

**유전자변형 카놀라 DP-073496-4
안전성 심사결과 보고서**

2015. 4. 2.



식품의약품안전평가원
NATIONAL INSTITUTE OF FOOD AND DRUG SAFETY EVALUATION

<차례>

1. 심사경위	1
2. 심사경과	1
3. 심사방법	1
4. 심사 신청 자료 검토	2
4-1. 심사 신청된 식품의 개요	2
4-2. 식품으로의 적합성 검토	2
4-3. 유전자변형농축수산물의 안전성	2
가. 유전자변형농축수산물의 개발목적 및 이용방법	2
나. 숙주	2
(1) 분류학적 특성	2
(2) 재배 및 품종개량의 역사	2
(3) 기지의 독성, 알레르기 유발성	3
(4) 안전한 식경험의 유무	3
다. 공여체	3
(1) 분류학적 특성	3
(2) 안전한 식경험의 유무	3
(3) 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성	3
라. 유전자변형	4
(1) 형질전환 과정에 관한 정보	4
(2) 도입 유전자에 대한 정보	5
마. 유전자변형농축수산물의 특성에 관한 자료	6
(1) 유전자변형농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보	6
(2) 유전자산물에 관한 정보	8
(3) 독성	9
(4) 알레르기성	10
(5) 숙주와의 차이	11
(6) 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향	14
(7) 외국의 식품유통 승인 및 식품용 등의 이용 현황	14
5. 심사 신청 자료 검토 결과	15
6. 기타	15

유전자변형 카놀라 DP-073496-4

안전성 심사결과 보고서

1. 심사경위

- 듀폰코리아(주)는 제초제 내성 카놀라 DP-073496-4에 대해 식품위생법 제18조에 따른 안전성 심사를 받기 위하여 2012년 11월 29일 식품의약품안전처에 「유전자변형식품등의 안전성 심사 등에 관한 규정」(이하 심사규정)에서 규정한 관련 자료를 첨부하여 심사 신청하였다.
- 이에 식품의약품안전처장은 본 품목이 심사규정에 따라 안전성 심사가 이루어졌는지 여부에 대하여 '유전자변형식품등 안전성심사위원회'(이하 '심사위원회'라고 함)에 심사 의뢰하고,
- 심사위원회는 신청인이 제출한 자료에 근거하여 아래와 같이 심사규정에 따라 안전성심사가 이루어졌는지 여부를 확인하였다.

2. 심사경과

- 심사대상품목

대상품목	신청자	개발자	제외국의 안전성 승인 현황
제초제내성 카놀라 DP-073496-4	듀폰코리아(주)	Pioneer Hi-Bred International, Inc	캐나다(2012), 멕시코(2012), 미국(2012), 일본(2014), 호주/뉴질랜드(2014)

- 심사경과

- 2012년 11월 29일 안전성 심사자료 신청접수
- 2012년 11월 29일 심사위원회 심사 의뢰
- 2013년 3월 19일 1차 심사위원회 개최
- 2013년 7월 30일 2차 심사위원회 개최
- 2014년 10월 21일 3차 심사위원회 개최

3. 심사방법

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

4. 심사 신청 자료 검토

4-1. 심사 신청된 식품의 개요

- 듀폰코리아(주)에서 심사 신청한 유전자변형 카놀라 DP-073496-4는 *gat4621* 유전자가 도입된 것으로 글리포세이트 제초제에 내성을 가진다.

4-2. 식품으로의 적합성 검토

- 본 품목과 관련하여 제출된 안전성 심사자료가 심사규정 제12조에서 요구하는 자료를 만족시키는지 여부를 검토하였으며,
- 자료의 내용을 토대로 다음과 같이 식품으로서의 안전성이 확보되어 있는지를 심사하였다.

4-3 유전자변형농축수산물의 안전성

가. 유전자변형농축수산물의 개발목적 및 이용방법

- 듀폰코리아(주)에서 심사 신청한 DP-073496-4는 *gat4621* 유전자가 도입된 것으로 글리포세이트 제초제에 내성을 가진다.
- 그 밖의 재배방법 및 이용방법은 기존의 일반 카놀라와 동일하다.

나. 숙주

(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)

- 종(Species) : *napus* L
- 속(Genus) : *Brassica*
- 과(Family) : *Brassicaceae*
- 일반명(Common Name) : 카놀라

(2) 재배 및 품종개량의 역사

- 기원전 2000~1500년경 인도 산스크리트(Sanskrit)에 이미 *B. napus*가 기록되어 있으며, 기원전 500~200년경의 그리스, 로마, 중국 기록에 *B. rapa*에 대한 기록이 있다. 유럽에서는 중세 초기에 작물로 재배가 이루어지고 있었던 것으로 생각된다.
- 아시아에서는 채종유를 식용유로 사용하기도 했지만, 육종을 통한 유지 품질 개선 및 가공 기술이 개발된 이후 서구에서 채종유가 부각되었다. 2차 세계 대전 이후, 유럽 및 캐나다에서 채종 생산이 급격히 증가했던 것은 채종유 및 유채박의 품질이 개선된 결과이다.
- **Erucic acid** 및 글루코시놀레이트(**glucosinolate**) 수준이 일정 기준을 충족하는 품종들을 카놀라라고 하는데, 카놀라는 전체 지방산 중 **erucic acid** 함량, 카놀라박 중 글루코시놀레이트(**glucosinolate**) 함량이 낮다. 북미 지역

에서는 *B. napus* 와 *B. rapa*가 “카놀라”의 기준이 되는 품질을 충족시킬 수 있는 것으로 생각되고 있다.

(3) 기지의 독성 또는 알레르기 유발성

- 카놀라에 포함된 항영양소 또는 유해생리활성물질로는 글루코시놀레이트, erucic acid, 탄닌(tannin), 피틴산(phytic acid) 등이 알려져 있다(OECD, 2011). 관행종 유채와는 달리, 카놀라는 erucic acid 및 글루코시놀레이트 함량을 줄이도록 인위적으로 육종된 것으로서, 카놀라 종실에는 erucic acid 및 글루코시놀레이트 함량이 낮다. 더욱이, 통상 식품 성분으로 사람이 섭취하는 카놀라유는 카놀라 종실로부터의 유지 생산과정에서 유해생리활성물질들이 제거된다.

(4) 안전한 식경험의 유무

- 카놀라는 카놀라유로 주로 섭취되며, 지질 중 erucic acid 함량은 2% 미만, 글루코시놀레이트 함량은 30 $\mu\text{mol/g}$ 미만 이어야 한다(OECD, 2011, p. 12~13). 카놀라는 1985년 미국 식품의약품청(FDA)에 의해 GRAS(Generally Recognized as Safe) 품목으로 인정되었다.

다. 공여체

(1) 분류학적 특성

- gat4612 유전자 공여체 : *Bacillus licheniformis*
 - 종(Species) : *licheniformis*
 - 속(Genus) : *Bacillus*
 - 과(Family) : *Bacillaceae*

(2) 안전한 식경험의 유무

- *B. licheniformis*는 토양에 흔히 존재하는 그람 양성균으로서 식용으로 직접 이용된다고 보고된 적은 없었으나, 제제산업이나 발효산업에서 산업용으로 이용되어왔다.
- *B. licheniformis*는 미국, 캐나다, 유럽에서 식품용 효소(alpha-amylase, cyclodextrin glycosyltransferase, hemicellulase, proteases, pullulanase 등 안전한 이용내력을 가지고 있다.

(3) 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성

- *B. licheniformis*는 인체나 동물에 대한 병원성 생물체로 알려지지 않았다. ATCC(American Type Culture Collection)에서 분양하는 모든 *B.*

*licheniformis*는 생물안전 1등급(Biosafety level 1)으로 분류되어 있고, 독성 및 알레르기 물질로 알려져 있지 않다.

라. 유전자변형

(1) 형질전환에 관한 정보

(가) 형질전환방법

- 입자총법을 사용하였다.

(나) 벡터에 대한 정보

1) 기원

- 플라스미드 벡터 PHP28181A은 플라스미드 PHP28181을 제한효소 *Not I* 및 *Hind III*로 절단한 것으로서, PHP28181A는 *gat4621* 유전자 발현카세트(*UBQ10* 프로모터, *gat4621* 유전자, *pinII* terminator 포함)를 포함한다.

2) 숙주에서의 확인

- DNA 절편 PHP28181A의 크기는 2112 bp 이고, DP-073496-4 카놀라에 도입된 DNA의 염기서열은 PHP28181A 염기서열의 5' 말단에서 결실된 3 bp를 제외하고는 PHP28181A의 염기서열과 일치했다.

3) 숙주에서의 기능

- DP-073496-4 카놀라에 도입된 *gat4621* 유전자는 GAT4621 단백질을 발현하여 글리포세이트 제초제에 대한 내성을 나타낸다.

(다) 중간숙주에 대한 정보

- 플라스미드 PHP28181은 *E. coli* 에서 증식되었다. 플라스미드 PHP28181을 제한효소 *Not I* 및 *Hind III* 처리한 후 아가로스 겔 전기영동에 의해 분리·정제한 DNA 절편 PHP28181A를 DNA 입자총법에 의해 숙주에 도입하여 DP-073496-4 카놀라를 개발했다.

(라) 전달성에 관한 정보

- DNA 절편 PHP28181A는 숙주이외의 다른 생물체로 이동될 수 있는 전달성과 관련된 유전자를 포함하고 있지 않다.

(2) 도입 유전자에 대한 정보

(가) 구성 유전자의 특성, 염기서열, 제한효소 절단지도

1) 선발표지유전자

- *gat4621* 유전자가 선발표지 유전자로 이용되었고, **GAT4621** 단백질을 암호화하며 글리포세이트에 대한 내성을 부여한다.

2) 조절인자

① 프로모터 (promoter)

Arabidopsis thaliana(애기장대) 유래 polyubiquitin 프로모터(**UBQ10**)

② 터미네이터 (terminator)

Solanum tuberosum(감자) 유래 proteinase inhibitor II 유전자의 3' terminator 염기서열(**pinII terminator**)

3) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

- 도입유전자 *gat4621* 발현과 관련된 유전요소 이외의 다른 염기서열은 **DP-073496-4** 카놀라에 도입되지 않았다.

(나) 크기 및 명칭

- DNA 절편 **PHP28181A**의 유전적 요소의 크기, 유래 및 기능이 제시되었다.

(다) 완성된 벡터내의 유전자 염기서열의 위치 및 방향성

- 제한효소지도, 벡터 내에서의 유전자위치 및 방향성이 제시되었다.

(라) 구성 유전자의 기능

- **DP-073496-4** 카놀라에 도입된 유전자 *gat4621*는 **GAT4621** 단백질을 발현하며, 글리포세이트 제초제에 대한 내성을 부여한다.

(마) 유해염기서열의 유무

① GAT462단백질의 독소 및 항영양소 검색

- NCBI Entrez 단백질 데이터베이스(NCBI Entrez Protein dataset, Release 188.0, 2/15/12) 및 BLASTP 알고리즘(version 2.2.25)을 이용하여 검색(cutoff *E* value는 1.0을 채택)하였다.
- 기지의 독소 단백질이나 항영양소를 암호화하는 유전자와 같은 유해 염기서열이 없었다.

- ② GAT462 단백질의 이미 알려진 알레르겐의 아미노산 서열상동성 검색
- 알레르겐 데이터베이스(FARRP, Release 12-January 2012) 이용하였다.
 - 80개 이상의 아미노산 절편에 걸쳐 35% 이상의 상동성을 보이는 알레르겐 서열이 없었으며, 8개씩 연속한 아미노산과 일치하는 경우도 없었다.

(바) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현가능성

- 도입 DNA 절편을 6 프레임으로 아미노산 서열 번역 후, 아미노산 서열 8개 이상으로 구성된 모든 ORF(개시 코돈-종결 코돈)를 분석한 결과,
- 도입 DNA 절편 내에서는 4개 ORFs 검출되었으나, 전사 및 발현 가능성이 없었으며, 모든 ORF들에 대해서 알려진 독소 단백질 및 알레르겐과의 상동성을 비교 검색한 결과, 기지 또는 독소라고 추정되는 단백질과 유의적으로 align되지 않았으며, 알레르겐과 match되는 경우도 없었다.

(사) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입

- DP-073496-4 카놀라 5개 세대[T2, T3, T3F2, T3F3, F1] 잎 조직에서 추출한 게놈 DNA를 제한효소 Nco I 으로 처리한 후, backbone 프로브를 이용하여 Southern blot 한 결과,
- DP-073496-4 카놀라 5개 세대(T2, T3, T3F2, T3F3, F1 세대) 모두 backbone 프로브와 hybridization하는 DNA 절편이 검출되지 않아서, DP-073496-4 카놀라에는 플라스미드 PHP28181 backbone 영역 서열이 도입되지 않았음이 확인되었다.

마. 유전자변형농축수산물의 특성

(1) 유전자변형농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보

(가) 유전자변형농축수산물의 게놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

- DP-073496-4 카놀라 개발을 위해 도입된 *gat4621* 유전자는 GAT4621 단백질을 발현하여 글리포세이트 제초제에 대한 내성을 부여한다.
- * GAT4621 단백질은 제초제인 글리포세이트의 NH기를 아세틸(acetyl)화하여 EPSPS 활성을 저해하지 않는 N-아세틸 글리포세이트(N-acetyl glyphosate)로 전환시킴으로써 식물에 제초제인 글리포세이트 내성을 부여한다(그림 1).

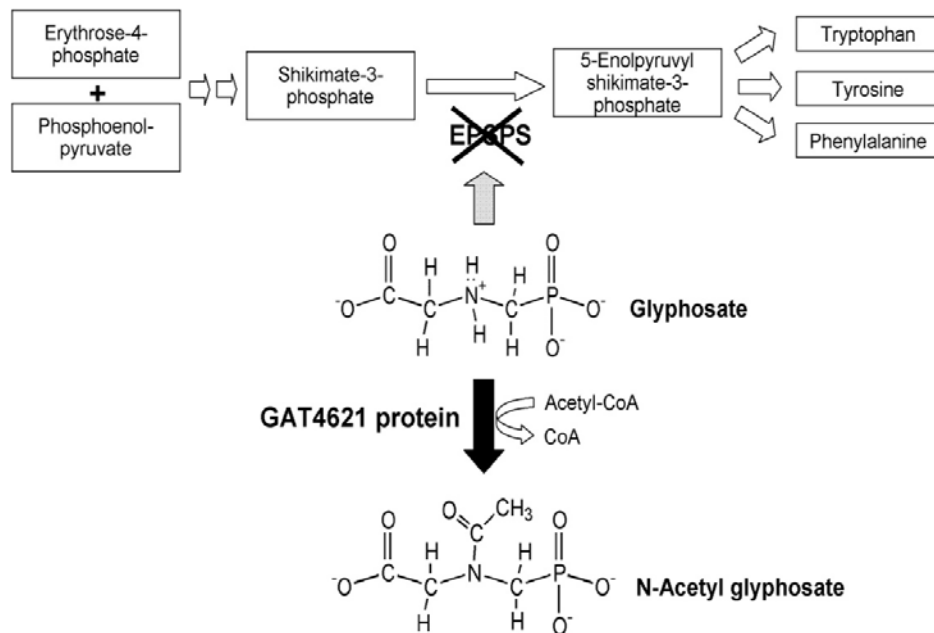


그림 1. GAT4621 단백질의 작용기작

(나) 삽입부위의 수

- Southern blot 분석한 결과, DP-073496-4 카놀라의 게놈 상 단일 유전자 자리에 *gat4621* 유전자 발현 카세트로 구성된 하나의 DNA 절편 PHP28181A가 도입되었고, PHP28181 플라스미드 유래 backbone 영역이 DP-073496-4 카놀라에 도입되지 않았음이 확인되었다.

(다) 각 삽입부위의 삽입유전자의 구성

1) 복제수, 염기서열

- DNA 절편 PHP28181A 영역을 검출하는 프로브를 이용한 Southern blot 분석 결과, DP-073496-4 카놀라의 게놈에는 완전한 *gat4621* 유전자 발현 카세트(*UBQ10* promoter, *gat4621* 유전자, *pinII* terminator 포함)로 구성된 1개 카피의 DNA 절편 PHP28181A가 도입되었음이 확인되었다.

2) 기지의 독성이나 항영양소를 암호화하는 유전자와의 상동성

- 기지의 독성이나 항영양소를 암호화하는 것으로 알려진 유전인자는 DP-073496-4의 삽입 DNA에 존재하지 않는다.

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

- 도입 DNA 절편을 6 프레임으로 아미노산 서열 번역 후, 아미노산 서열 8개

이상으로 구성된 모든 ORF(개시 코돈-종결 코돈)를 분석한 결과, 도입 DNA 절편과 카놀라 게놈간 경계영역에는 1개 ORF 검출되었으나 전사, 번역 가능성은 낮았고, 이 ORF에 대해서 알려진 독소 단백질 및 알레르겐과의 상동성을 비교 검색한 결과, 기지 또는 독소라고 추정되는 단백질과 유의적으로 align되지 않았으며, 알레르겐과 match되는 경우도 없었다.

(마) 안정성에 관한 사항

1) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

- DP-073496-4에 존재하는 삽입 DNA의 안정성을 평가하기 위해 DP-073496-4의 DNA를 사용하여 5세대에 걸친 Southern blot분석을 실시한 결과, 5세대에 걸쳐 DP-073496-4의 삽입 DNA가 유지됨이 확인되었다.

2) 복수 세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- DP-073496-4 카놀라에서의 단백질 발현량을 ELISA 분석으로 확인한 결과, GAT4621 단백질이 2세대에 걸쳐 안정적으로 발현됨이 확인되었다.

(2) 유전자산물에 관한 정보

(가) 유전자산물의 화학적 성질

- GAT4621 단백질은 147개 아미노산으로 구성되었고, 약 16.5 kDa의 분자량을 가진다.

(나) 유전자산물의 기능

- DP-073496-4 카놀라 개발을 위해 도입된 *gat4621* 유전자는 GAT4621 단백질을 발현하고 숙주에 글리포세이트 제초제에 대한 내성을 부여한다.

(다) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

- GAT4621단백질에 대해 당화분석(glycosylation)을 실시한 결과, 당화되지 않은 것으로 확인되었다.

(라) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- SDS-PAGE를 통한 분자량 분석, Western blot을 통한 면역 반응성 분석, N-말단 서열분석, glycosylation 분석, MALDI-MS를 이용한 tryptic peptide의 서열 및 질량 분석을 통해 DP-073496-4 카놀라 발현 GAT4621 단백질은 구조적 변화가 없는 것으로 확인되었다.

(마) 새로운 특성의 표현형

- 유전자변형카놀라 DP-073496-4는 제초제 글리포세이트에 내성을 나타내는 *gat4621* 유전자가 발현되어, 유전자 산물인 GAT621 단백질을 발현한다.

(바) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- 2009년 캐나다 4개 포장 및 미국 2개 포장 등 총 6개 포장에서 지상부(BBCH 15, BBCH 33, BBCH 65¹⁾ 단계), 뿌리(BBCH 65 단계) 및 종실(BBCH 90 단계)을 각각 채취하여 효소면역측정법(ELISA)으로 정량 분석한 결과, GAT4621 단백질 발현량의 범위는 지상부는 3.1~10.0 ng/mg d.w, 뿌리는 3.9~13 ng/mg d.w, 종실은 4.8~8.4 ng/mg d.w이었다.

(3) 독성

(가) 생산물이 단백질인 경우

1) 발현단백질의 안전한 식경험의 유무

- GAT4621 단백질은 직접적인 식경험은 없지만, 유전자 공여체인 *B. licheniformis*는 환경에 흔히 존재하므로, 간접적으로 섭취되어 왔을 것으로 판단된다. *B. licheniformis*는 미국, 캐나다, 유럽에서 식품용 효소(α -amylase, cyclodextrin glycosyltransferase, hemicellulase, proteases, pullulanase 등) 및 생물방제 물질, 생균제(probiotic)로서 안전한 이용내력을 가지고 있다. 미국 환경청(US EPA)은 *B. licheniformis*가 인체 건강 및 환경에 부정적인 영향을 줄 위해성이 낮다고 결정했으며, 이후 해당 산업 발효과정에서 사용 신청에 대한 면제를 허가했다.

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

- NCBI Entrez 단백질 데이터베이스(NCBI Entrez Protein dataset, Release 188.0, 2/15/12) 및 BLASTP 알고리즘(version 2.2.25)을 이용하여 검색(cutoff E value는 1.0을 채택)
- 기지의 독소 단백질이나 항영양소를 암호화하는 유전자와 같은 유해 염기서열이 없었다.

3) 발현단백질의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 인공위액 및 장액 소화성 : *E. coli* 유래 GAR4621 단백질에 대해서 SDS-PAGE로 인공위액(SGF) 및 인공장액(SIF) 중 소화성 실험한 결과,

1) BBCH 15: 5 본엽 신장기 [Five true leaves unfolded(not including cotyledons)]

BBCH 33: 절간 신장기(Three visibly extended internodes)

BBCH 65: 개화기(Full flowering; 50% of flowers open on main raceme, older petals falling)

BBCH 90: 노화기(Senescence; plant drying down)

각각 30초, 5분 이내에 신속히 분해되는 것으로 확인되었다.

- 열 처리 감수성 : 100℃ 에서 30분간 가열처리 후 Western blot 분석을 실시한 결과, 열처리된 GAT4621 단백질의 면역반응성은 비가열 대조군에 비해 약 80~90% 감소했다.

4) 발현단백질의 단회투여독성 등

- *E. coli*에서 생산된 GAT4621 단백질(순도 82%)을 2,000 mg/kg/bw 농도로 마우스(Crl:CD1)에 단회투여한 결과, GAT4621 단백질의 투여와 관련된 특이한 병리적인 소견은 없었다.

(4) 알레르기성

(가) 유전자산물이 알레르겐으로 알려지고 있는가에 관한 자료

- GAT4621 단백질은 *B. licheniformis* 유래 N-acetyltransferase 단백질을 개량한 것으로서, GNAT 단백질 family의 주요 motif를 포함한다. 이 superfamily에 속하는 단백질은 식물, 동물, 진균류, 조류(algae), 세균 등 거의 모든 생물체에 존재하는데, 알레르겐으로 보고된 사례는 없다.

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

- GAT4621 단백질은 인공위액에서 빠르게 분해되었으며, 물리화학적 처리 (열안정성)에도 감수성이 낮아서 쉽게 불활성화 되는 것으로 나타났다.

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

- 연속하는 8개의 아미노산 잔기와 일치하는 아미노산 서열 검색 및 80개 이상의 아미노산 잔기 중 35 % 이상의 상동성을 가지는 아미노산 서열에 대해 검색한 결과 GAT4621 단백질 모두 이미 알려진 알레르겐 단백질과 서열 상동성이 없는 것으로 확인되었다.

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

- 카놀라 종실 추출 정제유(refined oil)는 식품 성분으로 이용되지만, 착유 부산물인 카놀라박은 식용으로 섭취되지 않는다. 정제유(refined oil)는 단백질을 포함하지 않으며 非-알레르기성으로 간주된다. GAT4621 단백질이 카놀라유에 포함될 것이라고 예상되지 않는다. 따라서, GAT4621 단백질이 사람의 식이에 포함될 것이라고 예상하여 그 비율을 계산하는 것은 가능하지 않다고 판단된다.

(5) 숙주와의 차이

- 2009년 작기 중 캐나다 및 미국 총 5개 지역²⁾ 시험포장에서 F1^{*4} 세대 DP-073496-4 카놀라 및 non-GM 근동질계 대조군 카놀라 종실을 채취하여 성분 분석했다. 샘플은 각 시험포장 4개 block에서 채취했다(총 20개 반복 = 5개 포장×4개 샘플). 카놀라 종실(BBCH 90³⁾ 생육단계)에서 성분 분석한 항목은 총 99종[조성분 7종, 지방산 30종, 아미노산 18종, 무기질 9종, 비타민 11종(총 토코페롤 포함), 글루코시놀레이트 14종(총 글루코시놀레이트 포함), 2차 대사산물 및 항영양소 10종(총 스테롤 포함)] 이었다.

(가) 주요영양성분

- 유전자변형카놀라 DP-073496-4 및 일반 카놀라의 종실에 대한 주요영양 성분(조단백질, 조지방, 조섬유, 회분, 탄수화물, ADF, NDF)에 대하여 분석한 결과, 조단백질에서 일반 카놀라와 DP-073496-4 카놀라 간에 유의적인 차이가 나타났고, 조지방, 조섬유, 회분, 탄수화물, ADF, NDF에서는 일반 카놀라와 DP-073496-4 간에 통계적 유의성이 없었다. 통계적 유의성이 있는 조단백질은 DP-073496-4의 조단백 함량이 허용 범위(tolerance interval)에 속한 것으로 나타나 생물학적으로 차이가 없음이 확인되었다.

(나) 미량영양성분

① 무기질

- DP-073496-4 카놀라 종실 중 무기질 9종을 분석한 결과, 인, 마그네슘, 망간을 제외한 종실 중 무기질 6종은 DP-073496-4 카놀라와 non-GM 근동질계 대조군 카놀라 간에 통계적 유의차(raw P-값 < 0.05)를 보이지 않았다.
- 인, 마그네슘, 망간은 통계적 유의차는 보였으나, 분석치가 모두 해당 허용범위 이내였으므로 생물학적으로 차이가 없음이 확인되었다.

② 비타민

- DP-073496-4 카놀라 종실 중 무기질 11종을 분석한 결과, 비타민 B2, 비타민 B5, α토코페롤, δ토코페롤, γ토코페롤, 총 토코페롤을 제외한 종실 중 비타민 5종은 DP-073496-4 카놀라와 non-GM 근동질계 대조군 카놀라 간에 통계적 유의차를 보이지 않았다.
- 비타민 B2, 비타민 B5, α토코페롤, δ토코페롤, γ토코페롤, 총 토코페롤은 통계적 유의차를 보였으나, 분석치가 모두 해당 허용범위 이내였으므로 생물학적으로 차이가 없음이 확인되었다.

2) 캐나다 Manitoba 주 3개 지역(Portage la Prairie, Minto, Elm Creek), 미국 Washington 주 1개 지역(Ephrata) 및 미국 North Dakota 주 1개 지역(Velva)

3) BBCH 90: Senescence; plant drying down

③ 아미노산

- DP-073496-4 카놀라 종실 중 아미노산 18종을 분석한 결과, 종실 중 alanine, leucine을 제외한 아미노산들은 DP-073496-4 카놀라와 non-GM 근동질계 대조군 카놀라 간에 통계적 유의차를 보이지 않았다. Alanine, leucine은 통계적 유의차는 보였지만, 분석치가 모두 해당 허용범위 이내였으므로 생물학적으로 차이가 없음이 확인되었다.

④ 지방산

- DP-073496-4 종실 중 지방산 30종을 분석한 결과, 종실 중 palmitic acid(C16:0), palmitoleic acid(C16:1), stearic acid(C18:0), oleic acid(C18:1), linoleic acid(C18:2), linolenic acid(C18:3), arachidic acid(C20:0), eicosadienoic acid(C20:2), behenic acid(C22:0), lignoceric acid(C24:0)를 제외한 지방산들은 DP-073496-4 카놀라와 non-GM 대조군 카놀라 간에 통계적 유의차를 보이지 않았다.
- Palmitic acid(C16:0), palmitoleic acid(C16:1), stearic acid(C18:0), oleic acid(C18:1), linoleic acid(C18:2), linolenic acid(C18:3), arachidic acid(C20:0), eicosadienoic acid(C20:2), behenic acid(C22:0), lignoceric acid(C24:0)는 통계적 유의차는 보였지만, 분석치가 모두 해당 허용범위 이내였으므로 생물학적으로 차이가 없음이 확인되었다.

(다) 내재성독소

- 카놀라에 포함된 항영양소 또는 유해생리활성물질로는 글루코시놀레이트, erucic acid, 탄닌(tannin), 피틴산(phytic acid) 등이 알려져 있지만, 사람은 카놀라 종실을 원료로 하여 생산된 카놀라유를 식품 성분으로 섭취하는 것이며 이러한 유해생리활성물질들은 식용유 생산 과정에서 제거된다.

(라) 항영양소

○ 글루코시놀레이트

- DP-073496-4 카놀라 종실 중 글루코시놀레이트 14종을 분석한 결과, progoitrin, glucoalyssin, neoglucobrassicin을 제외한 분석 항목 11종은 DP-073496-4 카놀라와 non-GM 대조군 카놀라 간에 통계적 유의차를 보이지 않았다.
- Progoitrin, glucoalyssin, neoglucobrassicin은 통계적 유의차는 보였지만, 분석치가 모두 해당 허용범위 이내였으므로 생물학적으로 차이가 없음이 확인되었다.

○ 항영양소 및 2차 대사산물

- DP-073496-4 카놀라 종실 중 항영양소 및 2차 대사산물 총 10종을 분석한 결과는 표 23(p. 98)과 같다. 분석 결과, 탄닌(tannins, 불수용성), 피틴산(phytic acid), 콜레스테롤(cholesterol), brassicasterol, campesterol을 제외한 분석 항목 5종은 DP-073496-4 카놀라와 근동질계 대조군 카놀라 간에 통계적 유의차를 보이지 않았다.
- 탄닌, 피틴산, 콜레스테롤, brassicasterol, campesterol은 통계적 유의차는 보였지만, 분석치가 모두 해당 허용범위(tolerance interval)이내였으므로 생물학적으로 차이가 없음이 확인되었다.

(마) 알레르기 유발성분

- 카놀라 종실 추출 정제유(refined oil)는 식품 성분으로 이용되지만, 착유 부산물인 카놀라박은 식용으로 섭취되지 않는다. 정제유(refined oil)는 단백질을 포함하지 않으며 비-알레르기성으로 간주된다.

(바) 삽입된 유전자산물의 대사산물

- DP-073496-4 카놀라 발현 GAT4621 단백질은 DP-098140-6 옥수수에 도입되어 발현되는 GAT4621 단백질과 동일하다. GAT4621 단백질은 글리코세이트에 대해서 기질 특이성이 높지만, 특정 유리 아미노산 5종(L-aspartate, L-glutamate, glycine, L-serine, L-threonine)에 대해서도 미약한 촉매활성이 있어서 아세틸화된 아미노산인 N-acetylaspartate(NAA), N-acetylglutamate(NAG), N-acetylglycine(NAGly), N-acetylserine(NAS), N-acetylthreonine(NAT)이 생성될 수 있다고 확인된 바 있다.
- 카놀라유 중 아세틸 아미노산 5종 함량이 모두 검출한계 또는 정량한계 미만이었고, DP-073496-4 종실 중 NAA, NAG 아미노산 함량은 non-GM 카놀라에 비해 유의한 수준으로 증가했음이 확인되었다. DP-073496-4 카놀라 종실 중 NAA 및 NAG 함량이 non-GM 대조군 카놀라에 비해 유의적으로 증가하였다. NAT 및 NAS 함량도 통계적 유의차는 보였지만, 분석치가 모두 해당 허용범위(tolerance interval) 이내였으므로 생물학적으로 차이가 없음이 확인되었다.

(사) 영양성

- 육계(Ross 708, n = 120수/group, 암수 각 60수)를 대상으로 글리코세이트 처리하지 않은 DP-073496-4 카놀라 및 글리코세이트 처리한 DP-073496-4 카놀라, 대조군으로는 non-GM 근동질계 카놀라, 참조군으로는 non-GM 상업종 카놀라 4종(45H12, 45H13, 46A65, 44A89)을 섭취시켜 영양성을 비교분석한 결과, DP-073496-4 카놀라박(글리코세이트 무처리 및 처리)을

급이한 육계의 증체량, 폐사율, 사료효율, 장기 수율, 지육율(carcass yield)은 non-GM 근동질계 카놀라박 급이 시험군의 육계에 비해 통계적 유의차가 없었다.

- 글리포세이트 무처리한 DP-073496-4 카놀라박 급이군 육계(암컷)의 간 수율 (간/도체 중량 %)에서 통계적 유의차가 관찰되었지만, 참조군으로 사용한 non-GM 상업종 카놀라 4종을 이용한 시험 결과 설정된 허용범위 이내로 확인되어 생물학적으로 차이가 없음이 확인되었다.

(6) 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향

- GAT4621 단백질의 기질이 될 가능성이 있는 저분자 화합물로서 농약 20종 (제초제, 살충제, 살균제), 아미노산 21종 및 향생물질 11종에 대해 시험한 결과, GAT4621 단백질은 시험된 기질 대부분에 대해 유의적인 활성을 나타내지 않았다.
- L-aspartate, L-glutamate, L-serine, glycine, L-threonine 등 5개 아미노산에 대해 효소 활성은 glyphosate 대비 매우 낮았다(glyphosate 대비 약 0.05~1% 수준을 보임).
- 따라서 DP-073496-4에 존재하는 GAT4621 단백질이 식물체 자체의 고유 성분을 기질로 반응할 가능성은 매우 낮다고 판단되었다.

(7) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황

국가명	용도	기관명	승인 현황
캐나다	환경/사료	캐나다 식품검역청(CFIA)	2012년 5월
	식품	캐나다 보건부(HC)	2012년 5월
미국	식품/사료	미국 식품 의약품청(FDA)	2012년 5월
	환경	미국 농무부(USDA)	2013년 7월
멕시코	수입	멕시코 보건부(DOH)	2012년 7월
호주/뉴질랜드	수입	호주/뉴질랜드 식품기준청(FSANZ)	2014년 5월
일본	식품	후생노동성(MHLW)	2014년 12월
	환경	농림수산성(MAFF)	2015년 1월

5. 심사신청 자료 검토 결과

- 이상의 검토 내용과 같이 심사규정에 따라 제출된 안전성 심사 자료를 심사한 결과, 사용된 공여체, 숙주 및 유전자변형 과정 등이 식품으로 이용 시 안전성 문제를 유발하지 않는다고 판단되었다.
- 유전자변형농축수산물에 관해서도 도입된 유전자, 유전자산물, 알레르기성, 독성 및 영양성 등에서 안전성 심사에 필요한 적절한 자료가 제출되었다. 이 자료를 토대로 검토한 결과 지금까지 식품으로 섭취해온 카놀라와 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

6. 기타

- 「유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률」에 의하여 유전자변형 카놀라 DP-073496-4의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성은 농촌진흥청, 환경부, 국립수산물과학원에서 심사 완료하였다.