

**유전자변형 옥수수 VC0-Ø1981-5
안전성 심사결과 보고서**

2018. 8. 7.

<차례>

I. 요약	1
II. 심사경위	2
III. 심사경과	2
IV. 심사방법	2
V. 심사 신청 자료 검토	2
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	3
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	4
가. 형질전환과정에 대한 정보	4
나. 도입 유전자에 대한 정보	6
5. 유전자변형농축수산물의 특성	8
가. 유전자변형농축수산물 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	13
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
[붙임] 영양성분 분석 자료	15

유전자변형 옥수수 VCO-Ø1981-5

안전성 심사 결과 보고서(안)

I. 요약

제넥티브코리아는 글리포세이트 제초제내성을 나타내는 유전자변형 옥수수 VCO-Ø1981-5에 대해 식품의약품안전처에 안전성 심사를 신청하였고, ‘유전자변형 식품등 안전성 심사위원회’(이하 ‘심사위원회’라 한다)는 「유전자변형식품등의 안전성 심사등에 관한 규정(이하 ‘심사규정’이라 한다)」에 따라 안전성을 심사하였다.

VCO-Ø1981-5는 *epsps grg23ace5* 유전자 도입을 통한 EPSPS ACE5 단백질 발현으로 제초제인 글리포세이트에 내성을 나타내는 옥수수이다.

VCO-Ø1981-5에 도입된 *epsps grg23ace5* 유전자는 southern blot을 통해 4세대에 걸쳐 안정적으로 유지되는 것이 확인되었다.

기존에 알려진 독소와의 유사성을 알아보기 위해 NCBI 단백질 데이터베이스 (2013)를 이용하여 독소 및 항영양소의 아미노산 서열과 EPSPS ACE5 아미노산 서열을 비교 분석한 결과, 서열 상동성이 없는 것으로 확인되었다. 또한 EPSPS ACE5 단백질에 대한 마우스 단회투여독성 평가 자료를 검토한 결과, 독성이 없는 것으로 확인되었다.

기존에 알려진 알레르겐과의 유사성을 알아보기 위해 AllergenOnline 데이터베이스 (2013)를 이용, EPSPS ACE5 아미노산 서열에 대하여 기존의 알려진 알레르기 유발 물질을 대상으로 80개 이상의 아미노산 서열에서 35% 이상 상동성을 가지는지 여부와 8개의 연속적인 아미노산이 일치하는지 여부를 검색한 결과, 기존 알레르기 유발 물질과 상동성이 없음이 확인되었다.

VCO-Ø1981-5와 기존 옥수수의 주요영양성분, 미량영양성분, 항영양소 등의 함량을 비교한 결과, 생물학적 차이가 없었다. 육계를 대상으로 VCO-Ø1981-5 옥수수를 42일 동안 급이한 결과, 기존 옥수수와 영양성에 차이가 없는 것이 확인되었다.

결론적으로 VCO-Ø1981-5 옥수수는 지금까지 식품으로 섭취해온 옥수수와 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

II. 심사경위

- 제넥티브코리아는 글리포세이트 제초제내성을 나타내는 유전자변형 옥수수 VCO-Ø1981-5를 식품위생법 제18조에 따른 안전성 심사를 받기 위하여 2014년 9월 16일 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 심사위원회에 심사 의뢰하고,
- 심사위원회는 신청인이 제출한 자료에 근거하여 아래와 같이 심사규정에 따라 안전성평가가 이루어졌는지 여부를 확인하였다.

III. 심사경과

- 심사대상품목

대상품목	신청자	개발자	제외국의 안전성 승인 현황
유전자변형 옥수수 VCO-Ø1981-5	제넥티브코리아	Genective SA	미국(2013), 캐나다(2014)

- 심사경과

- 2014년 8월 28일 : 안전성 심사 신청
- 2014년 9월 16일 : 1차 안전성 심사위원회
- 2014년 10월 15일 : 2차 안전성 심사위원회
- 2015년 9월 15일 : 3차 안전성 심사위원회
- 2017년 8월 29일 : 4차 안전성 심사위원회
- 2018년 3월 20일 : 5차 안전성 심사위원회
- 2018년 6월 19일 : 6차 안전성 심사위원회

IV. 심사방법

- 본 품목과 관련하여 심사 신청된 유전자변형농축수산물에 심사규정의 적용대상 인지를 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
 - 제넥티브코리아가 심사 신청한 유전자변형 옥수수 VCO-Ø1981-5는 EPSPS ACE5 단백질을 생산하는 *epsps grg23ace5* 유전자가 도입된 것으로 제초제인 글리포세이트에 내성을 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

- 제넥티브코리아가 심사 신청한 유전자변형 옥수수 VCO-Ø1981-5는 *epsps* *grg23ace5*(5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase의 변형된 형태) 유전자를 발현하여 제초제인 글리포세이트에 내성을 나타낸다.
- 재배방법 및 이용방법은 기존의 옥수수와 동일하다.

2. 숙주

가. 분류학적 특성

- 과명(Family) : *Poaceae*
- 아과명(Subfamily) : *Panicoideae*
- 속명((Western Hemisphere) Genus) : *Zea*
- 종명(Species) : *Zea mays* L. (maize)
- 아종명(Subspecies) : *Zea mays* subsp. *mays* (L.) lltis (maize, 2n=20)
- 일반명(Common Name) : 옥수수(Maize or Corn)
- 품종/계통(Cultivar/line) : Hi-II

나. 재배·사육 및 품종개량의 역사

- 옥수수는 오랜 기간 동안 식량으로 광범위하게 사용되고 있으며, 밀과 쌀에 이어 세계 제3위의 주요 식량 작물 중 하나이다. 전 세계 25개국 이상에서 상업용 작물로 재배되고 있으며 식품 및 사료로 사용된다. 15세기경 아메리카 대륙의 발견으로 전세계 온대지역으로 확산되었으며 현재 미국 Corn Belt 지역에서 대량 생산되고 있다.

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

- 옥수수의 인체나 동물에 대한 병리학적 특성, 독성, 알레르기성 등이 보고된 바는 없다.
- 다만 옥수수는 피트산(phytic acid), 덤보아(DIMBOA, 2,4-Dihydroxy-7-methoxy- 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one) *, 라피노스(raffinose), 트립신, 키모 트립신 저해제가 함유되어 있으나 영양학적 의미는 그리 크지 않다고 알려져 있다.

- * 곤충에 대한 독성과 관련이 있다고 알려져 있으나 명확한 작용기전은 밝혀진 바가 없으며 인체와 동물에 미치는 독성이나 생리학적인 영향에 관한 자료는 보고된 바가 없음

라. 안전한 식경험의 유무

- 옥수수에는 오랜 기간 동안 식품원료로 광범위하게 사용되고 있으며, 옥수수의 인체나 동물에 대한 병리학적인 특성, 독성, 알레르기성 등이 보고된 바는 없다.

3. 공여체

가. 분류학적 특성

- *epsps grg23ace5* 유전자 : *Arthrobacter globiformis*(토양세균)에서 기원한 native *epsps grg23* 유전자의 최적화된 형태이다.
- 일반명 : *A. globiformis*
- 과명(Family) : *Micrococcaceae*
- 속명(Genus) : *Arthrobacter*
- 종명(Species) : *globiformis*

나. 안전한 식경험의 유무, 식품용 이외의 노출 경로

- *A. globiformis*는 식용으로 사용되지 않았다. 호기성 토양세균 중 하나인 그람 양성 코리네 세균의 일종으로 토양, 물 및 기타 자연에 널리 분포되어 있으며, 운동성이 약하고 포자를 형성하지 않는다.

다. 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성

- *Arthrobacter* 종은 미국 등 대부분 국가에서 위험군으로 분류되어 있지 않거나 최저 위험군으로 분류되어 있으며, 특히 *A. globiformis*의 경우 인체 및 동물에 유해한 독성이나 알레르기성이 보고된 바가 없고 인체감염에 대한 보고 사례도 없다.

4. 유전자변형

가. 형질전환 과정에 대한 정보

1) 형질전환 방법

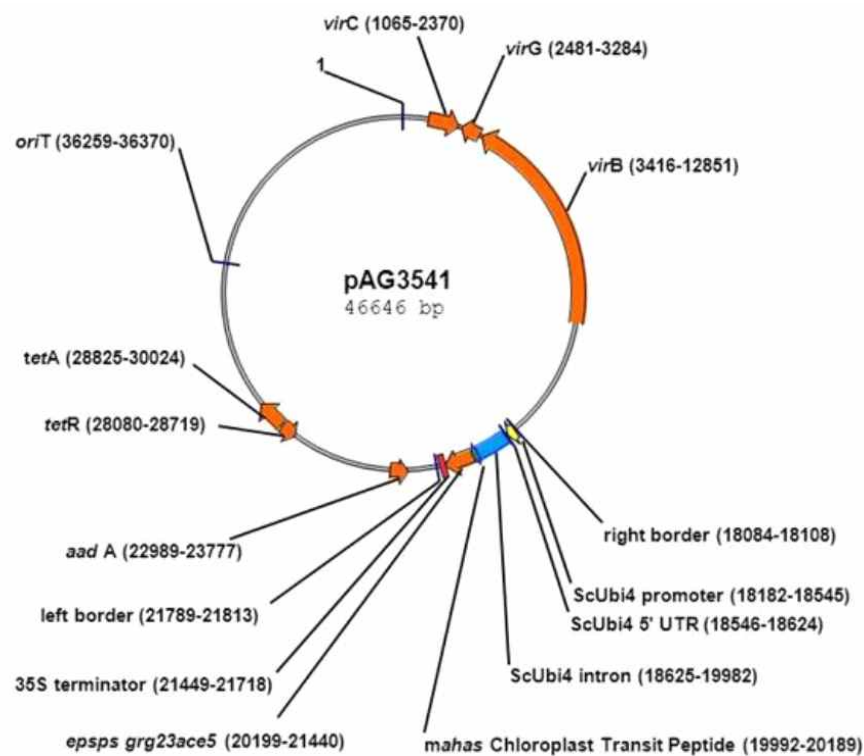
- 아그로박테리움법을 사용하였다.
- 클리포사이트 내성을 가진 *epsps grg23ace5* 유전자를 분리하여 최적화 시킨 후 형질전환에 필요한 벡터 pAG3541을 제작한다. 수분 후 약 8일 정도 경과한

미성숙 배아를 절개하여 pAG3541 플라스미드를 함유한 *Agrobacterium tumefaciens* 균주를 접종한다. 이후 아그로박테리움 제거를 위하여 티멘틴 항생제가 포함된 배지에서 배양 후 글리포세이트가 함유된 배지에서 유전자 변형된 캘러스를 선별한다.

2) 벡터에 대한 정보

가) 기원

- 형질전환에는 pAG3541 플라스미드 벡터를 사용하였으며, 글리포세이트 내성을 가지는 EPSPS ACE5 효소를 생산하는 *epsps grg23ace5* 발현 카세트가 포함되어 있다.



< 플라스미드 벡터 pAG3541 >

나) 숙주에서의 확인

- Southern 분석 및 염기서열 분석을 통해 유전자변형 옥수수 VCO-Ø1981-5에는 단일 카피의 T-DNA가 삽입되었으며 벡터에서의 염기서열과 동일함을 확인하였다.

다) 숙주에서의 기능

- *epsps grg23ace5*는 EPSPS ACE5 단백질을 발현하여 글리포세이트 제초제에 대한 내성을 나타낸다.

라) 제한효소 절단 지도

- 제한효소 절단 지도가 제시되었다.

마) 유해염기 서열 유무

- 플라스미드의 백본(backbone) 유전자는 도입되지 않았으며, 유해염기서열은 존재하지 않는 것으로 나타났다.

바) 전달성에 관한 정보

- 플라스미드 벡터 pAG3541는 *E. coli* 및 *Agrobacterium tumefaciens*를 포함한 그램 음성 세균을 제외한 다른 종류의 세균 또는 식물/동물 세포내에서 증식 및 복제가 제한되므로 다른 생물체 전달될 가능성은 없다.

3) 중간숙주에 대한 정보

- *Agrobacterium tumefaciens* 계통인 LBA4404가 중간숙주로 사용되었다. 중간숙주로 사용된 아그로박테리움은 식물에 종양을 일으키는 유전자를 포함하지 않은 T-DNA 내의 유전정보만을 숙주식물에 전달한다.

나. 도입유전자에 대한 정보

1) 구성 유전자의 특성, 염기서열, 제한효소 절단지도

가) 선발표지유전자

- *epsps grg23ace5* : *Arthrobacter globiformis*(토양세균)에서 기원하였으며 유전자는 EPSPS ACE5 단백질을 발현하여 글리포세이트 제초제에 대한 내성을 가지게 한다.

나) 조절인자

- *epsps grg23ace5* 유전자는 사탕수수 ubiquitin-4 유전자에서 유래한 ScUbi 5'UTR과 결합된 ScUbi4 항시 발현 프로모터, ScUbi4 인트론 및 CaMV에서 유래한 35s 터미네이터에 의해 조절된다.
- *epsps grg23ace5* 유전자 앞쪽에는 옥수수 acetohydroxyacid synthase 유전자에서 유래한 엽록체 전이 펩티드(mAHAS CTP) 염기서열이 융합되어 있으며 이 펩티드는 발현된 EPSPS ACE5 단백질을 엽록체로 이동시켜 엽록체 내 shikimate pathway에 작용할 수 있게 함으로써 글리포세이트에 대한 내성을 높인다.

다) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

- 상기 조절 인자를 제외하고 T-DNA 기능에 영향을 미치는 어떠한 다른 인자도 사용되지 않았다.

2) 크기 및 명칭

- 벡터 내 유전적 요소의 크기 및 명칭이 다음의 표로 제시되었다.

< 플라스미드 벡터(pAG3541)의 주요 구성 요소 >

명칭	크기(bp)	위치(bp)	유래 및 기능
<i>virC</i>	1306	1065-2370	<i>A. tumefaciens</i> pTiBo542의 <i>virC</i> 오페론
<i>virG</i>	804	2481-3284	<i>A. tumefaciens</i> pTiBo542의 <i>virG</i> 유전자
<i>virB</i>	9463	3416-12851	<i>A. tumefaciens</i> pTiBo542의 <i>virB</i> 오페론
ORI ColE1	1079	14869-15947	<i>E.coli</i> 내의 pBR322 플라스미드의 복제원점을 포함하는 절편
right border	25	18084-18108	pTiT37 플라스미드로부터 유래된 노파린 타입 T-DNA의 우측 경계 DNA 서열로 <i>A. tumefaciens</i> 로부터 식물계놈의 T-DNA 전이 시작점으로 사용됨
개재 서열	73	18109-18181	DNA 클로닝에 사용된 서열
사탕수수 ubiquitin-4 유전자로부터 유래된 프로모터	364	18182-18545	사탕수수 ubiquitin-4 유전자의 프로모터 부위
5'UTR	79	18546-18624	사탕수수 ubiquitin-4 유전자의 5' 미번역 부위
사탕수수 ubiquitin-4 유전자로부터 유래된 인트론	1358	18625-19982	사탕수수 ubiquitin-4 유전자의 인트론 부위
개재 서열	9	19983-19991	DNA 클로닝에 사용된 서열
옥수수 AHAS 엽록체 전이 펩티드	198	19992-20189	옥수수의 acetohydroxyacid synthase 유전자로부터 유래된 N-말단 엽록체 전이 펩티드 서열
개재 서열	9	20190-20198	DNA 클로닝에 사용된 서열
<i>epsps grg23ace5</i>	1242	20199-21440	<i>Arthrobacter globiformis</i> 로부터 유래된 변형 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate 합성효소의 해독서열
개재 서열	8	21441-21448	DNA 클로닝에 사용된 서열
CaMV 35s	270	21449-21718	컬리플라워모자이크바이러스 35s 전사체의 터미네이터 부위
개재 서열	70	21719-21788	DNA 클로닝에 사용된 서열
left border	25	21789-21813	Ti 플라스미드 pTiA6의 좌측경계서열로 <i>A. tumefaciens</i> 로부터 식물계놈으로의 T-DNA 전이 종결지점을 정의함
addA	789	22989-23777	<i>E.coli</i> 의 아미노글리코시드아데닐 전이효소 유전자

명칭	크기(bp)	위치(bp)	유래 및 기능
ORI ColE1	1079	24617-25695	<i>E.coli</i> 의 내에 있는 pBR322 플라스미드의 복제 원점을 포함하는 절편
tetR	640	28080-28719	<i>E.coli</i> Tn1721의 테트라사이클린 저항성 억제 인자
tetA	1200	28825-30024	<i>E.coli</i> Tn1721의 테트라사이클린 저항성 인자
ORI T RK2	112	36259-36370	<i>A. tumefaciens</i> 내에 있는 RK2 플라스미드의 복제 원점을 포함하는 절편
ORI V RK2	618	45567-46184	<i>A. tumefaciens</i> 내에 있는 RK2 플라스미드의 복제 원점을 포함하는 절편

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

- 구성 유전자의 기능은 4, 나, 2)의 표에 제시되었다.

5) 유해염기서열의 유무

- EPSPS ACE5 단백질 아미노산 서열이 알려진 유해한 단백질을 생산하는 서열과 유의한 상동성을 나타내는지 확인하기 위하여 NCBI 단백질 데이터 베이스(2013)을 이용하여 BLASTP 등의 프로그램으로 검색한 결과, 삽입 유전자 내에 어떠한 유해 서열도 존재하지 않는 것으로 나타났다.

6) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현 가능성

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

7) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입

- 염기서열 분석을 통해 목적하는 유전자 이외의 염기서열이 혼입되지 않았음을 확인하였다.

5. 유전자변형농축수산물의 특성

가. 유전자변형농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보

1) 유전자변형농축수산물의 계놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

- 삽입된 *epsps grg23ace5*는 토양 세균인 *A. globiformis* 유래 *epsps grg23* 유전자가 변형된 형태로 EPSPS ACE5 단백질을 발현을 통해 글리포세이트 제조제에 대한 내성을 부여한다.

2) 삽입부위의 수

- Southern 분석 결과 VCO-Ø1981-5 옥수수에는 한 개의 *epsps grg23ace5* 유전자 카세트가 도입되었음이 확인 되었다

3) 각 삽입부위의 삽입유전자의 구성

가) 복제수, 염기서열

- 삽입 과정에서 옥수수 게놈의 21bp 염기결실이 발생하였으며 T-DNA의 우측경계와 좌측경계에서 각각 22bp, 16bp의 염기 결실이 발생하여 삽입된 T-DNA의 크기는 3,692bp가 되었다(원래 T-DNA 단편의 크기는 3,730bp). *epsps grg23ace5* 유전자의 발현 카세트는 완전한 형태로 삽입되었다.

나) 이미 알려져 있는 독소나 항영양소를 암호화하는 유전자와의 상동성

- VCO-Ø1981-5 옥수수에서 발현되는 EPSPS ACE5 단백질과 독소 및 항영양소와 유의한 상동성을 나타내는지 확인하기 위해 NCBI 단백질 데이터베이스 (2013)를 이용하여 BLASTP 프로그램으로 검색한 결과, 삽입유전자 내에 어떠한 유해 서열도 존재하지 않는 것으로 나타났다.

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 않는다.

5) 안정성에 관한 사항

가) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

- VCO-Ø1981-5에 존재하는 삽입 DNA의 안정성을 평가하기 위해 VCO-Ø1981-5 DNA를 사용하여 4세대에 걸친 Southern blot 분석을 실시한 결과 도입 DNA가 유지됨이 확인되었다.
- 멘델의 법칙에 따른 표현형 안정성 평가 결과, 4 세대의 제초제 내성 표현형 분리비는 모두 예상되는 결과를 따르는 것으로 확인되어 단일 유전자와 (loci)로 유전됨이 증명되었다.

나) 복수 세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- 유전자변형 옥수수 VCO-Ø1981-5에서 발현되는 EPSPS ACE5 단백질의 발현 수준을 2세대에서 잎(V4~R6 생장단계), 뿌리(V4~R6 생장단계), 알곡(R6)에 대해 ELISA 방법으로 측정한 결과, 발현 단백질이 2세대에 걸쳐 안정적으로 발현됨이 확인되었다.

나. 유전자산물에 관한 정보

1) 유전자산물의 화학적 성질

- EPSPS ACE5, *Arthrobacter* 유래 EPSPS GRG23 및 유전자비변형 옥수수 유래 EPSPS 단백질간의 온도 안정성, 효소 활성 및 기질 특이성을 측정하여 이 단백질의 생화학적, 기능적 특성을 확인 하였다. 유전자 변형 VCO-Ø1981-5 옥수수에서 발현되는 EPSPS ACE5 효소는 EPSPS GRG23 단백질보다 증진된 효소 반감기와 온도 안정성을 가져 포장 생육 조건에 더욱 적합하며, 글리 포세이트와 낮은 결합력을 가져 내성을 유지할 수 있다.

2) 유전자산물의 기능

- VCO-Ø1981-5 옥수수에 삽입된 *epsps grg23ace5* 유전자는 글리포세이트에 내성을 가진 EPSPS ACE5 단백질을 발현한다. 이 EPSPS ACE5 단백질은 *Arthrobacter* 유래 EPSPS GRG23 효소의 총 10개 아미노산을 변환시킨 것으로 옥수수 유래 EPSPS 효소에 더 근접하게 만들어진 것이다.

3) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

- EPSPS ACE5 단백질 번역 후 변이유무를 확인하기 위해 N-말단 아미노산 서열 비교 및 당화분석이 수행되었으며, 옥수수에서 발현되는 EPSPS ACE5 단백질과 *E. coli* 발현 EPSPS 단백질의 아미노산 서열은 서로 동일하였으며 발현된 단백질에서 당화반응은 일어나지 않아 번역 후 변이가 일어나지 않음이 확인되었다.

4) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- SDS-PAGE를 통한 분자량 분석, Western blot을 통한 면역 반응성 분석, MALDI MS/MS를 통한 질량분석을 통해 발현 단백질에는 구조가 변화가 없는 것으로 확인되었다.

5) 새로운 특성의 표현형

- 새롭게 도입된 *epsps grg23ace5* 유전자는 EPSPS ACE5 단백질을 발현하여 글리포세이트에 내성을 가지게 한다.

6) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- 다양한 발달단계에 있는 옥수수의 대부분 조직에서 EPSPS ACE5 단백질이 검출되었다.
- EPSPS ACE5 단백질은 잎(V4)에서 평균 31.50ng/mg DW로 가장 많이 발현되었으며, 뿌리(V4)에서 평균 9.02ng/mg DW, 알곡(R6)에서 평균 2.32ng/mg DW으로 발현되었으며 알곡에서의 최대 발현량은 3.99ng/mg DW 이었다.

다. 독성

1) 유전자산물이 단백질인 경우

가) 발현단백질의 안전한 식경험의 유무

- EPSPS 효소는 유전자변형 옥수수, 면화, 대두, 카놀라 및 사탕무에서 발현되어 오랫동안 안전하게 이용되고 있다. EPSPS ACE5 단백질은 2009년 미국식품의약청의 안전성 평가를 받은 바 있다.

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

- EPSPS ACE5 단백질과 NCBI 단백질 데이터베이스(2013)를 이용하여 BLASTP 검색결과, 내 독성 또는 항영양성 단백질과의 유사성을 검색한 결과 알려진 독소나 다른 유해 단백질과 유의적 상동성이 확인되지 않았다.

다) 발현단백질의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 발현단백질의 동등성을 확인하기 위하여 SDS-PAGE를 이용한 분자량 측정, MALDI-TOF 질량분석기를 이용한 펩티드 무게 정량, 웨스턴 블롯 분석을 통한 면역 활성, N-말단 서열 비교, 특이적 효소활성 측정, 당화 분석 및 인공위액 조건에서의 *in vitro* 소화성 등을 통한 분석을 실시하였으며, 두 단백질간에 차이가 없음을 확인하였다.
- 인공위액 안정성 : EPSPS ACE5 단백질은 인공위액에서 쉽게 분해되는(30초 이내) 것으로 확인되었다.
- 인공장액 안정성 : EPSPS ACE5 단백질은 인공장액에서 쉽게 분해되는(30초 이내) 것으로 확인되었다.
- 열 안정성 : EPSPS ACE5 단백질은 60℃ 온도조건에서 30분간의 열처리에 의해 완전히 비활성화되는 것으로 확인되었다.

라) 발현단백질의 단회투여독성

- CD-1 마우스를 대상으로 EPSPS ACE5 단백질을 2,000mg/kg bw 용량으로 단회 투여하고 14일간 관찰한 결과 사망사례는 없었으며, 생존율, 임상 관찰 소견, 체중증가, 사료 섭취량 또는 육안 병리소견에 미친 영향은 없었다.

라. 알레르기성

1) 유전자산물이 알레르겐으로 알려져 있는지 여부

- EPSPS ACE5 단백질은 알려진 알레르겐이나 독소 서열과 유의한 상동성을 가지고 있지 않다.

2) 유전자산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- EPSPS ACE5 단백질은 인공위액, 인공장액에서 30초 이내에 빠르게 분해되며, 당화 반응을 일으키지 않고, 60℃에서 30분간 열처리 할 경우 완전히 불활성화 되므로 이 단백질을 섭취하는 사람이나 동물의 소화에 영향을 미칠 가능성이 매우 낮으며 보통의 열가공이나 조리과정에 의해 불활성화 될 것이다.

3) 유전자산물 중 이미 알려져 있는 알레르겐과의 상동성

- EPSPS ACE5 단백질과 이미 알려진 알레르겐과의 아미노산 서열 상동성을 확인하기 위해 NCBI 단백질 데이터베이스(2013)를 이용하여 검색한 결과, 연속하는 8개 이상의 서열과 상동성이 없었으며, 80개 이상의 아미노산에서 35% 이상 서열 상동성을 가지는 서열이 없어 이미 알려져 있거나 추정되는 알레르겐과 생물학적인 연관성이 없었다.

4) 유전자산물이 1일 단백질섭취량의 유의한 양을 차지하고 있는지 여부

- VCO-Ø1981-5가 상업화되어 한국에서의 모든 옥수수 수요량을 대체한다고 가정하여 VCO-Ø1981-5 옥수수에 대한 국내 식이 노출량 평가를 수행하였다.
- 국민건강영양조사(2016년) 자료에 따르면 1일 옥수수 평균 섭취량은 남자의 경우 2.73g, 여자는 4.51g이며, 단백질 평균 섭취량은 남자 86.2g, 여자 60.2g이다. 모든 옥수수의 섭취가 VCO-Ø1981-05로 섭취된다는 가정하에 옥수수 알곡에서 EPSPS ACE5 단백질 최대 발현량인 3.99µg/g를 사용하여 계산한 결과, 일일 총 단백질 섭취량 중 EPSPS ACE5 단백질이 차지하는 비율은 남자 0.00000007%, 여자 0.00000017%였다.
- 식품수급표(2011, 농촌경제연구원) 통계를 바탕으로 1일 총 단백질 섭취량 중 EPSPS ACE5 단백질이 차지할 수 있는 최대 비율을 계산한 결과, 남자 0.000191%, 여자 0.000275% 수준으로 나타났다.
- 이는 EPSPS ACE5 단백질이 가공이나 소화시 소실이나 분해가 전혀 일어나지 않는다는 가정하에 계산된 것으로 실제 섭취량과 비교하면 계산된 수치보다도 더욱 낮은 수준일 것이다.

마. 숙주와의 차이

- 2010년 및 2011년 유럽연합 내 7개 지역, 9포장에서 VCO-Ø1981-5, 관행종 및 6개 상업화 품종을 수확하여 5반복 시료에 대해 성분 분석을 실시하였다.
- 통계방법으로는 분산분석(analysis of variance, ANOVA) 및 Dunnett's test를 실시하였고, 통계학적으로 유의적 차이가 나는 성분에 대해 생물학적으로 유의적 차이가 있는지 여부 확인을 위해 허용범위(tolerance interval), ILSI 작물 성분 데이터베이스에 공개된 상업적 관행 옥수수 성분의 자연적인 변이범위(ILSI 범위)와 비교하였다.

1) 주요영양성분

① 일반성분

- 분석한 일반성분(11개) 중 회분, 탄수화물, 단백질, 중성세제불용성섬유, 헤미셀룰로오스 및 전분에서 통계적 유의차가 관찰되었으나, 참조범위 또는 문헌 범위 내에 포함되어 생물학적 유의차는 없었다.

② 지방산

- 분석한 지방산(18개) 중 팔미트산, 리놀레산, 아라키돈산, 리그노세르산, 다중불포화지방산, 포화지방산 및 오메가-6 지방산에서 통계적 유의차가 관찰되었으나, 참조범위 또는 문헌범위 내에 포함되어 생물학적 유의차는 없었다.

③ 아미노산

- 분석한 아미노산(18개) 중 알라닌, 시스테인-시스틴, 글루탐산, 이소루신, 페닐알라닌, 프롤린 및 트립토판에서 통계적인 유의차가 관찰되었으나, 참조범위 또는 문헌범위 내에 포함되어 생물학적 유의차는 없었다.

2) 미량영양성분

① 비타민

- 분석한 비타민(10개) 중 비타민 B₁에서 통계적인 유의차가 관찰되었으나, 참조범위 또는 문헌범위 내에 포함되어 생물학적 유의차는 없었다.

② 무기질

- 분석한 무기질(7개)에서는 통계적인 유의차가 없었다.

3) 내재성독소

- 옥수수수에 대한 오랜 기간의 안전한 식경험에서 내재성 독소로 인하여 인간이나 동물의 건강에 부정적인 영향을 끼쳤다는 보고는 없었다.

4) 항영양소

- 2차 대사산물 및 항영양소(6개) 중 페룰산에서 통계적인 유의차가 관찰되었으나, 참조범위 또는 문헌범위 내에 포함되어 생물학적 유의차는 없었다.

5) 알레르기 유발성분

- 상기 제시된 알레르기성에 관한 자료 및 실험 결과에서 EPSPS ACE5 단백질은 알레르기를 유발하는 특성을 가지고 있지 않은 것으로 판단된다.

6) 삼입된 유전자산물의 대사산물

- 상기 (가)~(라)의 성분분석에서 제시된 바와 같이 관행종과 비교하여 VCO-Ø1981-5 옥수수는 EPSPS ACE5 단백질의 발현에 의해 글리포세이트 내성을 가지는 것을 제외하고는 구성성분 내 어떠한 추가적인 변화도 나타나지 않았다.

7) 영양성

- 육계(broiler)(암수 각 70마리)를 이용하여 유전자변형 VCO-Ø1981-5 옥수수가 53%~65% 포함된 사료를 섭취시킨 결과 폐사율, 증체량, 모이섭취량 및 사료 효율, 도체중량 등 모든 항목에서 특이적 영향은 관찰되지 않았다.

바. 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향

- EPSPS ACE5 단백질은 세균에서 분리된 EPSPS GRG23 효소로부터 총 10개의 아미노산이 변환되어 생성된 것으로 이 두 단백질은 아미노산 수준에서 97.6% 동일성, 98.5% 상동성을 나타낸다. EPSPS ACE5 단백질은 원래의 효소에 비해 높은 온도에서 안정성을 가지는 것을 제외하고는 특징이 변화된 바가 없고 일반적인 EPSPS 효소의 작용기작과 유사하여 동일한 안전성을 가지고 있을 것으로 판단된다.

사. 식품용으로서의 저장 및 가공에 관한 설명

- 유전자변형 VCO-Ø1981-5 옥수수는 현재 상업화된 옥수수 품종과 저장 및 가공 방법이 다르지 않다.

아. 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황

- 미국(2013) 및 캐나다(2014)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 VCO-Ø1981-5의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성은 농촌진흥청, 환경부, 국립수산물과학원에서 심사 완료하였다.
- 나. 유전자변형 옥수수 VCO-Ø1981-5의 안전성 심사결과 보고서(안)을 식품의약품 안전처 홈페이지 및 정책메일서비스(PMS)에 2018년 7월 3일 ~ 2018년 8월 2일 까지 공개하여 의견을 수렴한 결과, 접수된 의견은 없었다.

붙임 : 영양성분 분석 자료

[붙임] 영양성분 분석자료

1. 주요영양성분

표 1. Event VCO-Ø1981-5 옥수수과 관행 대응종 옥수수 알곡의 주요영양성분 및 섬유소에 대한 통계분석 자료

Proximates and fiber compounds	Anova F-value Regime Effect	Anova p-value Regime Effect	Dunnett's test t-value Regime A vs B	Dunnett's test p-value Regime A vs B	Dunnett's test t-value Regime A vs C	Dunnett's test p-value Regime A vs C
Moisture (% dw)	0.535	0.587	0.258	0.953	0.997	0.506
Ash (% dw)	2.711	0.070	-0.151	0.983	1.941	0.098
Carbohydrates (calc. % dw)	4.615	0.012	-0.101	0.993	-2.685	0.016
Protein (% dw)	4.345	0.015	0.526	0.820	2.778	0.012
Fatty Acid Total (% dw)	1.084	0.341	-1.238	0.360	0.076	0.996
Crude fiber (% dw)	0.698	0.499	0.637	0.749	1.180	0.393
ADF (% dw)	0.978	0.379	1.124	0.426	-0.163	0.981
NDF (% dw)	4.960	0.008	2.750	0.013	2.700	0.015
Total dietary fiber (% dw)	1.401	0.250	1.377	0.289	1.511	0.229
Hemicellulose (% dw)	5.433	0.005	1.956	0.095	3.274	0.003
Starch (% dw)	7.253	0.001	-2.524	0.024	-3.730	0.001

굵은체 p-값 < 0.05 (Bold p-value < 0.05)

표 2. Event VCO-Ø1981-5 옥수수와 비유전자 변형 옥수수간 비교에서 통계적 유의차를 보였던 주요영양 성분 및 섬유소 성분에 대해 그 범위를 99% 허용범위와 문헌범위와 비교

Compound	VCO-Ø1981-5 (min - max value)	Reference Range (lower, upper, 99% TI)	Literature Range (min - max value)
Carbohydrates (% dw)	79.68-86.71	80.53-89.11	77.4-89.7
Protein (% dw)	7.56-13.28	5.66-13.30	5.72-17.26
NDF (% dw)	9.09-14.9	7.94-17.07	4.28-22.64
Hemicellulose (% dw)	5.18-11.39	4.30-12.76	NA
Starch (% dw)	67.58-74.31	68.00-77.12	26.5-83.7

- 상업화 품종의 범위는 측정값이 정규분포를 따른다는 가정하에 99 퍼센타일 (percentile)에 대한 허용범위를 나타냄 (95% 신뢰도)
- 문헌범위: ILSI 성분분석 데이터 베이스 (Version 6.0)

2. 지방산

표 3. Event VCO-Ø1981-5 옥수수과 관행 대응종 옥수수 알곡의 지방산에 대한 통계분석 자료

Fatty Acids (% of total; dw)	Anova F-value Regime Effect	Anova p-value Regime Effect	Dunnett's test t-value Regime A vs B	Dunnett's test p-value Regime A vs B	Dunnett's test t-value Regime A vs C	Dunnett's test p-value Regime A vs C
Palmitic acid	16.705	0.000	-4.907	0.000	-5.090	0.000
Palmitoleic acid	1.202	0.304	-1.333	0.311	-1.350	0.302
Margaric acid	2.781	0.066	0.718	0.695	-1.592	0.198
Stearic acid	0.366	0.694	0.578	0.788	0.835	0.615
Vaccenic acid	0.347	0.707	0.127	0.988	-0.651	0.740
Oleic acid	2.867	0.060	-2.010	0.085	-2.129	0.065
Linoleic acid	3.759	0.026	2.517	0.025	2.195	0.055
Alpha Linolenic acid	0.750	0.461	0.976	0.520	1.161	0.404
Arachidic acid	5.340	0.006	2.956	0.007	0.261	0.952
Gondoic acid	1.245	0.291	-1.497	0.235	-1.177	0.395
Behenic acid	0.574	0.565	1.022	0.490	0.230	0.962
Lignoceric acid	4.462	0.013	2.757	0.013	0.373	0.904
Mono-unsaturated	2.882	0.060	-2.177	0.058	-1.961	0.094
Polyunsaturated	3.924	0.022	2.550	0.023	2.274	0.046
Saturated	3.140	0.047	-2.232	0.051	-2.099	0.069
Omega-3	1.051	0.353	1.070	0.460	1.381	0.287
Omega-6	3.759	0.026	2.517	0.025	2.195	0.055
Omega-6/Omega-3	0.332	0.718	0.391	0.895	-0.426	0.877
Unquantifiable	0.132	0.876	0.079	0.995	0.480	0.847

굵은체 p-값 < 0.05 (Bold p-value < 0.05)

표 4. Event VCO-Ø1981-5 옥수수과 비유전자 변형 옥수수간 비교에서 통계적 유의차를 보였던 지방산 성분에 대해 그 범위를 99% 허용범위와 문헌 범위와 비교

Compound	VCO-Ø1981-5 (min - max value)	Reference Range (lower; upper; 99% TI)	Literature Range (min - max value)
Palmitic acid (% of total; dw)	10.1-11.2	7.59-12.80	8.6-16.5*
Linoleic acid (% of total; dw)	53.4-62.2	51.62-71.31	34-65.6*
Arachidic acid (% of total; dw)	0.3-0.5	0.2-0.49	0.3-1.0*
Lignoceric acid (% of total; dw)	0.1-0.4	0.00-0.37	ND-0.5*
Polyunsaturated (% of total; dw)	55-63.6	52.76-72.80	NA
Omega 6 (% of total; dw)	53.4-62.2	51.61-71.33	NA

3. 아미노산

표 5. Event VCO-Ø1981-5 옥수수과 관행 대응종 옥수수 알곡의 아미노산에 대한 통계분석 자료

Amino Acids (% dw)	Anova F-value Regime Effect	Anova p-value Regime Effect	Dunnett's test t-value Regime A vs B	Dunnett's test p-value Regime A vs B	Dunnett's test t-value Regime A vs C	Dunnett's test p-value Regime A vs C
Alanine	3.842	0.024	0.864	0.595	2.715	0.014
Arginine	2.623	0.076	0.824	0.622	2.264	0.047
Aspartic acid	2.604	0.078	0.742	0.679	2.242	0.049
Cysteine-cystine	4.877	0.009	0.846	0.608	3.029	0.006
Glutamic acid	3.708	0.027	0.770	0.659	2.649	0.017
Glycine	1.587	0.208	-0.049	0.998	1.521	0.225
Histidine	1.111	0.332	0.276	0.946	1.408	0.274
Isoleucine	3.587	0.030	0.842	0.610	2.625	0.018
Leucine	4.714	0.011	1.436	0.247	3.070	0.005
Lysine	0.905	0.407	0.505	0.832	1.333	0.311
Methionine	2.216	0.113	0.061	0.997	1.856	0.118
Phenylalanine	3.392	0.037	0.882	0.583	2.565	0.022
Proline	3.164	0.046	0.420	0.880	2.361	0.037
Serine	2.992	0.054	0.517	0.825	2.332	0.040
Threonine	2.713	0.070	0.340	0.920	2.168	0.059
Tryptophan	4.517	0.013	0.991	0.510	2.955	0.007
Tyrosine	2.135	0.122	0.345	0.917	1.940	0.099
Valine	2.791	0.065	0.799	0.639	2.327	0.040

표 6. Event VCO-Ø1981-5 옥수수와 비유전자 변형 옥수수간 비교에서 통계적 유의차를 보였던 아미노산 성분에 대해 그 범위를 99% 허용범위와 문헌 범위와 비교

Compound	VCO-Ø1981-5 (min - max value)	Reference Range (lower, upper; 99% TI)	Literature Range (min - max value)
Alanine (% dw)	0.55-1.01	0.39-1.04	0.44-1.48
Arginine (% dw)	0.38-0.57	0.29-0.53	0.12-0.71
Aspartic acid (% dw)	0.53-0.84	0.40-0.87	0.33-1.21
Cysteine-Cystine (% dw)	0.19-0.29	0.16-0.27	0.12-0.51
Glutamic acid (% dw)	1.35-2.58	0.97-2.63	0.97-3.54
Isoleucin (% dw)	0.25-0.46	0.18-0.47	0.18-0.69
Leucine (% dw)	0.87-1.76	0.57-1.85	0.64-2.49
Phenylalanine (% dw)	0.34-0.68	0.24-0.71	0.24-0.93
Proline (% dw)	0.69-1.27	0.54-1.28	0.46-1.75
Serine (% dw)	0.37-0.66	0.27-0.67	0.18-0.77
Tryptophan (% dw)	0.07-0.09	0.05-0.09	0.027-0.215
Valine (% dw)	0.36-0.59	0.28-0.61	0.27-0.86

4. 비타민

표 7. Event VCO-Ø1981-5 옥수수과 관행 대응종 옥수수 알곡의 비타민에 대한 통계분석 자료

Vitamins (mg/Kg)	Anova F-value Regime Effect	Anova p-value Regime Effect	Dunnett's test t-value Regime A vs B	Dunnett's test p-value Regime A vs B	Dunnett's test t-value Regime A vs C	Dunnett's test p-value Regime A vs C
Beta-carotene	0.775	0.463	0.334	0.922	1.207	0.378
Vitamin B1	3.239	0.042	-1.918	0.103	-2.405	0.033
Vitamin B2	0.218	0.804	-0.278	0.945	0.381	0.900
Vitamin B3	0.022	0.978	-0.196	0.972	-0.164	0.980
Vitamin B5	1.772	0.174	0.324	0.926	-1.448	0.256
Vitamin B6	0.802	0.451	0.368	0.906	1.234	0.363
Vitamin B9	1.140	0.323	-0.851	0.604	0.659	0.735
Vitamin E - alpha	0.567	0.569	-0.865	0.594	-0.968	0.525
Vitamin E - gamma	0.152	0.859	0.497	0.837	0.455	0.861
Vitamin E - total	0.002	0.998	0.059	0.997	0.025	1.000

표 8. Event VCO-Ø1981-5 옥수수과 비유전자 변형 옥수수간 비교에서 통계적 유의차를 보였던 비타민 성분에 대해 그 범위를 99% 허용범위와 문헌 범위와 비교

Compound	VCO-Ø1981-5 (min - max value)	Reference Range (lower, upper, 99% TI)	Literature Range (min - max value)
Vitamin B1 (mg/kg)	2.5-7.0	0.80-6.90	1.26-40.00

5. 무기질

표 9. Event VCO-Ø1981-5 옥수수과 관행 대응종 옥수수 알곡의 무기질에 대한 통계 분석 자료

Minerals (mg/Kg dw)	Anova F-value Regime Effect	Anova p-value Regime Effect	Dunnett's test t-value Regime A vs B	Dunnett's test p-value Regime A vs B	Dunnett's test t-value Regime A vs C	Dunnett's test p-value Regime A vs C
Calcium	4.465	0.013	2.218	0.052	2.840	0.010
Copper	2.735	0.069	2.107	0.068	0.166	0.980
Iron	0.729	0.484	1.206	0.378	0.552	0.804
Potassium	2.435	0.092	1.954	0.096	0.082	0.995
Magnesium	0.056	0.943	0.155	0.983	0.333	0.922
Phosphorus	1.827	0.165	1.446	0.257	1.804	0.131
Zinc	0.208	0.812	0.527	0.819	0.586	0.783

표 10. Event VCO-Ø1981-5 옥수수와 비유전자 변형 옥수수간 비교에서 통계적 유의차를 보였던 무기질 성분에 대해 그 범위를 99% 허용범위와 문헌 범위와 비교

Compound	VCO-Ø1981-5 (min - max value)	Reference Range (lower, upper, 99% TI)	Literature Range (min - max value)
Calcium (mg/Kg dw)	22.88-45.98	13.90-60.59	11.8-1010.0

6. 항영양소

표 11. Event VCO-Ø1981-5 옥수수과 관행 대응종 옥수수 알곡의 이차 대사산물 및 항영양소 성분에 대한 통계분석 자료

Secondary metabolites and Anti-nutrients (% dw)	Anova F-value Regime Effect	Anova p-value Regime Effect	Dunnett's test t-value Regime A vs B	Dunnett's test p-value Regime A vs B	Dunnett's test t-value Regime A vs C	Dunnett's test p-value Regime A vs C
Ferulic acid	16.978	0.000	5.475	0.000	4.453	0.000
p-Coumaric acid	1.640	0.198	-1.118	0.430	-1.792	0.134
Phytic acid	0.952	0.389	0.622	0.759	1.378	0.288

표 12. Event VCO-Ø1981-5 옥수수와 비유전자 변형 옥수수간 비교에서 통계적 유의차를 보였던 이차 대사산물 및 항영양소 성분에 대해 그 범위를 99% 허용범위와 문헌 범위와 비교

Compound	VCO-Ø1981-5 (min - max value)	Reference Range (lower, upper, 99% TI)	Literature Range (min - max value)
Ferulic acid (% dw)	0.21-0.4	0.15-0.45	0.03-0.44