

**유전자변형 면화 MON88702
안전성 심사 결과 보고서**

2021. 11. 22.

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	4
3. 공여체	4
가. 분류학적 특성	4
나. 안전한 식경험의 유무, 식품용 이외의 노출 경로	4
다. 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성	5
4. 유전자변형	5
가. 형질전환과정에 대한 정보	5
나. 도입 유전자에 대한 정보	7
5. 유전자변형 농축수산물의 특성	11
가. 유전자변형 농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보	11
나. 유전자산물에 관한 정보	12
다. 독성	14
라. 알레르기성	15
마. 숙주와의 차이	16
바. 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향	17
사. 식품용으로서의 저장 및 가공에 관한 설명	18
아. 외국의 식품유통 승인 및 식품용 등의 이용 현황	18
6. 심사신청 자료 검토 결과	18
7. 기타	18
[참고자료]	19
[첨부]	22

유전자변형 면화 MON88702

안전성 심사 결과 보고서(안)

I. 요약

몬산토코리아(유)는 해충저항성을 나타내는 유전자변형 면화 MON88702에 대해 식품의약품 안전처에 「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 MON88702는 *Bacillus thuringiensis*(Bt) 유래 해충저항성 *cry51Aa2* 유전자를 변형(아미노산 치환 8개, 삭제 3개)한 *mcry51Aa2* 유전자 도입을 통하여 노린재 등 반시류(hemipteran) 해충과 총채벌레류(thysanopteran) 해충에 대한 저항성을 나타낸다. 승인 현황은 '18년에 미국, 캐나다, 호주, 뉴질랜드, '19년에 일본에서 승인되었다.

안전성 확인을 위해 숙주, 공여체, 유전자변형 과정, MON88702의 특성에 관한 자료를 제출 받아 검토한 결과, 식품용으로 이용시 안전성 문제를 유발하지 않는 것으로 확인되었다.

MON88702에 도입된 *mcry51Aa2* 유전자의 안정성을 알아보기 위해 육종 5세대(R3~R7)를 대상으로 차세대 염기서열분석(NGS), 서던 블롯(southern blot)을 실시한 결과 MON88702에서 안정적으로 유지되는 것으로 확인되었다.

기존에 알려진 독소 및 항영양소와 유사성을 알아보기 위해 독소 데이터베이스(Tox database, TOX 2017), 단백질 데이터베이스(Protein database, PRT 2017)를 이용하여 *mcry51Aa2* 단백질의 아미노산 서열과 연관성을 평가한 결과, 기존 독소 및 항영양소와 상동성은 없는 것으로 확인되었다. 또한 *mcry51Aa2* 단백질에 대한 마우스 단회투여 독성자료를 검토한 결과, 독성이 없는 것으로 확인되었다.

기존에 알려진 알레르겐과 유사성을 알아보기 위해 알레르겐 데이터베이스(Allergen database, AD 2017)를 이용하여 *mcry51Aa2* 단백질의 아미노산 서열과 이미 알려진 알레르겐의 80개 이상 아미노산 서열에서 35% 이상 상동성을 갖는지 여부와 8개 연속적인 아미노산이 일치하는지 검색한 결과, 기존 알레르겐과 상동성은 없는 것으로 확인되었다.

영양성을 확인하기 위해 MON88702와 기존 면화의 주요영양성분, 미량영양성분, 항영양소 등의 함량을 비교한 결과, 유의미한 차이가 없었다. 육계(broiler)보다 사료내 함유량(메기 20%, 육계 10%))이 높은 메기를 대상으로 MON88702와 기존 면화를 8주 동안 각각 급이 시험한 결과, 영양성에 차이가 없는 것으로 확인되었다.

따라서, 심사위원회는 유전자변형 면화 MON88702에 대해 지금까지 식품으로 섭취해온 면화와 비교하여 안전성에 문제가 없는 것으로 판단되었다.

II. 심사경위

- 몬산토코리아(유)는 해충저항성 면화 MON88702에 대해 「식품위생법」 제18조 및 심사 규정에 따른 안전성 심사를 받기 위하여 2018년 1월 17일 식품의약품안전처에 안전성 관련 자료를 첨부하여 심사 신청하였다.
- 이에 식품의약품안전처장은 본 품목이 심사 규정에 따라 안전성 평가가 이루어졌는지 여부에 대하여 심사위원회에 심사 의뢰하고,
- 심사위원회는 신청인이 제출한 자료에 근거하여 아래와 같이 심사 규정에 따라 안전성 평가가 이루어졌는지 확인하였다.

III. 심사경과

- 심사대상 품목

대상 품목	신청자	개발자	제외국의 안전성 승인 현황
유전자변형 면화 MON88702	몬산토코리아(유)	Bayer Crop Science LP	미국('18), 캐나다('18), 호주/뉴질랜드('18), 일본('19)

- 심사경과
 - 2018년 1월 17일 안전성심사 신청
 - 2018년 3월 20일 1차 심사위원회 개최
 - 2019년 6월 18일 2차 심사위원회 개최
 - 2019년 9월 17일 3차 심사위원회 개최
 - 2019년 12월 17일 4차 심사위원회 개최

IV. 심사방법

- 본 품목과 관련하여 심사 신청된 유전자변형 농축수산물이 심사 규정의 적용대상인지 검토하였고,
- 제출된 안전성 평가자료가 심사 규정에서 요구하는 자료를 갖추었는지 확인한 후 자료의 내용을 토대로 안전성 평가자료를 심사하였다.

V. 심사 신청 자료 검토

- 심사 신청된 식품의 개요
 - 몬산토코리아(유)에서 심사 신청한 유전자변형 면화 MON88702는 Bt 유래 해충저항성 유전자 *cry51Aa2*를 변형(아미노산 치환 8개, 삭제 3개)한 *mcry51Aa2* 유전자를 도입한 것으로 해충저항성 형질을 갖는다.
- 식품으로의 적합성 검토
 - 본 품목과 관련하여 제출된 안전성 평가자료가 심사 규정 제12조에서 요구하는 자료를 충족하는지 검토하였으며,
 - 자료의 내용을 토대로 다음과 같이 식품으로서 안전성이 확보되어 있는지 심사하였다.

1. 유전자변형 농축수산물의 개발목적 및 이용방법

- 몬산토코리아(유)에서 심사 신청한 MON88702는 *ncry51Aa2* 유전자가 도입된 것으로 노린재 등 반시류(hemipteran) 해충과 총채벌레류(thysanopteran) 해충에 대한 저항성 형질을 갖는다.
- 그 밖의 재배 및 이용 방법은 기존의 일반 면화와 동일하다.

2. 속주

가. 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)

- 종(Species) : *Gossypium hirsutum* L.
- 속(Genus) : *Gossypium* L.
- 과(Family) : Malvaceae
- 일반명(Common Name) : 면화

나. 재배 및 품종개량의 역사

- 재배 면화 *G. hirsutum*의 알려진 가장 오래된 고고학적 유물(archaeological remain)은 기원전 약 3,500~2,300년 멕시코 중부에서 나왔으며, *G. barbadense* 재배에 대해 알려진 가장 오래된 고고학적 증거는 기원전 약 5,500년 페루 북동부에서 나왔다.¹⁾
- 면화는 전세계 열대 및 아열대 지역에 광범위하게 분포하는 50여개 종(species)이 현재 알려져 있다. 4개의 재배종(*G. hirsutum*, *G. barbadense*, *G. arboreum*, *G. herbaceum*)이 독립적으로 재배화 되었으며, 이 중에서 2개 종(*G. hirsutum*, *G. barbadense*)이 세계 면화 생산의 95% 이상을 차지한다.¹⁾
 - * (재배면적 90% 차지) *G. hirsutum*, 흔히 육지면(Upland cotton), 미국면(American cotton), 멕시코면(Mexican cotton), 아칼라면(Acala cotton)이라고 칭함
 - * (재배면적 5% 차지) *G. barbadense*, 흔히 초장면(extra long-staple cotton), 피마면(Pima cotton), 이집트면(Egyptian cotton)이라고 칭함
- 4개 재배종 중 *G. arboreum*과 *G. herbaceum*은 아프리카와 중동지역에서 발달한 2배체 종(diploid species)이며, *G. barbadense*와 *G. hirsutum*은 미주지역에서 발달한 이질 4배체 종(allotetraploid species)이다.^{2), 3)}

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

- 면화에는 고시폴(gossypol)과 사이클로프로판노이드 지방산(cyclopropanoid fatty acid)이 함유되어 있으며, 이들은 항영양성분(anti-nutrients)으로 간주된다. 고시폴은 일반적으로 유리(free)상태 또는 결합(bound)상태로 존재하며, 유리 고시폴은 생리적 활성 형태(physiologically active form)로서 주로 원료 면실(raw cottonseed)에 존재하는 형태이다. 가공과정에서 이들 항영양성분은 제거되기 때문에, 고도로 정제된 산물(정제, 표백, 탈취된 오일 및 린터)만이 인간이 섭취하기에 적합하다.⁴⁾
- 면화는 말발산(malvalic acid), 스테르쿨린산(sterculic acid) 및 디하이드로스테르쿨린산

(dihydrosterculic acid)을 포함하는 CPFA를 생산한다. 이들 지방산은 일반적으로 면실유 총 중량의 약 1~2%를 차지한다.⁴⁾ 식품 및 사료에서는 바람직하지 않은 부작용을 나타내므로 CPFA의 수준을 최소화해야 한다.¹⁾ 일반적인 CPFA의 작용은 스테아르산(stearic acid)에서 올레산(oleic acid)으로 불포화반응을 저해하여 막투과성(membrane permeability)을 변화시키거나 지방의 녹는점을 상승시킨다. 이러한 작용으로 인하여 달걀 변색, 달걀 생산 저하, 쥐(rat) 성장 지연 및 젖소의 버터밀크 내 지방함량 변화 등의 생물학적 영향이 관찰된다.⁵⁾

- CPFA의 수준은 가공과정에서 감소하므로 상업적으로 유통되는 면실유의 CPFA 함량은 미미한 수준이다.¹⁾ 또한 원료 면실의 지질 함량은 약 30% 수준이지만 가공된 면실박의 잔유(residual oil) 함량은 0.5-3.5% 수준으로 감소한다. 따라서 가공된 면실박의 CPFA 수준은 원료 면실 내 수준과 비교하여 98% 감소할 수 있다.

라. 안전한 식경험의 유무

- 식물 제조를 위해 섬유를 제거하는 조면 공정(textile manufacturing)을 거친 후에, 면실(cottonseed)은 면실유(oil), 면실박(meal), 면실피(hull), 린터(linter) 등의 4가지 주요 산물로 가공된다. 면실 가공에서는 일반적으로 면실유 16%, 면실박 45%, 면실피 26%, 린터 9%가 생산되며(중량 기준), 4%는 가공 과정에서 손실된다.⁶⁾ 이 가운데 면실유와 린터만이 식재료로 사용된다.
- 면실유는 최상품의 식용유로 사용되며 튀김용 기름, 샐러드유, 조리용 기름, 마요네즈, 샐러드 드레싱, 쇼트닝, 마가린 등 다양한 식품 용도로 사용된다. 대략의 면실유(crude cottonseed oil)를 추출하고 남은 물질이 면실박이다.
- 린터는 식물 제조를 위한 조면 공정에서 긴 섬유가 제거된 후에 남는 미국 육지면 면실(American upland cottonseed)의 짧은 섬유이다. 린터는 거의 순수한(>99%) 셀룰로스로 이루어져 있으며, 알칼리성 pH와 100°C 이상의 온도에서 가공 과정을 거쳐 고섬유질의 식품으로 사용될 수 있다.^{7), 8)}

3. 공여체

가. 분류학적 특성

- 강(Class) : Bacilli
- 목(Order) : Bacillales
- 과(Family) : Bacillaceae
- 속(Genus) : *Bacillus*
- 종(Species) : *thuringiensis*

나. 안전한 식경험의 유무, 식품용 이외의 노출 경로

- Bt의 포자 살포는 농업에서 해충방제를 위해 다년간 사용되어왔다. 몇 가지 신선 청과류와 포도, 우유, 파스타, 빵에서 Bt 포자의 잔류량이 검출되었다. 이 같은 노출에도 불구하고 Bt가 포유동물에 끼친 피해는 확인된 바 없다.⁹⁾

- 미국 식품의약국(FDA)은 최초의 미생물 *Bt* 제품에 대해 광범위한 독성 및 전염성 평가를 실시한 후 1960년에 허용기준 요건의 면제를 승인하였다. 시험은 급성, 아만성, 만성 연구로 구성되었으며, 같은 해에 미국 농무부(USDA)에 의해 등록이 승인되었다. 1971년 미국 환경보호국(EPA)에 다양한 천연 및 유전자변형 미생물 *Bt* 제품이 등록되었으며, 허용기준 면제 대상에 포함되었다.^{10), 11)}

다. 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성

- *Bt* 미생물 농약(microbial biopesticide)의 안전한 사용 이력은 50년 이상 동 제품을 사용한 기록을 통해 확인되었다.¹⁰⁾ 미국에는 미생물 유래 *Bt* 제품이 180종 이상 등록되어 있으며 유럽연합에서는 120종 이상의 미생물 제품이 승인되었다.¹⁰⁾ 포자생성 *Bt*는 농업, 특히 유기농업에서 해충 방제용으로 오랫동안 안전하게 사용되어왔다. 포자생성 *Bt*는 베리류, 양배추, 포도, 토마토, 셀러리, 상추, 시금치 등의 소비되는 농산물에 직접 안전하게 살포되어왔다.¹¹⁾
- 다수의 해충저항성 Cry 단백질(예: Cry2A, Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1C, Cry1F)을 포함하는 상업용 *Bt* 미생물농약의 광범위한 독성시험에서는 인간이나 동물의 건강에 위해 영향이 없었다.¹²⁾

4. 유전자변형

가. 형질전환 과정에 대한 정보

1) 형질전환 방법

- 관행 발아 종자의 배아(embryo)에서 분열조직을 잘라내어 형질전환 구조체(transformation construct)를 운반하는 아그로박테리움(*Agrobacterium*)과 함께 배양하였다. 이를 항생제(spectinomycin, carbenicillin disodium salt, cefotaxime sodium salt)가 포함된 선발배지를 거쳐 뿌리 발달에 도움이 되는 배지로 옮기고, 정상적인 표현형 특성을 보이는 뿌리 발생 식물을 선발하고, 증식 및 세부 평가를 위해 토양으로 옮겼다.
- 형질전환 과정을 통해 생성된 R0 식물을 자가수분하여 R1 식물을 생산하였고, *mCry51Aa2* 발현 카세트(T-DNA I)에 대해 양성이며 선발표지 유전자인 항생제 내성 *aadA* 발현 카세트(T-DNA II)가 포함되지 않은 R1 식물을 PCR(polymerase chain reaction) 기반 분석으로 확인하였다. 그 후, T-DNA I에 대해 동형접합성(homozygous)인 R1 식물을 선발하고, 우수한 표현형, 분자적 특성에 기초하여 MON88702를 최적의 이벤트로 선발하였다.¹³⁾

R0 ⊗ → R1 ⊗ → R2 ⊗ → R3 ⊗ → R4 ⊗ → R5 ⊗ → R6 ⊗ → R7

< MON88702의 육종 이력 >

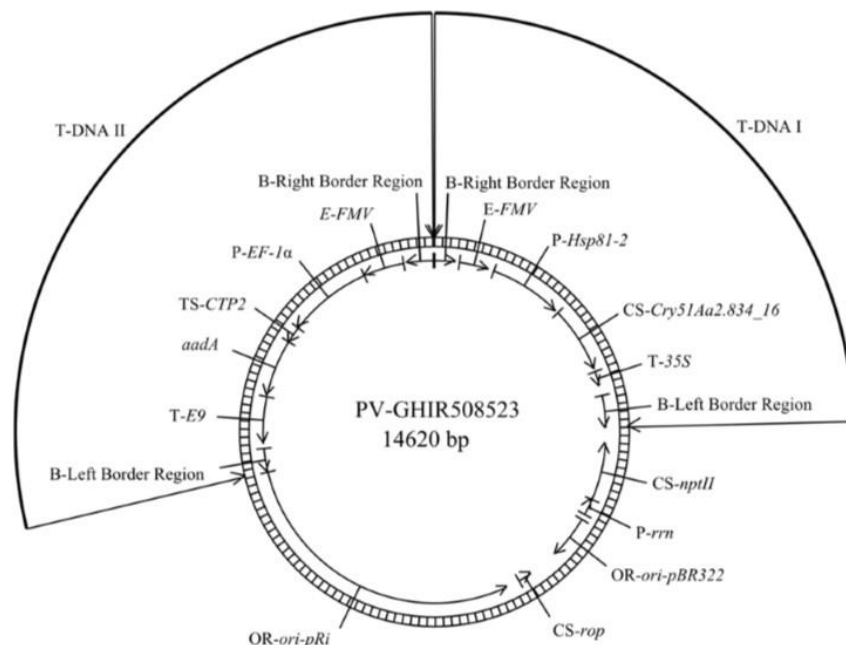
⊗: 자가수분, R3~R7 세대: 삽입체 안정성 확인에 사용,

R4 세대: 분자특성화, 성분분석, 상업적 품종 육종에 사용

2) 벡터에 대한 정보

가) 기원

- 벡터 PV-GHIR508523은 *FMV* enhancer, *EF-1a* promoter, *CTP2* 표적서열, *aadA*, *E9* terminator, *Hsp81-2* promoter, *rrn* promoter, *nptII* 등이 포함된 벡터 A에 *mCry51Aa2* 유전자를 결합하여 제작하였다.
- T-DNA I에는 Bt 유래 *mCry51Aa2* 유전자(해충저항성) 등을 포함하고 있다.
- T-DNA II에는 transposon Tn7 유래 *aadA* 유전자(spectinomycin, streptomycin 내성) 등을 포함하고 있다.



< 벡터 PV-GHIR508523 >

나) 숙주에서의 확인

- 차세대 염기서열 분석(NGS)¹³⁾, PCR¹³⁾, 서던 블롯¹⁴⁾을 통해 MON88702에 단일의 DNA 삽입체(T-DNA I)가 포함되어 있으며, 벡터 backbone 서열은 포함되어 있지 않음을 확인하였다.

다) 숙주에서의 기능

- 벡터 PV-GHIR508523에는 두 개의 T-DNA(I, II)를 포함하고 있다.
- T-DNA I에는 *Hsp81-2* promoter, *mCry51Aa2*, 35S terminator 등으로 이루어진 발현 카세트를 포함하고 있어, 해충저항성을 나타낸다.
- T-DNA II에는 *EF-1a* promoter, *aadA*, *E9* terminator 등으로 이루어진 발현 카세트를 포함하고 있어, 항생제(spectinomycin, streptomycin) 내성을 나타낸다.

라) 제한효소 절단 지도

- 벡터 PV-GHIR508523에 대한 제한효소는 4. 가. 2) 가)에 제시되었다.¹⁴⁾

마) 유해염기 서열 유무

- 4. 나. 2) 벡터내 유전자 크기 및 명칭에서 제시한 바와 같이 벡터 PV-GHIR508523내 유해염기서열은 없다.

바) 전달성에 관한 정보

- 벡터 PV-GHIR508523에는 T-DNA를 면화 게놈으로 전달하는데 필요한 우측 경계(Right Border, RB)와 좌측 경계(Left Border, LB) 영역의 DNA 서열이 포함되어 있다. 우측 경계와 좌측 경계는 T-DNA의 양 옆에 위치하여 형질전환 과정에서 T-DNA가 식물 게놈으로 전달되고 통합되게 한다.

3) 중간숙주에 대한 정보

- MON88702를 생산하기 위하여 벡터 PV-GHIR508523을 관행 대조군 면화 DP393으로 전달하는데 사용한 중간 숙주는 식물내 종양을 일으키는 유전자를 포함하고 있지 않은 무력화된(disarmed) 계통의 *Agrobacterium tumefaciens* strain AB33이다.

나. 도입유전자에 대한 정보

1) 구성 유전자의 특성, 염기서열, 제한효소 절단지도

가) 선발표지유전자

- 벡터 PV-GHIR508523의 T-DNA II에는 항생제(spectinomycin, streptomycin)에 내성을 부여하는 *aadA* 발현 카세트가 포함되어 있어 형질전환된 조직을 선발하는데 이용되었다.

나) 조절인자

- T-DNA I

- ① FMV 인핸서 : Figwort Mosaic Virus의 35S RNA에서 유래한 유전자로 식물세포에서 전사를 향상시킨다.
- ② Hsp81-2 프로모터 : 애기장대(*Arabidopsis thaliana*)의 heat shock protein 81-2 유전자의 프로모터로 식물에서 전사를 지시하는 기능을 한다.
- ③ 35S CaMV 3' : Cauliflower Mosaic Virus 유래 35S RNA의 3' 비번역 영역(untranslated region)으로, 식물세포에서 mRNA의 안정성에 필요한 폴리아데닐화(polyadenylation)를 지시한다.

- T-DNA II

- ① FMV 인핸서 : Figwort Mosaic Virus의 35S RNA에서 유래한 유전자로 대부분의 식물세포에서 전사를 향상시킨다.
- ② EF-1α 프로모터 : 연장인자(elongation factor) EF-1α를 인코딩하는 *A. thaliana* 유래의 leader, promoter, intron 서열로 이루어진 프로모터로서 식물세포에서 전사를 지시한다.
- ③ CTP2 표적서열 : *A. thaliana*의 EPSPS 운반펩타이드 영역을 인코딩하는 *ShkG* 유전자에서 유래하였으며 단백질이 엽록체로 이동하도록 지시한다.
- ④ *E9* : ribulose biphosphate carboxylase protein의 작은 subunit을 인코딩하는 완두 (*Pisum sativum*, pea) *rbcS* 유전자계 유래 3' 비번역 영역으로 mRNA의 안정성에 필요한 폴리아데닐화(polyadenylation)를 지시한다.

다) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

- 제시된 조절 인자 이외의 다른 염기 서열은 삽입되지 않았다.¹³⁾

2) 크기 및 명칭

- 벡터 PV-GHIR508523의 유전자 크기 및 명칭은 [표 1]과 같다.

[표 1] 벡터 PV-GHIR508523의 유전자 크기 및 명칭

위치	유전자	기능
T-DNA I		
1-285	B ¹ -우측 경계영역	T-DNA 전달에 사용된 우측 경계서열을 포함하는 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> 유래 DNA 영역
286-338	개재서열 (intervening sequence)	DNA 클로닝에 사용된 서열
339-745	E ² -FMV	Figwort mosaic virus(FMV)의 35S RNA 유래 enhancer. 대부분의 식물세포에서 전사를 향상시킴
746-820	개재서열	DNA 클로닝에 사용된 서열
821-1828	P ³ -Hsp81-2	<i>Arabidopsis thaliana</i> 유래의 heat shock protein 81-2 (Hsp81-2)에 대한 promoter와 5' UTR leader 서열. 식물세포에서 전사를 지시
1829-1865	개재서열	DNA 클로닝에 사용된 서열
1866-2786	CS ⁴ -Cry51Aa2.83 4_16	해충저항성을 제공하는 Bt의 변형된 Cry51Aa2 단백질의 코딩서열
2787-2818	개재서열	DNA 클로닝에 사용된 서열
2819-3018	T ⁵ -35S	Cauliflower mosaic virus(CaMV)의 35S RNA의 3' UTR 서열. 식물세포에서 polyadenylation을 지시
3019-3156	개재서열	DNA 클로닝에 사용된 서열
3157-3598	B-좌측 경계영역	T-DNA 전달에 사용된 좌측 경계서열을 포함하는 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> 유래 DNA 영역

위치	유전자	기능
Vector backbone		
3599-3807	개재서열	DNA 클로닝에 사용된 서열
3808-4602	<i>CS-nptII</i>	Neomycin phosphotransferase II(NPT II)를 인코딩하는 <i>Escherichia coli</i> 의 transposon Tn5 유래 <i>neo</i> 유전자의 코딩서열. neomycin 및 kanamycin 내성을 제공
4603-4827	<i>P-rrn</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 유래 리보솜 RNA operon의 promoter. 박테리아에서 전사를 지시
4828-4903	개재서열	DNA 클로닝에 사용된 서열
4904-5492	<i>OR⁶-ori-pBR322</i>	<i>E. coli</i> 에서 플라스미드를 유지하기 위한 플라스미드 pBR322 유래 복제기점
5493-5919	개재서열	DNA 클로닝에 사용된 서열
5920-6111	<i>CS-rop</i>	<i>E. coli</i> 에서 플라스미드 사본수를 유지하기 위한 ColE1 플라스미드 유래 ROP(repressor of primer) 단백질에 대한 코딩서열
6112-6299	개재서열	DNA 클로닝에 사용된 서열
6300-10413	<i>OR-ori-pRi</i>	<i>Agrobacterium</i> 에서 플라스미드를 유지하기 위한 플라스미드 pRi 유래 복제기점
10414-10420	개재서열	DNA 클로닝에 사용된 서열
T-DNA II		
10421-10739	B-좌측 경계영역	T-DNA 전달에 사용된 좌측 경계서열을 포함하는 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> 유래 DNA 영역
10740-10803	개재서열	DNA 클로닝에 사용된 서열
10804-11446	<i>T-E9</i>	Ribulose biphosphate carboxylase 단백질의 작은 subunit을 인코딩하는 <i>P. sativum</i> (완두) <i>rbcS</i> 유전자계 유래 3' UTR 서열(Coruzzi et al., 1984). mRNA의 polyadenylation 지시
11447-11461	개재서열	DNA 클로닝에 사용된 서열
11462-12253	<i>aadA</i>	transposon Tn7 유래 aminoglycoside-modifying enzyme, 3''(9)- <i>O</i> -nucleotidyltransferase에 대한 박테리아성 promoter 및 코딩서열, 3' UTR(Fling et al., 1985). spectinomycin 및 streptomycin 저항성 제공
12254-12481	<i>TS⁷-CTP2</i>	EPSPS 운반펩타이드(transit peptide) 영역을 인코딩하는 <i>Arabidopsis thaliana</i> 유래 ShkG 유전자의 표적서열. 단백질이 엽록체로 이동하도록 지시
12482-12490	개재서열	DNA 클로닝에 사용된 서열
12491-13638	<i>P-EF-1a</i>	연장인자(elongation factor) EF - 1a를 인코딩하는 <i>Arabidopsis thaliana</i> 유래 EF - 1a 유전자의 promoter, leader 및 intron 서열. 식물세포에서 전사를 지시
13639-13661	개재서열	DNA 클로닝에 사용된 서열
13662-14198	<i>E-FMV</i>	figwort mosaic virus(FMV)의 35S RNA 유래 enhancer. 대부분의 식물세포에서 전사를 향상시킴

위치	유전자	기능
14199-14248	개재서열	DNA 클로닝에 사용된 서열
14249-14605	B-우측 경계영역	T-DNA 전달에 사용된 우측 경계서열을 포함하는 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> 유래 DNA
Vector Backbone		
14606-14620	개재서열	DNA 클로닝에 사용된 서열

* ¹B: 경계(Border), ²E: 인핸서(Enhancer), ³P: 프로모터(Promotor), ⁴CS: 코딩 서열(Coding Sequence), ⁵T: 전사종결서열(Transcription Termination Sequence), ⁶OR: 복제기점(Origin of Replication), ⁷. TS: 표적서열(Tarteting Sequence)

3) 완성된 발현 벡터내의 유전자 염기서열의 위치 및 방향성

- 벡터 PV-GHIR508523의 크기는 14,620 bp로 구성요소의 위치, 크기 및 방향성이 제시되었다.¹³⁾

4) 구성 유전자의 기능

- *mCry51Aa2* 유전자는 *mCry51Aa2* 단백질을 암호화하며, *Bt* 유래 야생형 *Cry51Aa2* 아미노산 서열과 상동성이 매우 높으며(약 96% 서열 유사성), 해충 저항성을 부여한다.

5) 유해염기서열의 유무

- 벡터 PV-GHIR508523에 존재하는 유전자와 관련이 없으며 벡터로부터 도입 DNA를 통해 MON88702에 전달된 유해염기서열은 없다.¹³⁾

6) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현 가능성

- MON88702에 존재하는 삽입유전자 및 주변 염기서열을 대상으로 전사 및 발현 가능성이 있는 외래전사해독프레임의 아미노산 서열에 대해 알레르겐 데이터베이스(AD 2017), 독소 데이터베이스(TOX 2017), 단백질 데이터베이스(PRT 2017)을 이용하여 분석한 결과, 벡터 PV-GHIR508523로부터 *mCry51Aa2* 단백질을 암호화하는 서열 외의 외래전사해독 프레임은 MON88702에 도입된 DNA로 전달되지 않았다.^{15), 16)}

7) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입

- MON88702의 DNA를 PCR을 이용하여 증폭시킨 후 전체 삽입체와 인접한 DNA 서열에 걸친 증폭된 2개의 DNA amplicon을 서열분석을 통해 삽입체 내 유전자들의 온전성(intactness)과 구성을 확인한 결과, MON88702 삽입체는 3,143 bp이고, 삽입체 내의 각 유전자(T-DNA 경계영역 제외)가 온전하며, 삽입체의 서열이 벡터 PV-GHIR508523의 해당 서열과 일치함을 확인하였다.¹³⁾

- 관행 면화 내 삽입부위를 조사하기 위하여 관행 대조군에서 생성된 PCR 산물과 MON88702의 5' 및 3' 인접 서열간의 비교를 통해 T-DNA I의 삽입 과정 중 MON88702의 3' 인접 서열에서 면화 게놈 DNA의 244개 염기가 결손(deletion)되고, 4개의 염기가 삽입되었고, MON88702의 나머지 인접부는 관행 대조군과 일치함을 확인하였다.¹⁵⁾ 이러한 변화는 식물의 형질전환 과정에서 일반적이며, *Agrobacterium* 매개 형질전환 과정에서 식물의 이중가닥 손상복구 기작(double-stranded break repair mechanism)에 의해 발생한 것으로 설명하였다.^{17), 18)}

5. 유전자변형 농축수산물의 특성

가. 유전자변형 농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보

1) 유전자변형 농축수산물의 게놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

- *mCry51Aa2* 유전자는 *mCry51Aa2* 단백질을 암호화하며, *Bt* 유래 야생형 *Cry51Aa2* 아미노산 서열과 상동성이 매우 높고(약 96% 서열 유사성), 해충저항성을 부여한다.
- *mCry51Aa2*의 아미노산 서열은 야생형 *Cry51Aa2*와 비교하여 8개 아미노산(F46S, Y54H, S95A, F147S, Q149E, S167R, P219R, R273W)이 치환되었고 3개 아미노산(Δ 196-198)이 결손(deletion)되었다.¹³⁾

2) 삽입부위의 수

- 차세대 염기서열 분석(NGS)¹³⁾, 서던 블롯(southern blot)¹⁴⁾ 결과, MON88702에 *mCry51Aa2* 발현 카세트를 포함하는 의도된 T-DNA I의 단일 사본이 하나의 유전자좌에 삽입되었음을 확인하였다.

3) 각 삽입부위 유전자의 구성

가) 복제수, 염기서열

- 차세대 염기서열 분석(NGS)¹³⁾, 서던 블롯(southern blot)¹⁴⁾ 결과, MON88702에 *mCry51Aa2* 발현 카세트를 포함하는 의도된 T-DNA I의 단일 사본이 하나의 유전자좌에 삽입되었으며, 삽입된 염기서열을 확인하였다.

나) 이미 알려져 있는 독소나 항영양소를 암호화하는 유전자와의 상동성

- *mCry51Aa2*의 아미노산 서열을 독소(Tox 2017) 및 모든 단백질(PRT 2017) 데이터 베이스의 아미노산 서열과 상동성을 검색한 결과 독소나 항영양소 서열과 상동성은 나타나지 않았다.^{15), 16)}

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

- MON88702에 존재하는 삽입유전자와 5' 및 3'의 인접부위에 있는 서열의 외래전사

해독프레임의 유무, 전사 및 발현 가능성을 확인하기 위해 종결코돈(TGA, TAG, TAA)에서 종결코돈까지 번역된 아미노산 서열에 대해 알레르겐 데이터베이스(AD 2017), 독소 데이터베이스(Tox 2017), 모든 단백질 데이터베이스(PRT 2017)을 이용하여 분석한 결과 상동성은 나타나지 않았다.^{15), 16)}

5) 안정성에 관한 사항

가) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

- MON88702의 육종 5세대(R3~R7세대)에 걸쳐 차세대 염기서열 분석(NGS)¹³⁾, 서던 블롯(southern blot)¹⁴⁾을 실시한 결과 삽입된 유전자가 안정적으로 유지됨을 확인하였다.
- MON88702내 T-DNA I의 분리 및 안정성을 확인하기 위해 복수 세대(BC1F1, BC2F2, BC3F1)에 걸쳐 분리비 자료를 검토한 결과, 멘델의 유전법칙에 따라 분리 비율이 관찰되어, MON88702 계놈의 단일 유전자좌에 하나의 유전자 사본이 삽입되었음이 확인되었다.

나) 복수 세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- 복수세대에서 mCry51Aa2 단백질이 존재하는지 평가하기 위해, MON88702의 R3~R7 세대에서 수집한 잎 조직에 대해 웨스턴 블롯(western blot)을 실시한 결과 육종 5세대(R3~R7세대)에서 모두 존재함이 확인되었다.
- ELISA를 통한 R4세대의 mCry51Aa2 단백질 분석¹⁹⁾ 결과, 잎(over season leaf1)에서 550~1,700µg/g dw, 잎(over season leaf4)에서 700~1,300µg/g dw, 뿌리에서 150~290µg/g dw, 화분에서 2.0~2.9µg/g dw, 먼실에서 91~170µg/g dw이었다.
- 또한, 육종 5세대(R3~R7)의 잎조직에 대한 mCry51Aa2 단백질 발현량은 웨스턴 블롯 결과 R4세대와 유사한 단백질 밴드 강도를 나타내 550~1,700µg/g dw 사이로 발현량을 추정하였다.

나. 유전자산물에 관한 정보

1) 유전자산물의 화학적 성질

- mCry51Aa2 단백질은 305개 아미노산으로 구성되어 있으며, 분자량은 34.2KDa이다.²⁰⁾

2) 유전자산물의 기능

- MON88702에서 발현된 mCry51Aa2 단백질은 *Bt*로부터 확인된 Cry51Aa2 단백질의 제한적인 변형을 통해 개발되었으며, 야생형 Cry51Aa2와 약 96%의 아미노산 동일성을 공유한다.²⁰⁾
- mCry51Aa2의 작용기작은 현재 작물 해충방제를 위해 상업적으로 사용되는 다른 *Bt* 살충단백질들과 동일한 일반적인 단계를 따른다.
- mCry51Aa2의 활성 범위 평가를 위해 18개 무척추동물 중(7개 무척추동물 목 및 12개 과)의 실험실, 통제된 환경(예. 온실/생장상), 포장 평가내 식해(feeding damage)에 대한 분석

결과²¹⁾, 반시목(Hemiptera), 총채벌레목(Thysanoptera), 초시목(Coleopteran)의 3개 곤충 목(order)에서 나타났으며, 인시목(Lepidoptera), 막시목(Hymenoptera), 툽토기목(Collembola), 지렁이목(Haplotaxida)을 포함하여 주요 생태적 기능군을 대표하는 곤충으로 실시한 추가 스크리닝 연구에서는 mCry51Aa2 단백질에 대한 지속적인 식이 노출의 위해영향이 없는 것으로 확인되었다.

3) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

- MON88702 생산 mCry51Aa2 단백질은 아미노산 서열 분석 결과²²⁾, Bt로부터 확인된 Cry51Aa2 단백질과 첫 번째 methionine이 없이 305개 아미노산으로 동일하게 이루어져 있음을 확인하였다.

4) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- (SDS-PAGE) mCry51Aa2 단백질의 SDS-PAGE를 이용한 분자량 측정 결과²²⁾, MON88702 생산 mCry51Aa2 단백질과 Bt 생산 mCry51Aa2 단백질이 분자량은 약 34kDa로 나타났다.
- (Western blot) mCry51Aa2 단백질에 특이적인 항체를 이용한 면역반응성을 확인하기 위해 western blot 분석 결과²²⁾, MON88702 생산 mCry51Aa2 단백질과 Bt 생산 mCry51Aa2 단백질 모두에서 약 34 KDa에 해당하는 밴드가 검출되었다.
- (당화반응 분석) Glycoprotein Detection Method를 사용하여 분석한 결과²²⁾, 양성 대조군(transferrin)에서 밴드가 검출된 반면, MON88702 생산 mCry51Aa2 단백질과 Bt 생산 mCry51Aa2 단백질에서는 어떤 밴드도 검출되지 않았다.
- (N-말단 서열) MON88702 생산 mCry51Aa2 단백질을 분석한 결과²²⁾, N-말단의 methionine이 검출되지 않은 것을 제외하고 2번 아미노산부터 추론된 mCry51Aa2 단백질과 일치하며, Bt 생산 mCry51Aa2 단백질과 일치하였다.

5) 새로운 특성의 표현형

- mCry51Aa2 단백질은 장님노린재(tarnished plant bug) 2개 종(*Lygus hesperus*, *Lygus lineolaris*)과 면화플리호퍼(cotton fleahopper, *Pseudatomoscelis seriatus*), 총채벌레(*thrip*, *Frankliniella* spp.) 등 표적 반시류 및 총채벌레류 해충의 식해(feeding damage)로부터 식물을 보호한다.

6) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- 2015년 미국의 5개 포장시험 장소에서 난괴법(randomized block design)*으로 재배한 4개 반복구로부터 수집하였다. 모든 시험장소에서 각 반복구로부터 잎, 뿌리, 화분, 면실조직 시료를 수집하여 ELISA로 분석하였다.

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

- ELISA를 통한 mCry51Aa2 단백질 분석 결과²³⁾, 잎(over season leaf1)에서 550~1,700µg/g dw, 잎(over season leaf4)에서 700~1,300µg/g dw, 뿌리에서 150~290µg/g dw, 화분에서 2.0~2.9µg/g dw, 면실에서 91~170µg/g dw이었다.

다. 독성

1) 유전자산물이 단백질인 경우

가) 발현단백질의 안전한 식경험의 유무

- mCry51Aa2 단백질은 Bt에서 확인된 Cry51Aa2 야생형 단백질과 약 96%의 서열 상동성을 공유한다. Bt 미생물농약(microbial biopesticide)의 안전한 사용 이력은 50년 이상 동 제품을 사용한 기록을 통해 확인되었다.²⁴⁾ 미국에는 미생물 유래 Bt 제품이 180종 이상 등록되어 있으며 120종 이상의 미생물 제품이 유럽연합에서 승인되었다.²⁴⁾
- 포자생성 Bt는 베리류, 양배추, 포도, 토마토, 셀러리, 상추, 시금치 등의 농산물에 직접 안전하게 살포되어 왔다.¹¹⁾
- 다수의 해충저항성 Cry 단백질(예: Cry2A, Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1C, Cry1F)을 포함하는 상업용 Bt 미생물농약의 광범위한 독성시험에서는 인간이나 동물의 건강에 위해영향을 끼친다는 어떠한 증거도 나오지 않았다.¹³⁾

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

- mCry51Aa2 단백질 조희서열과 독소(TOX_2017) 및 모든 단백질(PRT_2017) 데이터베이스의 단백질 서열 사이의 연관성을 평가하기 위해 FASTA 서열 배열 도구를 사용하여 분석²⁵⁾하였다.
- TOX_2017 데이터베이스 엔트리 GI-1102943401과의 정렬에서 1개의 FASTA 배열이 산출되었으나, 병원균(*Aeromonas hydrophila*) 유래 서열이 아닌 aerolysin-유사 ETX/MTX2 β -기공형성 단백질로 나타났다.
- PRT_2017 데이터베이스에 대한 FASTA 검색 결과 mCry51Aa2의 306개 아미노산 전장에 걸쳐 100%의 동일성을 보였으며, Cry51Aa1 단백질과 306개 아미노산 중 303개에 걸쳐 약 96%의 동일성을 나타내어 mCry51Aa2가 Cry51Aa family의 구성원이라는 정체성(identity)을 확인해주었다. mCry51Aa2는 β -기공형성 독소이며 (Moar et al., 2017) ETX/MTX2 family 단백질의 구성원이다.

다) 발현단백질의 물리화학적 처리에 대한 감수성

(1) 단백질 분해성 시험

- 인공위액에 의한 Bt-생산 mCry51Aa2의 분해²⁶⁾
SDS-PAGE 실험 결과, 0.5분 이내에 완전히 분해되었고, western blot 분석 결과, 0.5분 이내에 98% 이상 분해되었고, 2분 이내에 완전히 분해되었다.
- 인공장액에 의한 Bt-생산 mCry51Aa2의 분해²⁶⁾
24hr 처리시까지 분해되지 않았으며, 이는 다수의 Cry단백질에서 관찰되는 현상이다.
- 순차적 소화에 의한 Bt-생산 mCry51Aa2의 분해²⁶⁾
인공위액으로 2분간 소화시킨 후에 인공장액으로 소화시키는 순차적 소화로 mCry51Aa2를 평가한 결과 2분간 pepsin 처리하였을 때 완전히 분해되었다.

(2) 열에 대한 감수성

- 25℃, 37℃, 55℃에서 15분간 열처리했을 때 시험물질에서 mCry51Aa2 단백질의 ~35 kDa 밴드 강도의 뚜렷한 감소는 관찰되지 않았다. 75℃와 95℃에서 15분간 열처리한 mCry51Aa2 단백질에서는 저분자량의 밴드가 일부 나타났으며 ~35 kDa 밴드의 강도가 감소하였다.²⁷⁾
- mCry51Aa2 단백질의 기능활성 분석 결과²⁷⁾, 대조군 mCry51Aa2 단백질의 LC₅₀(lethal concentration 50)은 2.557 µg mCry51Aa2/ml diet였다. 55℃, 75℃, 95℃에서 15분간 열처리한 mCry51Aa2 단백질의 LC₅₀은 60.0 µg mCry51Aa2/ml diet를 초과하여 대조군 mCry51Aa2 단백질에 비해 기능활성이 95% 넘게 감소하였다. 열처리 후에 일부 유지된 mCry51Aa2는 단백질 소화효소인 pepsin, pancreatin에 빠르게 분해되었다.

라) 발현단백질의 단회투여독성

- CD-1마우스(암, 수 각각 10마리)를 대상으로 위관영양법(oral gavage)으로 mCry51Aa2 단백질을 5,000mg/kg bw 용량으로 투여하고 14일 동안 관찰한 결과²⁸⁾, 생존율, 임상 소견, 체중증가량, 사료 섭취량, 육안 병리소견에 미치는 영향은 없었다.

라. 알레르기성

1) 유전자산물이 알레르겐으로 알려져 있는지 여부

- mCry51Aa2는 안전한 사용이력이 광범위하게 존재하고,²⁵⁾ 현재까지 알레르기 단백질의 근원으로 보고된 바는 없다.¹²⁾

2) 유전자산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 인공위액과 인공장액으로 mCry51Aa2 단백질의 소화성을 평가하였으며, 평가 결과에서 mCry51Aa2 단백질이 빠르게 소화됨이 확인되었다.²⁶⁾ 또한 열처리가 mCry51Aa2 단백질의 활성에 미치는 영향을 평가한 결과, 상승한 온도에서의 기능활성 손실에 대해 예측 가능한 성향을 나타냈다.²⁷⁾

3) 유전자산물 중 이미 알려져 있는 알레르겐과의 상동성

- 알레르겐 데이터베이스(AD-2017)의 FASTA 검색에서 80개 이상의 아미노산 잔기 중 35% 이상의 상동성을 가지는 아미노산 서열 및 연속하는 8개의 아미노산 잔기와 일치하는 아미노산 서열에 대해 검색한 결과 mCry51Aa2 단백질과 이미 알려진 알레르겐 단백질 간에 생물학적으로 연관성이 있는 상동성은 관찰되지 않았다.^{15), 16), 25)}

4) 유전자산물이 1일 단백질섭취량의 유의한 양을 차지하고 있는지 여부

- '15년 미국에서 재배한 MON88702 면실에 함유된 mCry51Aa2의 평균 수준은 130 µg/g dw(건조중량)이며, 120 µg/g fw(생중량)에 해당한다(130 µg/g dw × 전환계수 0.92 = 120 µg/g fw).¹⁹⁾

- 식품수급표(2016)³⁰⁾에서 제시된 1인 1일당 식품군별 섭취량 추이에서 ‘기타’ 섭취량 (0.4g)을 사용하여 섭취량을 추정하였다. ‘기타’에 속하는 식품의 100%가 MON88702에서 유래한다고 보수적으로 가정했을 때, 한국 일반인구의 MON88702 면실 섭취량은 0.4g/인/일로 추정되며, 한국 일반인의 평균 체중인 60.73kg(국민건강영양조사 (KHIDI), 2017)³⁰⁾을 사용하면 이 양은 0.007g/kg/일에 해당한다. 이와 같은 보수적인 가정하에서 MON88702 함유 식품의 섭취로 인한 mCry51Aa2 단백질 섭취량은 0.84μg/kg/일이다.
- mCry51Aa2의 최대무독성량(NOAEL)은 단회투여독성 실험결과를 근거로 5,000 mg/kg 체중으로 계산하면, 노출한계(MOE)는 6.0×10^6 이며, 이와같이 매우 큰 노출한계는 인간의 건강에 미치는 위해성이 없음을 나타낸다.

마. 숙주와의 차이

- 2015년 미국의 5개 포장시험 장소에서 재배한 GM 면화 MON88702 및 관행대조군(일반 면화 DP393)으로부터 면실 시료를 수확하여 분석³¹⁾하였다. 포장은 시험장소당 4개 반복구의 난피법으로 배열하였다.
- OECD 권고항목[Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Cotton(2009)]에 기반하여 44개 성분에 대해 통계분석을 실시하였다.
- 통계방법으로는 분산분석(Analysis of Variance, ANOVA)을 사용하였고, 통계학적으로 유의적 차이가 나는 성분에 대해 생물학적으로 유의적 차이가 있는지 여부를 확인하기 위해 참조군(‘09~’13년 미국에서 상업적으로 재배한 일반 면화)으로부터 얻은 분석 결과치의 99%를 포함하는 허용범위(tolerance interval), 작물 성분 데이터베이스(ILSI, the International Life Sciences Institute, Crop Composition Database), 문헌값들과 비교^{31), 32)}하였다.

1) 주요영양성분

(1) 일반성분

- GM 면화 MON88702 및 관행대조군(일반 면화)과 비교시 탄수화물, 회분, 지방, 산성세제불용성섬유(ADF), 중성세제불용성섬유(NDF), 총 식용섬유(TDF)에서 통계적 유의차가 나타나지 않았다. 조단백질에서 통계적 유의차가 나타났으나, 참조범위 및 ISLI 자료 범위 내에 포함되었다.

(2) 아미노산

- 분석한 아미노산(18개)에서 통계적 유의차가 나타나지 않았다.

(3) 지방산

- 분석한 지방산(7개) 중 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산 및 올레인산에서 통계적 유의차가 나타났으나, 문헌범위, 참조범위 또는 ILSI범위 내에 포함되었다.

2) 미량영양성분

(1) 무기질

- 분석한 무기질(6개) 중 칼슘에서 통계적 유의차가 나타났으나, 문헌범위, 참조범위 및 ILSI범위 내에 포함되었다.

(2) 비타민

- 비타민 E에서 통계적 유의차가 나타나지 않았다.

3) 내재성독소/항영양소

- 총 고시폴(Total Gossypol), 유리 고시폴(Free Gossypol), 말발릭산(Malvalic Acid), 스테쿨릭산(Sterculic acid) 및 디히드로스테쿨릭산(Dihydrosterculic Acid)에서 통계적 유의차가 나타나지 않았다.

4) 알레르기 유발성분

- MON88702의 면실은 관행 면화 대조군의 면실과 성분상 동등하며, 현재 유통되는 다른 면화 품종에 비해 알레르기 유발 가능성이 다르지 않음을 확인하였다.

5) 삽입된 유전자산물의 대사산물

- mCry51Aa2 단백질을 생산하여 해충저항성을 제공하는 *mCry51Aa2* 유전자가 도입되어 해충저항성 형질이 나타나는 것을 제외하면, 관행 면화와 비교하여 MON88702 유래 식품의 성분에 의도된 변화가 없다.

6) 영양성

- 관행 대조군, 4개 참조군 면화의 면실박 사료와 비교하여 MON88702 면실박 사료의 영양적 가치를 평가하기 위해 메기 급이연구³³⁾를 실시하였다. 급이연구 사료에 사용된 면실박의 함량(20%)은 상업용 메기 사료에서 일반적으로 사용되는 함량과 동등하다.
- 8주 동안 급이실험 결과³³⁾, 사료섭취량, 체중증가량, 사료전환률, 생존률, 행동에 위해 영향이 나타나지 않았다.

바. 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향

- mCry51Aa2 단백질은 작용기작이 잘 알려져 있으며 곤충 중장의 수용체에 대해 매우 특이적인 결합을 필요로 한다. 또한, 도입단백질 mCry51Aa2는 촉매 활성이 없으며 식물 대사에 영향을 줄 것으로 예상되지 않는 Bt 유래의 해충저항성 단백질이다.
- 성분 연구에서 MON88702는 관행 대조군과 성분상 동등함이 확인되었다. 작용기작 및 성분연구 결과³²⁾에 기초할 때, MON88702에 도입된 mCry51Aa2로 인해 대사경로에 비의도적인 영향이 생길 가능성은 거의 없는 것으로 설명하였다.

사. 식품용으로서의 저장 및 가공에 관한 설명

- MON88702 면화의 저장 및 가공은 관행 면화의 경우와 동일하다.

아. 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용현황

- 미국('18), 캐나다('18), 호주/뉴질랜드('18), 일본('19)에서 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 면화와 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

7. 기타

- 가. 「유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률」에 의하여 유전자변형 면화 MON88702의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성은 농식품부(농촌진흥청), 환경부(국립생태원), 해양수산부(국립수산물과학원)에서 심사 완료하였다.
- 나. 유전자변형 면화 MON88702의 정성 및 정량 시험법에 대한 검토가 완료되었다.
- 다. 유전자변형 면화 MON88702의 안전성 심사 결과 보고서(안)을 식품의약품안전처 누리집 및 정책메일서비스(PMS)에 '21년 10월 21일 ~ 11월 20일까지 공개하여 의견을 수렴한 결과, 접수된 의견은 없었다.

[참고자료]

1. OECD. 2008. Consensus document on the biology of cotton (*Gossypium* spp.). ENV/JM/MONO(2008)33. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
2. Brubaker, C.L., F.M. Bourland and J.F. Wendel. 1999. The origin and domestication of cotton. Pages 3-31 in Cotton: Origin, History, Technology, and Production. C.W. Smith and J.T. Cothren (eds.). John Wiley & Sons, Inc., New York, New York.
3. Percival, A.E., J.F. Wendel and J.M. Stewart. 1999. Taxonomy and germplasm resources. Pages 33-63 in Cotton: Origin, History, Technology, and Production. W.C. Smith and J.T. Cothren (eds.). John Wiley & Sons, Inc., New York, New York.
4. Berberich, S.A., J.E. Ream, T.L. Jackson, R. Wood, R. Stipanovic, P. Harvey, S. Patzer and R.L. Fuchs. 1996. The composition of insect-protected cottonseed is equivalent to that of conventional cottonseed. Journal of Agricultural and Food Chemistry 44:365-371.
5. Phelps, R.A., F.S. Shenstone, A.R. Kemmerer and R.J. Evans. 1965. A review of cyclopropenoid compounds: Biological effects of some derivatives. Poultry Science 44:358-394.
6. Cherry, J.P. 1983. Cottonseed oil. Journal of the American Oil Chemists' Society 60:360-367.
7. NCPA. 2002. Cottonseed and its products. National Cottonseed Products Association, Cordova, Tennessee. http://www.cottonseed.com/publications/cottonseed_anditsproducts.asp [Accessed October 17, 2011].
8. AOCS. 2009. Cellulose yield pressure-cook method. Method Bb 3-47, American Oil Chemists' Society, Champaign, Illinois.
9. Koch, R.L., E.C. Burkness, W.D. Hutchison and T.L. Rabaey. 2005. Efficacy of systemic insecticide seed treatments for protection of early-growth-stage snap beans from bean leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) foliar feeding. Crop Protection 24:734-742.
10. Hammond, B., J. Kough, C. Herouet-Guicheney and J.M. Jez. 2013. Toxicological evaluation of proteins introduced into food crops. Critical Reviews in Toxicology 43:25-42.
11. U.S. EPA. 1988. Guidance for the reregistration of pesticide products containing *Bacillus thuringiensis* as the active ingredient. 540/RS-89-023. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
12. OECD. 2010. Section 1. Cotton (*Gossypium* spp.). Safety Assessment of Transgenic Organisms. Volume 4. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
13. Molecular Characterization of Insect Protected Cotton MON88702(개발사, '17)
14. 유전자 삽입부위의 수, 복수세대에서 안정성 등을 확인하기 위한 Southern blot 자료(개발사, '19)

15. Bioinformatics Evaluation of the Transfer DNA Insert in MON 88702 Utilizing the AD_2017, TOX_2017, and PRT_2017 Databases(개발사, '17)
16. Bioinformatics Evaluation of the DNA Sequences Flanking the 5' and 3' Junctions of the MON 88702 Insert: Assessment of Putative Polypeptides Utilizing the AD_2017, TOX_2017, and PRT_2017 Databases(개발사, '17)
17. Anderson, H.M., D.J. Bowen, C.A. Chay, S. Flasiński, U.R. Kesanapalli, J.S. Milligan, R.N. Slightom and Y. Yin. 2015. Pesticidal toxin active against Coleopteran and/or Hemipteran insects. Patent 20150047076, U.S. Patent Office, Washington, D.C.
18. Salomon, S. and H. Puchta. 1998. Capture of genomic and T-DNA sequences during double-strand break repair in somatic plant cells. EMBO Journal 17:6086-6095.
19. Assessment of Cry51Aa2.834_16 protein levels in cotton tissues collected from MON88702 produced in United states field trials during 2015(개발사, '16)
20. Characterization of the Cry51Aa2.834_16 Protein Purified from the Cotton Seed of MON 88702 and Comparison of the Physicochemical and Functional Properties of the Plant Produced and Bt Produced Cry51Aa2.834_16 Proteins(개발사, '16)
21. Bachman, P.M., A. Ahmad, J.E. Ahrens, W. Akbar, J.A. Baum, S. Brown, T.L. Clark, J.M. Fridley, A. Gowda, J.T. Greenplate, P.D. Jensen, G.M. Mueller, M.L. Odegaard, J. Tan, J.P. Uffman and S.L. Levine. 2017. Characterization of the activity spectrum of MON 88702 and the plant-incorporated protectant Cry51Aa2.834_16. PLoS ONE 12:e0169409.
22. Characterization of the Cry51Aa2.834_16 Protein Purified from the Cotton Seed of MON 88702 and Comparison of the Physicochemical and Functional Properties of the Plant Produced and Bt Produced Cry51Aa2.834_16 Proteins(개발사, '16)
23. Assessment of Cry51Aa2.834_16 Protein Levels in Cotton Tissues Collected from MON 88702 Produced in United States Field Trials During 2015(개발사, '16)
24. Hammond, B. 2004. A review of the food/feed safety and benefits of *Bacillus thuringiensis* protein containing insect-protected crops. Pages 103-123 in ACS Symposium, American Chemical Society, Washington, D.C.
25. Bioinformatics Evaluation of the mCry51Aa2 Protein in MON 88702 Utilizing the AD_2017, TOX_2017, and PRT_2017 Databases(개발사, '17)
26. Assessment of the in vitro Digestibility of Cry51Aa2.834_16 Protein by Pepsin and Pancreatin(개발사, '17)
27. The Effect of Heat Treatment on the Functional Activity of Cry51Aa2.834_16 Protein(개발사, '174)
28. An Acute Oral Gavage Toxicity Study of *Bacillus thuringiensis* (Bt)-produced Cry51Aa2.834_16 Protein in CD-1 Mice(개발사, '17)
29. 한국농촌경제연구원, '16년 식품수급표(<https://www.krei.re.kr>)

30. 한국보건산업진흥원, '17년 국민건강영양조사(<https://knhanes.kdca.go.kr>)
31. Compositional Analyses of Cottonseed from MON 88702 Grown in the United States During the 2015 Season(개발사, '17)
32. Determination of Tolerance Intervals from Compositional Analyses of Seed Collected from Conventional Cotton Varieties (개발사, '17)
33. Evaluation of Cottonseed Meal from MON 88702 as a Feed Ingredient for Channel Catfish(개발사, '17)

[첨부] 영양성분 분석자료

1. 단백질 및 아미노산

성분(% dw) ¹	MON 88702 평균(S.E.) ² 범위	대조군 평균(S.E.) 범위	대조군 범위값 ³	차이(MON 88702 - 대조군)		
				평균 (S.E.)	p-Value	% 상대크기 ⁴
Protein	24.09 (0.63) 21.55 - 26.87	24.67 (0.63) 22.67 - 27.39	4.72	-0.59 (0.19)	0.038	-2.39
Alanine	0.88 (0.024) 0.79 - 0.95	0.88 (0.024) 0.78 - 1.01	0.23	-0.0012 (0.026)	0.965	-0.14
Arginine	2.58 (0.11) 2.07 - 3.07	2.69 (0.11) 2.36 - 3.24	0.88	-0.11 (0.081)	0.245	-4.12
Aspartic acid	2.08 (0.076) 1.73 - 2.27	2.15 (0.076) 1.89 - 2.49	0.59	-0.065 (0.072)	0.417	-3.03
Cystine	0.50 (0.019) 0.36 - 0.58	0.50 (0.019) 0.40 - 0.61	0.21	0.0045 (0.013)	0.733	0.90
Glutamic acid	4.67 (0.20) 3.78 - 5.13	4.82 (0.20) 3.94 - 5.47	1.53	-0.14 (0.16)	0.414	-2.97
Glycine	0.95 (0.028) 0.78 - 1.07	0.95 (0.028) 0.85 - 1.13	0.27	-0.0061 (0.032)	0.857	-0.64
Histidine	0.67 (0.020) 0.58 - 0.79	0.68 (0.020) 0.60 - 0.81	0.21	-0.0064 (0.017)	0.727	-0.95
Isoleucine	0.74 (0.023) 0.63 - 0.81	0.76 (0.023) 0.66 - 0.88	0.21	-0.015 (0.018)	0.453	-1.96
Leucine	1.41 (0.043) 1.25 - 1.53	1.43 (0.043) 1.27 - 1.64	0.37	-0.024 (0.034)	0.522	-1.65
Lysine	1.12 (0.031) 1.00 - 1.21	1.14 (0.031) 0.98 - 1.26	0.27	-0.016 (0.030)	0.624	-1.40
Methionine	0.36 (0.013) 0.28 - 0.41	0.36 (0.013) 0.31 - 0.42	0.12	-0.0037 (0.0072)	0.607	-1.03
Phenylalanine	1.31 (0.048) 1.06 - 1.46	1.34 (0.048) 1.16 - 1.68	0.51	-0.035 (0.034)	0.363	-2.61
Proline	0.87 (0.028) 0.76 - 0.93	0.88 (0.028) 0.77 - 1.01	0.23	-0.012 (0.023)	0.623	-1.38
Serine	0.92 (0.037) 0.66 - 1.35	0.91 (0.037) 0.75 - 1.16	0.41	0.011 (0.045)	0.818	1.21
Threonine	0.78 (0.020) 0.66 - 0.83	0.78 (0.020) 0.71 - 0.88	0.18	-0.00066 (0.019)	0.974	-0.085
Tryptophan	0.27 (0.0079) 0.23 - 0.29	0.27 (0.0079) 0.22 - 0.30	0.086	-0.00028 (0.0044)	0.949	-0.11
Tyrosine	0.47 (0.018) 0.40 - 0.52	0.48 (0.018) 0.38 - 0.61	0.22	-0.0053 (0.019)	0.790	-1.10
Valine	1.03 (0.031) 0.88 - 1.13	1.05 (0.031) 0.92 - 1.21	0.29	-0.018 (0.026)	0.529	-1.69

¹dw=건조중량

²평균(S.E.)= 최소제곱평균(표준오차)

³대조군 면화품종의 최대값에서 최소값을 뺀 값

⁴MON 88702와 대조군 간 평균값차의 상대크기로, 대조군의 백분율로 표시함

2. 총 지방 및 지방산

성분	MON 88702 평균(S.E.) ¹ 범위	대조군 평균(S.E.) 범위	대조군 범위값 ²	차이(MON 88702 - 대조군)	
				평균 (S.E.)	p-Value
Total fat (% dw) ³	19.54 (1.64) 12.31 - 23.71	18.89 (1.64) 11.90 - 22.33	10.43	0.64 (0.30)	0.097
14:0 Myristic acid (% Total FA)	0.57 (0.047) 0.44 - 0.67	0.71 (0.047) 0.55 - 0.88	0.33	-0.14 (0.015)	<.001
16:0 Palmitic acid (% Total FA)	19.21 (0.60) 17.21 - 20.43	20.78 (0.60) 18.71 - 22.25	3.54	-1.57 (0.15)	<.001
16:1 Palmitoleic acid (% Total FA)	0.55 (0.018) 0.47 - 0.65	0.53 (0.018) 0.47 - 0.60	0.13	0.027 (0.0096)	0.050
18:0 Stearic acid (% Total FA)	2.66 (0.15) 2.14 - 2.98	2.50 (0.15) 2.03 - 2.82	0.79	0.16 (0.025)	0.003
18:1 Oleic acid (% Total FA)	18.45 (1.16) 14.74 - 22.92	17.34 (1.16) 14.37 - 20.60	6.23	1.11 (0.29)	0.020
18:2 Linoleic acid (% Total FA)	56.60 (1.90) 50.74 - 62.92	56.13 (1.90) 51.25 - 61.83	10.58	0.47 (0.26)	0.141
18:3 Linolenic acid (% Total FA)	0.22 (0.0094) 0.19 - 0.26	0.22 (0.0094) 0.19 - 0.27	0.079	0.0021 (0.0021)	0.326

¹평균(S.E.) = 최소제곱평균(표준오차)

²대조군 면화품종의 최대값에서 최소값을 뺀 값

³FA=지방산

3. 탄수화물 및 섬유소

성분(% dw) ¹	MON 88702 평균(S.E.) ² 범위	대조군 평균(S.E.) 범위	대조군 범위값 ³	차이(MON 88702 - 대조군)	
				평균 (S.E.)	p-Value
Carbohydrates by calculation	52.22 (1.51) 49.04 - 60.26	52.33 (1.51) 49.51 - 59.91	10.40	-0.11 (0.23)	0.635
ADF	35.40 (0.55) 32.95 - 37.80	34.75 (0.55) 31.87 - 38.52	6.65	0.65 (0.59)	0.334
NDF	43.03 (0.90) 40.00 - 46.41	42.56 (0.90) 38.79 - 48.02	9.23	0.47 (0.36)	0.195
TDF	40.95 (1.69) 26.61 - 48.33	40.05 (1.69) 28.02 - 47.25	19.24	0.91 (1.34)	0.501

¹dw=건조중량

²평균(S.E.) = 최소제곱평균(표준오차)

³대조군 면화품종의 최대값에서 최소값을 뺀 값

4. 회분 및 무기질

성분(% dw) ¹	MON 88702 평균(S.E.) ² 범위	대조군 평균(S.E.) 범위	대조군 범위값 ³	차이(MON 88702 - 대조군)	
				평균 (S.E.)	p-Value
Ash	4.17 (0.18) 3.55 - 4.62	4.11 (0.18) 3.47 - 4.56	1.09	0.055 (0.021)	0.061
Calcium	0.13 (0.0047) 0.11 - 0.15	0.11 (0.0047) 0.099 - 0.13	0.034	0.011 (0.0039)	0.049
Phosphorus	0.66 (0.046) 0.46 - 0.79	0.63 (0.046) 0.45 - 0.77	0.31	0.029 (0.018)	0.178
Magnesium (% dw)	0.37 (0.017) 0.29 - 0.42	0.38 (0.017) 0.30 - 0.43	0.13	-0.0079 (0.0058)	0.240
Manganese (mg/kg dw)	12.35 (0.57) 10.35 - 14.71	13.25 (0.57) 11.24 - 15.48	4.24	-0.89 (0.37)	0.071
Potassium (% dw)	1.17 (0.048) 1.00 - 1.37	1.10 (0.048) 0.94 - 1.31	0.37	0.068 (0.027)	0.065
Zinc (mg/kg dw)	35.40 (1.18) 31.22 - 41.92	34.53 (1.18) 28.94 - 40.15	11.21	0.87 (0.55)	0.134

¹dw=건조중량

²평균 (S.E.) = 최소제곱평균 (표준오차)

³대조군 변화품종의 최대값에서 최소값을 뺀 값

5. 비타민

성분(mg/kg dw) ¹	MON 88702 평균(S.E.) ² 범위	대조군 평균(S.E.) 범위	대조군 범위값 ³	차이(MON 88702 - 대조군)	
				평균 (S.E.)	p-Value
Vitamin E	122.94 (8.09) 98.60 - 159.97	120.26 (8.09) 100.96 - 149.01	48.05	2.68 (1.50)	0.090

¹dw=건조중량

²평균 (S.E.) = 최소제곱평균 (표준오차)

³대조군 변화품종의 최대값에서 최소값을 뺀 값

6. 항영양소

성분	MON 88702 평균(S.E.) ¹ 범위	대조군 평균(S.E.) 범위	대조군 범위값 ²	차이(MON 88702 - 대조군)	
				평균 (S.E.)	p-Value
Total gossypol (% dw) ³	1.01 (0.12) 0.55 - 1.44	1.01 (0.12) 0.59 - 1.46	0.87	-0.0064 (0.032)	0.852
Free gossypol (% dw)	0.62 (0.093) 0.26 - 0.93	0.61 (0.093) 0.23 - 0.89	0.66	0.0074 (0.014)	0.614
Malvalic acid (% Total FA) ⁴	0.52 (0.046) 0.41 - 0.73	0.55 (0.046) 0.38 - 0.74	0.36	-0.034 (0.025)	0.246
Sterculic acid (% Total FA)	0.24 (0.015) 0.19 - 0.29	0.24 (0.015) 0.20 - 0.31	0.10	0.00063 (0.0058)	0.919
Dihydrosterculic acid (% Total FA)	0.38 (0.038) 0.30 - 0.54	0.37 (0.038) 0.31 - 0.56	0.25	0.0068 (0.0078)	0.437

¹평균(S.E.) = 최소제곱평균(표준오차)

²대조군 면화품종의 최대값에서 최소값을 뺀 값

³dw = 건조중량

⁴FA = 지방산