과 발달에 관여한다.
- MON87403 내 ATHB17 유전자의 발현은 옥수수 특이적 splicing으로 인해 ATHB17 단백질은 113개 아미노산이 없는 ATHB17Δ113 단백질이 생성되고, 이 단백질은 전사억제 활성을 갖지 않지만, DNA 결합 활성뿐만 아니라 다른 HD-Zip II 단백질과의 동형이합체화(homodimerize) 및 이형이합체화(heterodimerize) 능력을 유지하며 우세-음성 기작(dominant-negative mechanism)을 통해 내재성 HD-Zip II 단백질의 활성을 조절함으로써 옥수수 초기 생식단계에서 이삭 생물량이 증가한다.

3) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

- ATHB17Δ113 단백질의 번역 후 변이 유무를 확인하기 위해 N-말단 분석이 수행되었으며, 번역 후 변이가 일어나지 않음이 확인되었다.

4) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- N말단 서열분석 : LC-MS/MS를 이용하여 15개의 아미노산을 *E. coli*-생산 ATHB17Δ113 단백질의 N-말단 서열 및 예상 서열과 비교한 결과, 동등함이 확인되었다.
- MALDI-TOF 질량분석 : MON87403 유래 ATHB17Δ113 단백질에 트립신을 가하여 펩타이드화 시킨 후, MALDI-TOF 질량분석을 실시한 결과, 50%의 적용범위(coverage)를 나타냈다. *E. coli*-생산 ATHB17Δ113 단백질의 경우, 74%의 적용범위(coverage)를 나타냈다.
- SDS-PAGE : ATHB17Δ113 단백질의 실험적 분자량 측정을 위하여 SDS-PAGE를 실시한 결과, 미생물(*E. coli*) 유래는 약 22.2 kDa, MON87403 유래는 약 22.4 kDa의 단백질 밴드가 측정되었다.
- Western blot : ATHB17Δ113 단백질의 면역반응성 측정을 위해 Western blot을 실시한 결과, 미생물 유래 및 MON87403 유래 모두 약 22 kDa의 분자량을 가진 단일 신호가 확인되었다.
- 기능 활성 분석 : MON87403 및 미생물 유래 ATHB17Δ113 단백질의 기능 활성 평가는 DNA 결합 활성을 측정하고 다른 Arabidopsis HD-Zip II 단백질의 알려져 있는 활성을 배경으로 결과들을 평가함으로써 간접적으로 평가하였다. 그 결과, *E. coli*-생산 ATHB17Δ113 단백질 표적 DNA 서열에 결합하며, 이로부터 동 단백질의 기능 활성을 확인하였다.

5) 새로운 특성의 표현형

- 관행 대조군 옥수수와 비교하여 초기 생식단계(R1)에서 이삭 생물량이 증가된 유전자변형 옥수수 MON87403은 *Agrobacterium* 매개 형질전환을 통해 전장 *Arabidopsis thaliana ATHB17* 유전자의 코딩 영역을 삽입함에 따라 생산되었다. ATHB17은 특이적 DNA 서열에 결합하고 유전자 발현을 조절하는 식물 전사 인자인 단백질 HD-Zip family의 일원이다.

6) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- MON87403 다양한 조직에서 ATHB17Δ113 단백질 발현 수준을 효소면역측정법(ELISA)으로 분석한 결과, ATHB17Δ113 단백질의 평균 발현 수준 범위는 LOD ~ 0.017 ㎍/g dw이다. 잎에서 0.014 ㎍/g dw로 가장 높았으며, 알곡에서는 검출한계 미만으로 가장 낮았다.

다. 독성

1) 유전자산물이 단백질인 경우

가) 발현단백질의 안전한 식경험의 유무

- ATHB17을 인코딩하는 유전자는 의도적으로 소비되지는 않으나 흔히 소비되는 *Brassica* 종과 계통발생적으로 관련된 일반적인 식물종인 *Arabidopsis thaliana* 에서 유래한다. ATHB17은 비식품 식물인 *Arabidopsis*에서 유래하므로, 식품에 널리 사용되는 종에 존재하는 단백질과 ATHB17Δ113 과의 상동성을 평가하였다.
- 그 결과, 다수의 다른 종의 단백질에서 ATHB17Δ113 아미노산 서열의 core와 높은 동일성 수준(최대 77%)이 관찰되어, 이러한 유의한 서열 동일성 및 구조적 유사성은 인간 및 다른 동물에 의한 동 단백질류의 안전한 섭취이력이 있음을 뒷받침한다.

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

- TOX_2013 독소(toxin) 데이터베이스를 통해 기지의 독소 및 항영양소의 아미노산 서열과 ATHB17Δ113 단백질의 아미노산 서열을 생물정보학적으로 비교분석한 결과, 연관된 배열이 발견되지 않았다.

다) 발현단백질의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 인공위액 안정성 : ATHB17Δ113 단백질은 인공위액에서 97.5% 이상이 30초 이내에 분해되고, 2분 후에는 LOD 미만으로 완전히 소화되는 것으로 확인되었다.
- 인공장액 안정성 : ATHB17Δ113 단백질은 5분 이내 소화되었다.
- 열 안정성 : ATHB17Δ113 단백질은 55℃, 30분간의 열처리에는 기능 활성에 영향이 없었으며, 75 ℃ 및 95 ℃에서 15 및 30분간의 열처리에서는 활성이 유의하게 감소하였다.

라) 발현단백질의 단회투여독성

- CD-1 마우스(암수 각 10마리)를 대상으로 *E. coli* 유래 ATHB17Δ113 단백질을 1,335mg/kg body wt. 용량으로 단회 투여한 결과, 어떠한 사망사례도 발견되지 않았으며, 투여에 다른 체중 및 체중증가량, 임상학적 징후, 사료섭취량, 육안 병리소견에서 부정적 영향이 발견되지 않았다.

마) MON87403 옥수수의 90일 투여독성

- Sprague Dawley rat(암수 각 16마리)를 대상으로 MON87403 옥수수가 약 33% 포함된 사료를 90일간 급이하며, 폐사율, 빈사율, 체중, 사료섭취량, 기능관찰 종합평가(functional observational battery, FOB), 운동활성(locomotor activity), 안검사, 임상병리검사(혈액검사, 혈액응고검사, 혈청화학검사, 요검사), 육안 전신부검, 장기의 중량 및 조직병리검사 등을 실시한 결과, 시험물질과 관련된 부정적 영향이 관찰되지 않았다.

라. 알레르기성

1) 유전자산물이 알레르겐으로 알려져 있는지 여부

- ATHB17Δ113 을 인코딩하는 유전자는 의도적으로 소비되지는 않으나 흔히 소비되는 Brassica 종과 계통 발생적으로 관련된 식물종인 *Arabidopsis thaliana* 에서 유래한다. Arabidopsis는 알레르기성 생물체로 인식되지 않으며, Arabidopsis 단백질은 기지의 알레르겐에 관한 상호심사 데이터베이스에 기재된 바 없다.

2) 유전자산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 유전자산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성은 5, 다, 1), 다)에 제시되었다.

3) 유전자산물 중 이미 알려져 있는 알레르겐과의 상동성

- ATHB17Δ113 단백질의 아미노산 서열과 이미 알려진 알레르겐의 아미노산 서열을 AD_2013(FARRP, 2013) 알레르겐 데이터베이스를 이용하여 생물정보학적으로 비교 분석한 결과, 80개 이상의 아미노산 절편에 걸쳐 35% 이상의 상동성을 보이는 알레르겐 서열은 없었으며, 8개씩의 인접 아미노산과 일치하는 서열도 확인되지 않았다.

4) 유전자산물이 1일 단백질섭취량의 유의한 양을 차지하고 있는지 여부

- MON87403 알곡 내 총단백질 대비 ATHB17Δ113 단백질의 이론적 백분율은 다음과 같다.

  (0.00028 μg/g ÷ 101,300 μg/g) × 100% ≈ 옥수수 총 단백질의 0.0000003%

  MON87403 알곡 내 ATHB17Δ113 단백질의 실제 수준은 검출한계 미만이므로, 상기 값은 MON87403 알곡의 총 단백질 대비 ATHB17Δ113 단백질의 최대 백분율을 나타낸다. 따라서 MON87403의 ATHB17Δ113 단백질은 MON87403 알곡의 총 단백질 중 극히 적은 양이다.
- 2011년도 국민건강영양조사 및 한국 식품수급표에서 한국인의 옥수수 추정 섭취량을 추산한 결과, 각각 1인당 옥수수 평균 만성 섭취량은 0.10g/kg/day, 1.61g/kg/day이고, 급성섭취량은 각각 9.07g/kg/day, 11.11g/kg/day이다.
- 식이 위해 평가를 수행하기 위해서 한국에서 섭취되는 옥수수 제품이 모두 MON87403에서 유래된다는 보수적인 가정을 하여 MON87403 유래 ATHB17Δ113 단백질의 만성 식이 섭취 추정량은 국민건강영양조사 및 식품수급표에서 각각 0.00003㎍/kg/day, 0.00040㎍/kg/day이다. MON87403 유래 ATHB17Δ113 단백질의 급성 식이 섭취 추정량은 국민건강영양조사 및 식품수급표에서 각각 0.0023㎍/kg/day, 0.0028㎍/kg/day이다.
- 급성 독성연구에서 나온 최대무해용량과 관련하여 MOE를 계산한 결과, 4.8×10^{8} 에서 1.2×10^{10}까지의 높은 범위를 나타내어 MON87403 유래 ATHB17Δ113 단백질의 식이노출이 한국인의 건강에 유의한 위해성을 끼치지 않을 것으로 판단된다.

마. 숙주와의 차이

- 2012년 미국 8개 지역에서 4반복으로 MON87403 알곡과 일반 옥수수 알곡을 수확하여 성분 분석을 실시하였다.
- 통계방법으로는 분산분석 혼합모형(mixed-model analysis of variance)를 사용하였고, 통계학적으로 유의적 차이가 나는 성분에 대해 생물학적으로 유의적 차이가 있는지 여부 확인을 위해 허용범위(tolerance interval)와 ILSI 작물 성분 데이터베이스에 공개된 상업적 관행 옥수수 성분의 자연적인 변이범위(ILSI 범위)를 사용하였다.

1) 주요영양성분

(가) 일반성분

- 회분, 탄수화물, 산성세제불용성섬유(ADF), 중성세제불용성섬유(NDF), 총식이섬유(TDF) 분석 결과, MON87403의 값이 관행 대조군의 값과 통계적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

(나) 단백질 및 아미노산

- 단백질 및 아미노산(18개) 분석 결과, MON87403의 값이 관행 대조군의 값과 통계적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

(다) 지방 및 지방산

- 지방 및 지방산(8개) 분석 결과, MON87403의 값이 관행 대조군의 값과 통계적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

2) 미량영양성분

- 미네랄(9개) 및 비타민(7개) 분석 결과, MON87403의 값이 관행 대조군의 값과 통계적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

3) 내재성독소

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

4) 항영양소

- 항영양소 (phytic acid 및 raffinose) 및 2차 대사산물 (furfural, ferulic acid, 및 p-coumaric acid)을 포함하는 알곡 영양소 평가에서는 MON87403의 값이 관행 대조군의 값과 통계적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

5) 알레르기 유발성분

- 옥수수는 주된 알레르기 유발 식품으로 알려져 있지 않다.

6) 삽입된 유전자산물의 대사산물

- ATHB17 코딩서열의 도입 이외에, 관행 옥수수와 비교하여 MON87403에서 유래한 식품 성분에 대한 의도된 변화는 없었다. ATHB17은 특이적 DNA 서열에 결합하고 유전자 발현을 조절하는 식물 전사인자인 HD-Zip family

단백질의 하나이다. MON87403은 R1 생장단계에서 이삭 생물량이 증가한 것을 제외하고는 관행 옥수수와 유의한 차이가 없다.

7) 영양성

- Cobb×Cobb 500 브로일러(암수 각 50마리)를 이용하여 starter, grower/finish용 사료에 MON87403 옥수수 알곡을 배합하여, 21일령까지는 starter용 사료, 그 이후 42일령까지는 grower/finisher용 사료를 섭취시킨 결과, 폐사율, 증체량 및 사료 효율 항목에서 특이적 영향은 관찰되지 않았다.

바. 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향

- MON87403 옥수수는 새로운 대사 경로를 도입하거나 옥수수 내 기존의 내인성 대사 경로에 유의적인 영향을 미치지 않는다.
- ATHB17Δ113 단백질은 우세-음성 기작을 통해 내인성 HD-Zip II 전사 인자의 활성을 조절할 수 있다. 다수의 Arabidopsis HD-Zip II 단백질들이 생식 생장 및 발달에 관여하는 것으로 나타났으며, 옥수수내 여러 내인성 HD-Zip II 유전자들은 생식 조직에 지배적으로 발현된다. 이러한 관찰에 일관되게, MON87403의 R1 단계의 이삭 생물량은 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 증가하였으며, 이는 ATHB17Δ113 단백질이 옥수수 내에서 이삭 생장을 조절함을 시사한다.
- MON87403 내의 이삭 생물량 증가가 비록 통계적으로 유의하며 농업적으로 의미가 큰 증가였으나, 상대적으로 미세한(subtle) 약 12%의 증가였다. ATHB17Δ113은 기능하는 억제 도메인이 결손되었으므로, 유전자 발현에 직접적인 영향을 줄 수는 없다. ATHB17Δ113는 우세 음성 기작을 통해 옥수수 내인성 HD-Zip II 전사인자들의 활성을 조절한다. 따라서 ATHB17Δ113는 이미 옥수수의 내인성 HD-Zip II 전사 인자의 조절 하에 있는 유전자들의 발현만 영향을 준다. 또한 HD-Zip II에 의해 조절되는 경로에 대한 ATHB17Δ113의 영향은 미세한데, 이는 HD-Zip II 단백질들이 음성 피드백 고리를 통해 스스로 및 서로의 합성을 조절하여, 유전자 회로에 안정성을 촉진시키고 HD-Zip II 전사 경로에 대한 동요적 영향을 중재할 수 있기 때문이다. 내인성 HD-Zip II 단백질의 활성을 중재하는 ATHB17Δ113 단백질의 영향은, MON87403 내에서 잠재적으로 HD-Zip II의 전사 네트워크의 음성 피드백을 통해 중재되거나 제한될 수 있다.
- 실제로, ATHB17 도입유전자는 MON87403 내 종합적 전사체 분석으로 측정 가능한 전사물 수준 수준에 매우 작은 변화만을 유발하였다. 옥수수 내인성 HD-Zip II 유전자들의 표적 전사물 수준 분석 결과에서도 MON87403 내 작은 변화만 나타났고, MON87403의 R1 이삭 조직에서의 대사산물 분석 결과 또한 대사산물 수준이 매우 적은 수의 측정 가능한 차이를 나타냈다.
- MON87403은 관행대조군과 비교하여 성분적으로 동등한 것으로 입증되었으며, 이는 ATHB17Δ113의 작용기작 연구에서 나타난 동 단백질의 미세한 효과 특성에 의한 것과 일관된다. 따라서 MON87403은 R1 생장단계에서 이삭 생물량

증가를 제외하고는 관행 옥수수와 유의적 차이가 없다.

- 작용기작 연구, 성분분석 연구의 결과를 토대로, ATHB17 유전자의 도입으로 인해 MON87403에서 비의도적인 영향이 나타날 가능성은 매우 낮다.

사. 식품용으로서의 저장 및 가공에 관한 설명

- MON87403 옥수수에 대한 식품으로서의 저장 및 가공 방법은 관행 옥수수와 다르지 않다.

아. 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황

- 미국(2015), 캐나다(2015), 호주(2016)에서 승인되었다.

6. 심사신청 자료 검토 결과

가. 이상의 검토 내용과 같이 심사규정에 따라 제출된 안전성 심사 자료를 심사한 결과, 사용된 공여체, 숙주 및 유전자변형 과정 등이 식품으로 이용시 안전성 문제를 유발하지 않는다고 판단되었다.

나. 유전자변형농축수산물에 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 의하여 유전자변형 옥수수 MON87403의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성은 농촌진흥청, 환경부, 국립수산과학원에서 심사 완료하였다.

나. 유전자변형 옥수수 MON87403의 안전성 심사결과보고서(안)을 식품의약품안전처 홈페이지 및 정책고객서비스(PCRM)에 2017년 3월 27 ~ 2017년 4월 26일까지 공개하여 의견을 수렴한 결과, 접수된 의견은 없었다.

붙임 : 영양성분 분석 자료

[붙임] 영양성분 분석 자료

1) 탄수화물 및 섬유소

Component (% dwt)[1]	MON 87403 Mean (S.E.)[2] Range	Control Mean (S.E.) Range	Conventional Reference (Range)[3] Tolerance Interval[4]	Control Range Value[5]	Difference (Test minus Control) Mean (S.E.)	Difference (Test minus Control) p-Value
Carbohydrates by Calculation	84.98 (0.34) 83.09 - 86.73	84.98 (0.34) 82.77 - 86.61	(82.55 - 86.97) 81.80, 87.71	3.84	0.0021 (0.12)	0.986
Acid Detergent Fiber	3.63 (0.068) 3.16 - 4.07	3.62 (0.068) 2.91 - 4.40	(2.52 - 4.42) 2.36, 4.43	1.49	0.0087 (0.062)	0.893
Neutral Detergent Fiber	9.47 (0.19) 8.11 - 10.67	9.41 (0.19) 7.53 - 11.01	(6.86 - 12.18) 5.32, 12.85	3.48	0.063 (0.16)	0.696
Total Dietary Fiber	13.04 (0.15) 11.53 - 14.70	12.95 (0.15) 11.50 - 15.69	(9.83 - 17.30) 10.05, 15.51	4.19	0.098 (0.22)	0.657

[1]dwt = dry weight.
[2]Mean (S.E.) = least-square mean (standard error).
[3]Range is the minimum and maximum raw values for the conventional reference maize hybrids.
[4]With 95% confidence, interval contains 99% of the values expressed in the population of conventional reference maize hybrids. Negative limits set to zero.
[5]Maximum value minus minimum value for the control maize hybrid.

2) 단백질 및 아미노산

Component (% dwt)[1]	MON 87403 Mean (S.E.)[2] Range	Control Mean (S.E.) Range	Conventional Reference (Range)[3] Tolerance Interval[4]	Control Range Value[5]	Difference (Test minus Control) Mean (S.E.)	p-Value	% Relative[6]
Protein	10.13 (0.34) 8.41 - 11.90	10.15 (0.34) 8.49 - 12.50	(8.58 - 12.63) 7.72, 12.67	4.01	-0.016 (0.14)	0.911	-0.16
Alanine	0.77 (0.030) 0.63 - 0.91	0.77 (0.030) 0.62 - 0.98	(0.63 - 0.99) 0.55, 1.01	0.36	0.00036 (0.012)	0.975	0.05
Arginine	0.48 (0.0093) 0.41 - 0.53	0.48 (0.0093) 0.41 - 0.54	(0.43 - 0.61) 0.41, 0.59	0.13	-0.00007 (0.0051)	0.988	-0.01
Aspartic Acid	0.63 (0.018) 0.54 - 0.72	0.63 (0.018) 0.52 - 0.74	(0.56 - 0.79) 0.52, 0.78	0.21	0.00058 (0.0080)	0.943	0.09
Cystine/Cysteine	0.21 (0.0041) 0.18 - 0.23	0.21 (0.0041) 0.18 - 0.24	(0.17 - 0.26) 0.16, 0.25	0.06	0.0017 (0.0032)	0.589	0.83
Glutamic Acid	1.85 (0.077) 1.48 - 2.26	1.86 (0.077) 1.43 - 2.34	(1.50 - 2.47) 1.26, 2.52	0.91	-0.0056 (0.033)	0.870	-0.30

2) 단백질 및 아미노산 (계속)

Component (% dwt)[1]	MON 87403 Mean (S.E.)[2] Range	Control Mean (S.E.) Range	Conventional Reference (Range)[3] Tolerance Interval[4]	Control Range Value[5]	Difference (Test minus Control) Mean (S.E.)	p-Value	% Relative[6]
Glycine	0.37 (0.0065) 0.32 - 0.41	0.37 (0.0065) 0.33 - 0.42	(0.32 - 0.44) 0.32, 0.44	0.08	0.00016 (0.0036)	0.966	0.04
Histidine	0.28 (0.0068) 0.24 - 0.33	0.28 (0.0068) 0.24 - 0.33	(0.22 - 0.35) 0.20, 0.35	0.09	0.0016 (0.0034)	0.648	0.55
Isoleucine	0.36 (0.014) 0.29 - 0.43	0.36 (0.014) 0.28 - 0.46	(0.28 - 0.44) 0.26, 0.46	0.17	-0.00044 (0.0061)	0.944	-0.12
Leucine	1.27 (0.059) 0.98 - 1.58	1.27 (0.059) 0.93 - 1.64	(0.98 - 1.65) 0.81, 1.73	0.71	0.0015 (0.026)	0.956	0.12
Lysine	0.27 (0.0048) 0.24 - 0.30	0.27 (0.0048) 0.23 - 0.31	(0.23 - 0.33) 0.24, 0.31	0.07	0.0013 (0.0027)	0.625	0.50
Methionine	0.21 (0.0063) 0.17 - 0.23	0.20 (0.0063) 0.17 - 0.25	(0.16 - 0.26) 0.15, 0.26	0.08	0.00071 (0.0028)	0.803	0.35

2) 단백질 및 아미노산 (계속)

Component (% dwt)[1]	MON 87403 Mean (S.E.)[2] Range	Control Mean (S.E.) Range	Conventional Reference (Range)[3] Tolerance Interval[4]	Control Range Value[5]	Difference (Test minus Control) Mean (S.E.)	p-Value	% Relative[6]
Phenylalanine	0.52 (0.022) 0.41 - 0.63	0.52 (0.022) 0.40 - 0.64	(0.42 - 0.65) 0.36, 0.68	0.24	0.0024 (0.0093)	0.801	0.47
Proline	0.95 (0.030) 0.80 - 1.10	0.95 (0.030) 0.76 - 1.18	(0.73 - 1.12) 0.64, 1.17	0.43	0.0032 (0.015)	0.830	0.34
Serine	0.44 (0.015) 0.35 - 0.51	0.45 (0.015) 0.37 - 0.55	(0.37 - 0.58) 0.34, 0.57	0.18	-0.0068 (0.0072)	0.356	-1.51
Threonine	0.36 (0.0098) 0.30 - 0.40	0.35 (0.0098) 0.30 - 0.41	(0.31 - 0.44) 0.28, 0.43	0.11	0.0025 (0.0043)	0.570	0.69
Tryptophan	0.077 (0.0015) 0.063 - 0.086	0.077 (0.0015) 0.069 - 0.084	(0.067 - 0.096) 0.064, 0.093	0.01	-0.00019 (0.00085)	0.827	-0.25
Tyrosine	0.41 (0.016) 0.32 - 0.48	0.41 (0.016) 0.32 - 0.52	(0.34 - 0.55) 0.30, 0.53	0.20	0.00043 (0.0081)	0.959	0.10

2) 단백질 및 아미노산 (계속)

Component (% dwt)[1]	MON 87403 Mean (S.E.)[2] Range	Control Mean (S.E.) Range	Conventional Reference (Range)[3] Tolerance Interval[4]	Control Range Value[5]	Difference (Test minus Control) Mean (S.E.)	p-Value	% Relative[6]
Valine	0.46 (0.013)	0.46 (0.013)	(0.38 - 0.57)	0.17	-0.00092 (0.0061)	0.880	-0.20
	0.38 - 0.52	0.39 - 0.56	0.35, 0.57				

[1]dwt = dry weight.

[2]Mean (S.E.) = least-square mean (standard error).

[3]Range is the minimum and maximum raw values for the conventional reference maize hybrids.

[4]With 95% confidence, interval contains 99% of the values expressed in the population of conventional reference maize hybrids. Negative limits set to zero.

[5]Maximum value minus minimum value for the control maize hybrid.

[6]The relative magnitude of the difference in mean values between MON 87403 and the control, expressed as a percent of the control.

3) 지방 및 지방산

Component	MON 87403 Mean (S.E.)[2] Range	Control Mean (S.E.) Range	Conventional Reference (Range)[3] Tolerance Interval[4]	Control Range Value[5]	Difference (Test minus Control) Mean (S.E.)	Difference (Test minus Control) p-Value
Total Fat (% dwt)[1]	3.56 (0.072) 3.10 - 3.90	3.54 (0.072) 3.11 - 4.09	(2.49 - 4.70) 1.93, 5.49	0.98	0.026 (0.060)	0.682
16:0 Palmitic[6]	12.77 (0.14) 12.27 - 13.50	12.68 (0.14) 10.59 - 13.59	(9.90 - 13.12) 7.90, 14.94	2.99	0.097 (0.072)	0.219
18:0 Stearic	2.04 (0.022) 1.87 - 2.14	2.06 (0.022) 1.82 - 2.28	(1.46 - 2.42) 1.05, 2.72	0.46	-0.025 (0.019)	0.206
18:1 Oleic	21.84 (0.30) 20.77 - 23.46	21.77 (0.30) 20.50 - 28.08	(21.13 - 34.04) 14.77, 38.25	7.59	0.070 (0.19)	0.716
18:2 Linoleic	61.23 (0.30) 59.60 - 62.78	61.39 (0.30) 57.12 - 63.36	(51.19 - 62.88) 45.88, 70.60	6.25	-0.15 (0.16)	0.372
18:3 Linolenic	1.31 (0.014) 1.22 - 1.40	1.30 (0.014) 1.16 - 1.40	(0.78 - 1.48) 0.69, 1.67	0.24	0.012 (0.010)	0.267

3) 지방 및 지방산 (계속)

Component	MON 87403 Mean (S.E.)[2] Range	Control Mean (S.E.) Range	Conventional Reference (Range)[3] Tolerance Interval[4]	Control Range Value[5]	Difference (Test minus Control) Mean (S.E.)	p-Value
20:0 Arachidic	0.45 (0.012) 0.41 - 0.52	0.45 (0.012) 0.40 - 0.54	(0.30 - 0.52) 0.26, 0.55	0.14	-0.0017 (0.0034)	0.634
20:1 Eicosenoic	0.20 (0.0030) 0.18 - 0.22	0.20 (0.0030) 0.18 - 0.23	(0.19 - 0.30) 0.14, 0.33	0.05	-0.0020 (0.0017)	0.243
22:0 Behenic	0.16 (0.0081) 0.062 - 0.21	0.16 (0.0081) 0.069 - 0.20	(0.055 - 0.23) 0, 0.26	0.13	0.0029 (0.0045)	0.544

[1]dwt = dry weight.
[2]Mean (S.E.) = least-square mean (standard error).
[3]Range is the minimum and maximum raw values for the conventional reference maize hybrids.
[4]With 95% confidence, interval contains 99% of the values expressed in the population of conventional reference maize hybrids. Negative limits set to zero.
[5]Maximum value minus minimum value for the control maize hybrid.
[6]Expressed as % total fatty acid. Prefix numbers refer to number of carbon atoms and number of carbon-carbon double bonds in the fatty acid molecule; 16:0 means sixteen carbon atoms and zero double bonds. Numbers are not included in text discussion for reasons of clarity. The following fatty acids with more than 50% of observations below the assay LOQ were excluded from statistical analysis: caprylic acid, capric acid, lauric acid, myristic acid, myristoleic acid, pentadecanoic acid, pentadecenoic acid, palmitoleic acid, heptadecanoic acid, heptadecenoic acid, gamma linolenic acid, eicosadienoic acid, eicosatrienoic acid, and arachidonic acid.

4) 회분 및 무기질

Component	MON 87403 Mean (S.E.)[2] Range	Control Mean (S.E.) Range	Conventional Reference (Range)[3] Tolerance Interval[4]	Control Range Value[5]	Difference (Test minus Control) Mean (S.E.)	p-Value
Ash (% dwt)[1]	1.31 (0.026) 1.09 - 1.52	1.33 (0.026) 1.10 - 1.51	(1.02 - 1.53) 1.08, 1.60	0.42	-0.017 (0.019)	0.371
Calcium (% dwt)	0.0037 (0.00021) 0.0026 - 0.0049	0.0037 (0.00021) 0.0025 - 0.0049	(0.0011 - 0.0058) 0.0011, 0.0059	0.00	0.00006 (0.00006)	0.321
Copper (mg/kg dwt)	1.57 (0.11) 1.13 - 3.35	1.55 (0.11) 1.04 - 2.91	(0.92 - 6.11) 0.29, 3.17	1.87	0.023 (0.12)	0.852
Iron (mg/kg dwt)	19.33 (0.82) 15.60 - 24.15	19.60 (0.82) 15.81 - 23.90	(14.66 - 25.54) 10.87, 27.03	8.09	-0.27 (0.21)	0.240
Magnesium (% dwt)	0.12 (0.0033) 0.10 - 0.14	0.12 (0.0033) 0.096 - 0.14	(0.093 - 0.14) 0.092, 0.15	0.04	-0.00010 (0.0013)	0.939
Manganese (mg/kg dwt)	6.17 (0.31) 4.36 - 7.85	6.14 (0.31) 4.55 - 8.55	(4.02 - 9.46) 2.59, 10.23	3.99	0.029 (0.11)	0.787

4) 회분 및 무기질 (계속)

Component	MON 87403 Mean (S.E.)[2] Range	Control Mean (S.E.) Range	Conventional Reference (Range)[3] Tolerance Interval[4]	Control Range Value[5]	Difference (Test minus Control) Mean (S.E.)	 p-Value
Phosphorus (% dwt)	0.30 (0.0068) 0.25 - 0.33	0.30 (0.0068) 0.24 - 0.34	(0.24 - 0.36) 0.24, 0.38	0.10	-0.0017 (0.0041)	0.683
Potassium (% dwt)	0.33 (0.0076) 0.30 - 0.40	0.33 (0.0076) 0.30 - 0.40	(0.27 - 0.42) 0.23, 0.42	0.10	-0.0023 (0.0044)	0.611
Zinc (mg/kg dwt)	20.52 (0.83) 16.30 - 25.20	20.98 (0.83) 16.49 - 27.14	(15.56 - 30.10) 9.09, 32.95	10.65	-0.46 (0.30)	0.165

[1]dwt = dry weight.

[2]Mean (S.E.) = least-square mean (standard error).

[3]Range is the minimum and maximum raw values for the conventional reference maize hybrids.

[4]With 95% confidence, interval contains 99% of the values expressed in the population of conventional reference maize hybrids.
Negative limits set to zero.

[5]Maximum value minus minimum value for the control maize hybrid.

5) 비타민

Component (mg/kg dwt)[1]	MON 87403 Mean (S.E.)[2] Range	Control Mean (S.E.) Range	Conventional Reference (Range)[3] Tolerance Interval[4]	Control Range Value[5]	Difference (Test minus Control) Mean (S.E.)	p-Value
Vitamin A (β-Carotene)	1.16 (0.039) 0.89 - 1.37	1.14 (0.039) 0.88 - 1.37	(0.48 - 2.85) 0, 3.10	0.49	0.025 (0.023)	0.319
Vitamin B1 (Thiamin)	3.48 (0.13) 2.72 - 4.19	3.52 (0.13) 2.82 - 4.23	(2.54 - 4.99) 1.73, 5.12	1.41	-0.046 (0.042)	0.277
Vitamin B2 (Riboflavin)	1.83 (0.059) 1.48 - 2.43	1.71 (0.059) 1.22 - 2.22	(1.35 - 2.35) 1.25, 2.22	1.00	0.12 (0.053)	0.057
Vitamin B3 (Niacin)	16.47 (0.78) 12.74 - 21.74	16.59 (0.78) 12.61 - 26.88	(12.77 - 30.15) 7.36, 30.18	14.27	-0.12 (0.46)	0.788
Vitamin B6 (Pyridoxine)	7.11 (0.17) 5.50 - 10.63	6.89 (0.17) 5.85 - 9.36	(4.66 - 8.80) 4.51, 8.98	3.51	0.22 (0.19)	0.255
Vitamin B9 (Folic Acid)	0.39 (0.016) 0.27 - 0.50	0.39 (0.016) 0.28 - 0.47	(0.22 - 0.77) 0.038, 0.69	0.20	0.00065 (0.0086)	0.940

5) 비타민 (계속)

Component (mg/kg dwt)[1]	MON 87403 Mean (S.E.)[2] Range	Control Mean (S.E.) Range	Conventional Reference (Range)[3] Tolerance Interval[4]	Control Range Value[5]	Difference (Test minus Control) Mean (S.E.)	p-Value
Vitamin E (α-Tocopherol)	17.87 (0.65)	18.33 (0.65)	(8.68 - 25.90)	8.20	-0.47 (0.24)	0.095
	14.70 - 20.76	15.03 - 23.23	2.50, 27.12			

[1]dwt = dry weight.
[2]Mean (S.E.) = least-square mean (standard error).
[3]Range is the minimum and maximum raw values for the conventional reference maize hybrids.
[4]With 95% confidence, interval contains 99% of the values expressed in the population of conventional reference maize hybrids.
Negative limits set to zero.
[5]Maximum value minus minimum value for the control maize hybrid.

6) 항영양소 및 2차 대사산물

Component	MON 87403 Mean (S.E.)[2] Range	Control Mean (S.E.) Range	Conventional Reference (Range)[3] Tolerance Interval[4]	Control Range Value[5]	Difference (Test minus Control) Mean (S.E.)	Difference (Test minus Control) p-Value
Anti-nutrient (% dwt[1])						
Phytic Acid	0.89 (0.017) 0.70 - 1.04	0.87 (0.017) 0.67 - 1.07	(0.68 - 1.15) 0.68, 1.18	0.40	0.023 (0.016)	0.164
Raffinose	0.22 (0.012) 0.14 - 0.30	0.23 (0.012) 0.17 - 0.31	(0.062 - 0.35) 0.00088, 0.40	0.14	-0.0030 (0.0041)	0.487
Secondary Metabolite (µg/g dwt)						
Ferulic Acid	2262.60 (61.27) 1833.71 - 2587.97	2213.54 (61.27) 1344.15 - 2694.48	(1381.65 - 2990.97) 827.07, 3473.40	1350.33	49.06 (48.06)	0.341
p-Coumaric Acid	216.73 (5.25) 160.59 - 242.25	212.58 (5.25) 173.81 - 260.72	(103.35 - 383.41) 6.62, 433.65	86.91	4.15 (5.09)	0.441

[1]dwt = dry weight.
[2]Mean (S.E.) = least-square mean (standard error).
[3]Range is the minimum and maximum raw values for the conventional reference maize hybrids.
[4]With 95% confidence, interval contains 99% of the values expressed in the population of conventional reference maize hybrids.
Negative limits set to zero.
[5]Maximum value minus minimum value for the control maize hybrid.

7) ILSI 데이터베이스 자료

Grain Tissue Components[1]	Literature Range[2]	ILSI Range[3]
Grain Nutrients		
Proximates (% dwt)		
Ash	1.17 – 2.01[a]; 1.27 – 1.63[b]	0.616 – 6.282
Carbohydrates by calculation	81.31 – 87.06[a]; 82.10 – 85.98[b]	77.4 – 89.5
Fat, total	2.95 – 4.40[a]; 3.18 – 4.23[b]	1.742 – 5.900
Protein	8.27 – 13.33[a]; 9.17 – 12.19[b]	6.15 – 17.26
Fiber (% dwt)		
Acid detergent fiber	1.82 – 4.48[a]; 1.83 – 3.39[b]	1.82 – 11.34
Neutral detergent fiber	6.51 –12.28[a]; 6.08 – 10.36[b]	5.59 – 22.64
Total dietary fiber	10.65 – 16.26[a]; 10.57 – 14.56[b]	9.01 – 35.31
Amino Acids (% dwt)		
Alanine	0.60 – 1.04[a]; 0.68 – 0.96[b]	0.44 - 1.39
Arginine	0.34 – 0.52[a]; 0.34 – 0.50[b]	0.12 - 0.64
Aspartic acid	0.52 – 0.78[a]; 0.59 – 0.76[b]	0.33 – 1.21
Cystine	0.19 – 0.26[a]; 0.20 – 0.26[b]	0.13 – 0.51
Glutamic acid	1.54 – 2.67[a]; 1.71 – 2.44[b]	0.97 – 3.54
Glycine	0.33 – 0.43[a]; 0.33 – 0.42[b]	0.18 – 0.54
Histidine	0.25 – 0.37[a]; 0.27 – 0.34[b]	0.14 – 0.43
Isoleucine	0.30 – 0.48[a]; 0.32 – 0.44[b]	0.18 – 0.69
Leucine	1.02 – 1.87[a]; 1.13 – 1.65[b]	0.64 – 2.49
Lysine	0.26 – 0.33[a]; 0.28 – 0.31[b]	0.17 – 0.67
Methionine	0.17 – 0.26[a]; 0.16 – 0.30[b]	0.12 – 0.47
Phenylalanine	0.43 – 0.72[a]; 0.45 – 0.63[b]	0.24 – 0.93
Proline	0.74 – 1.21[a]; 0.78 – 1.11[b]	0.46 – 1.63
Serine	0.39 – 0.67[a]; 0.43 – 0.60[b]	0.24 – 0.77
Threonine	0.29 – 0.45[a]; 0.31 – 0.39[b]	0.22 – 0.67
Tryptophan	0.047 – 0.085[a]; 0.042 – 0.070[b]	0.027 – 0.215
Tyrosine	0.13 – 0.43[a]; 0.12 – 0.41[b]	0.10 – 0.64
Valine	0.42 – 0.62[a]; 0.45 – 0.58[b]	0.27 – 0.86
Fatty Acids (% Total FA)		
16:0 Palmitic	8.80 – 13.33[a]; 9.84 – 12.33[b]	7.94 – 20.71
18:0 Stearic	1.36 – 2.14[a]; 1.30 – 2.10[b]	1.02 – 3.40
18:1 Oleic	19.50 – 33.71[a]; 19.59 – 29.13[b]	17.4 – 40.2
18:2 Linoleic	49.31 – 64.70[a]; 56.51 – 65.65[b]	36.2 – 66.5
18:3 Linolenic	0.89 – 1.56[a]; 1.03 – 1.38[b]	0.57 – 2.25
20:0 Arachidic	0.30 – 0.49[a]; 0.30 – 0.41[b]	0.279 – 0.965
20:1 Eicosenoic	0.17 – 0.29[a]; 0.17 – 0.27[b]	0.170 – 1.917
22:0 Behenic	0.069 – 0.28[a]; 0.059 – 0.18[b]	0.110 – 0.349
Minerals		
Calcium (% dwt)	0.0030 – 0.0083[c]	0.00127 – 0.02084
Copper (mg/kg dwt)	0.85 – 3.54[c]	0.73 – 18.50
Iron (mg/kg dwt)	10.58 – 30.97[c]	10.42 – 49.07
Magnesium (% dwt)	0.085 – 0.15[c]	0.0594 – 0.194
Manganese (mg/kg dwt)	3.67 – 9.39[c]	1.69 – 14.30
Phosphorous (% dwt)	0.25 – 0.38[c]	0.147 – 0.533
Potassium (% dwt)	0.29 – 0.47[c]	0.181 – 0.603
Zinc (mg/kg dwt)	16.67 – 31.38[c]	6.5 – 37.2

7) ILSI 데이터베이스 자료 (계속)

Grain Tissue Components[1]	Literature Range[2]	ILSI Range[3]
Vitamins (mg/kg dwt)		
Folic acid	0.19 – 0.35[a]; 0.23 – 0.42[b]	0.147 – 1.464
Vitamin A [β–Carotene]	122 – 4740[d]	0.19 – 46.81
Vitamin B_1 [Thiamine]	2.33 – 4.17[a]; 2.71 – 4.33[b]	1.26 – 40.00
Vitamin B_2 [Riboflavin]	0.94 – 2.42[a]; 1.64 – 2.81[b]	0.50 – 2.36
Vitamin B_3 [Niacin]	15.07 – 32.38[a]; 13.64 – 42.06[b]	10.37 – 46.94
Vitamin B_6 [Pyridoxine]	4.93 – 7.53[a]; 4.97 – 8.27[b]	3.68 – 11.32
Vitamin E [α–Tocopherol]	5.96 – 18.44[a]; 2.84 – 15.53[b]	1.537 – 68.672
Grain Anti–Nutrients (% dwt)		
Phytic acid	0.69 – 1.09[a]; 0.60 – 0.94[b]	0.111 – 1.570
Raffinose	0.079 – 0.22[a]; 0.061 – 0.15[b]	0.020 – 0.320
Grain Secondary Metabolites (µg/g dwt)		
Ferulic acid	1205.75 – 2873.05[a]; 1011.40 – 2539.86[b]	291.9 – 3885.8
p–Coumaric acid	94.77 – 327.39[a]; 66.48 – 259.68[b]	53.4 – 576.2

Forage Tissue Components[1]	Literature Range[2]	ILSI Range[3]
Forage Nutrients		
Proximates (% dwt)		
Ash	2.67 – 8.01[a]; 4.59 – 6.90[b]	1.527 – 9.638
Carbohydrates by calculation	81.88 – 89.26[a]; 84.11 – 87.54[b]	76.4 – 92.1
Fat, total	1.28 – 3.62[a]; 0.20 – 1.76[b]	0.296 – 4.570
Protein	5.80 – 10.24[a]; 5.56 – 9.14[b]	3.14 – 11.57
Fiber (% dwt)		
Acid detergent fiber	19.11 – 30.49[a]; 20.73 – 33.39[b]	16.13 – 47.39
Neutral detergent fiber	27.73 – 49.62[a]; 31.81 – 50.61[b]	20.29 – 63.71
Minerals (% dwt)		
Calcium	0.12 – 0.33[a]; 0.21 – 0.41[b]	0.07139 – 0.57679
Phosphorous	0.090 – 0.26[a]; 0.13 – 0.21[b]	0.09362 – 0.37041

[1]dwt=dry weight; FA = fatty acids.
[2]Literature range references: [a]US and [b]Chile (Harrigan et al., 2009), [c]France (Ridley et al., 2011), [d](Safawo et al., 2010).
[3]ILSI range is from ILSI Crop Composition Database, 2011 [Accessed 9 January 2013] (ILSI, 2011)[7].