

유전자변형 면화 DAS-81910-7 안전성 심사 결과 보고서

2016. 8. 2.



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	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	5
가. 형질전환과정에 대한 정보	5
나. 도입 유전자에 대한 정보	6
5. 유전자변형농축수산물의 특성	7
가. 유전자변형농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보	7
나. 유전자산물에 관한 정보	10
다. 독성	11
라. 알레르기성	12
마. 숙주와의 차이	13
바. 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향	16
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	17
[붙임] 영양성분 분석 자료	18

유전자변형 면화 DAS-81910-7

안전성 심사 결과 보고서

□ 요약

다우아그로사이언시스 인터내셔널리미티드는 제초제 내성 면화 DAS-81910-7에 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.

DAS-81910-7은 *aad-12* 및 *pat* 유전자가 도입된 것으로 2,4-D(2,4-dichlorophenoxyacetic acid)와 글루포시네이트(glufosinate)에 대해 내성을 가진다.

DAS-81910-7에는 각 한 개의 *aad-12* 및 *pat* 유전자가 도입되었으며, Southern blot을 통해 5세대에 걸쳐 안정적으로 유지되는 것이 확인되었다.

기존에 알려진 독소와의 유사성을 알아보기 위해 Genebank와 RefSeq nucleotide translation의 모든 엔트리를 포함하고 SWISS PROT, PIR, PRF, PDB의 단백질 서열을 포함하고 있는 non-redundant protein dataset(2012)를 이용하여 AAD-12 및 PAT 단백질의 아미노산 서열을 생물정보학적으로 비교 분석한 결과, 서열 상동성이 없는 것으로 확인되었다. 또한, AAD-12 및 PAT 단백질에 대한 마우스 단회투여독성 평가 자료를 검토한 결과, 독성이 없는 것으로 확인되었다.

기존에 알려진 알레르겐과의 유사성을 알아보기 위해 FARRP(2013)과 bioinformatics tool을 활용하여 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.

DAS-81910-7과 기존 면화의 주요영양성분, 미량영양성분, 항영양소 등의 함량을 비교한 결과, 생물학적 차이가 없었다. 육계를 대상으로 DAS-81910-7 면싹을 42일 동안 급이한 결과, 기존 면화와 영양성에 차이가 없는 것이 확인되었다.

결론적으로 DAS-81910-7 면화는 지금까지 식품으로 섭취해온 면화와 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

□ 심사경위

- 다우아그로사이언시스 인터내셔널리미티드는 제초제 내성 면화 DAS-81910-7에 대해 식품위생법 제18조에 따른 안전성 심사를 받기 위하여 2014년 12월 22일 식품의약품안전처에 심사규정에 따른 관련 자료를 첨부하여 심사를 신청하였다.
- 이에 식품의약품안전처장은 본 품목이 심사규정에 따라 안전성 평가가 이루어졌는지 여부에 대하여 심사위원회에 심사 의뢰하고,
- 심사위원회는 신청인이 제출한 자료에 근거하여 다음과 같이 심사규정에 따라 안전성 평가가 이루어졌는지 여부를 확인하였다.

□ 심사결과

○ 심사대상품목

대상품목	신청자	개발자	제외국의 안전성 승인 현황
유전자변형 면화 DAS-81910-7	다우아그로 사이언시스 인터내셔널리미티드	Dow AgroSciences LLC	미국(2014), 호주/뉴질랜드(2014), 캐나다(2015), 일본(2015)

○ 심사경과

- 2014년 12월 22일 : 안전성 심사 신청
- 2015년 3월 17일 : 1차 심사위원회 개최
- 2015년 4월 23일 : 2차 심사위원회 개최
- 2015년 5월 19일 : 3차 심사위원회 개최
- 2016년 2월 16일 : 4차 심사위원회 개최
- 2016년 5월 17일 : 5차 심사위원회 개최
- 2016년 6월 21일 : 6차 심사위원회 개최

□ 심사방법

- 본 품목과 관련하여 심사 신청된 유전자변형농축수산물이 심사규정의 적용대상 인지를 검토하였고,
- 제출된 안전성 평가 자료가 심사규정에서 요구하는 자료를 갖추었는지를 확인한 후 자료의 내용을 토대로 안전성 평가 자료를 심사하였다.

□ 심사 신청 자료 검토

- 심사 신청된 식품의 개요
 - 다우아그로사이언시스 인터내셔널리미티드에서 심사 신청한 면화 DAS-81910-7는 *aad-12* 및 *pat* 유전자가 도입된 것으로 2,4-D(2,4-dichlorophenoxyacetic acid)와 글루포시네이트(glufosinate)에 대해 내성을 가진다.
- 식품으로의 적합성 검토
 - 본 품목과 관련하여 제출된 안전성 평가 자료가 심사규정 제12조에서 요구하는 자료를 만족시키는지 여부를 검토하였으며,
 - 자료의 내용을 토대로 다음과 같이 식품으로의 안전성이 확보되어 있는지를 심사하였다.

1. 유전자변형농축수산물의 개발목적 및 이용방법

- 다우아그로사이언시스 인터내셔널리미티드가 심사 신청한 유전자변형 면화 DAS-81910-7은 *aad-12* 및 *pat* 유전자를 가져 2,4-D(2,4-dichlorophenoxyacetic acid)와 글루포시네이트(glufosinate)에 대해 내성을 가진다.
- 재배방법 및 이용방법은 기존의 면화와 동일하다.

2. 속주

가. 분류학적 특성

- 과명(Family) : Malvaceae
- 속명(Genus) : *Gossypium*
- 종명(Species) : *hirsutum*
- 일반명(Common Name) : 면화, 목화

나. 재배·사육 및 품종개량의 역사

- *Gossypium* 속은 전세계적으로 50여 종이 존재하고 있으나, 가장 널리 경작되고 있는 종은 *G. hirsutum* 이다. 면화는 원래 다년생 식물이지만 일부 지역에서 선택적 품종개량을 통해 일년생 작물로 육성되었다.
- 면화는 오랜 이용 역사를 가지는 주요 섬유 작물 중 하나로서, B.C. 3,000년경 파키스탄 인더스 강 계곡에서 경작한 면화로부터 실을 뽑아 천을 제작하였다는 기록이 남아있다.

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

- 면화는 독성 물질인 고시폴(gossypol)과 싸이클로프로페노이드 지방산(cyclopropenoid fatty acid, CPFA)을 생산한다. 이 물질은 면실유 가공 중 정제, 탈취, 수소화 등을 통해 대부분 제거되거나 불활성화 된다(OECD, 2009). 최종적으로 면실유에는 단백질이 존재하지 않으며(OECD, 2009), 사람의 면실유 섭취로 인한 알레르기 반응 및 병원성 외래인자와 관련성은 보고된 바가 없다.

라. 안전한 식경험의 유무

- 면실은 식용이나 사료용으로 이용되는데 주로 면실유, 면실박, 면실피, 린터로 가공되며 면실로부터 추출된 면실유와 린터만 식용으로 사용되고, 나머지 부산물은 가축의 사료로 이용된다. 면실유는 주로 샐러드유, 제빵, 튀김용 등으로 사용되며, 일부 아이스크림이나 샐러드드레싱의 점성도를 높이는 용도로 사용되기도 한다.

3. 공여체

가. 분류학적 특성

1) *aad-12*

- 계(Kingdom) : Bacteria
- 문(Phylum) : Proteobacteria
- 강(Class) : Beta Proteobacteria
- 목(Order) : Burkholderiales
- 과(Family) : Comamonadaceae
- 속(Genus) : *Delftia*
- 종(Species) : *Delftia acidovorans*

2) *pat*

- 계(Kingdom) : Bacteria
- 문(Phylum) : Actinobacteria
- 강(Class) : Actinobacteria
- 목(Order) : Actinomycetales
- 과(Family) : Streptomycetadaceae
- 속(Genus) : *Streptomyces*
- 종(Species) : *Streptomyces viridochromogenes*

나. 안전한 식경험의 유무, 식품용 이외의 노출 경로

- *aad-12* 유전자가 유래된 *Delftia acidovorans*의 직접 섭취 경험은 보고된 바가 없으나, 페룰산을 바닐린 및 향 관련 대사물질로 변화시키는 등 식품 가공에 안전하게 사용된 이력이 있다(Toms 등, 1970; Rao 등, 2000; Shetty 등, 2006)
- *pat* 유전자가 유래된 *Streptomyces viridochromogenes*는 이미 *pat* 유전자의 공여 생물체로 유전자변형 작물에 수차례 사용되었으며, 한국을 포함한 여러 국가에서 유전자변형 작물의 공여체로 안전성 평가를 마쳤다(OECD, 1999)

다. 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성

- 공여체인 *Delftia acidovorans* 및 *Streptomyces viridochromogenes*가 유독물질이나 항영양성분, 알레르기를 일으키는 물질을 생산한다는 보고는 없다.

4. 유전자변형

가. 형질전환 과정에 대한 정보

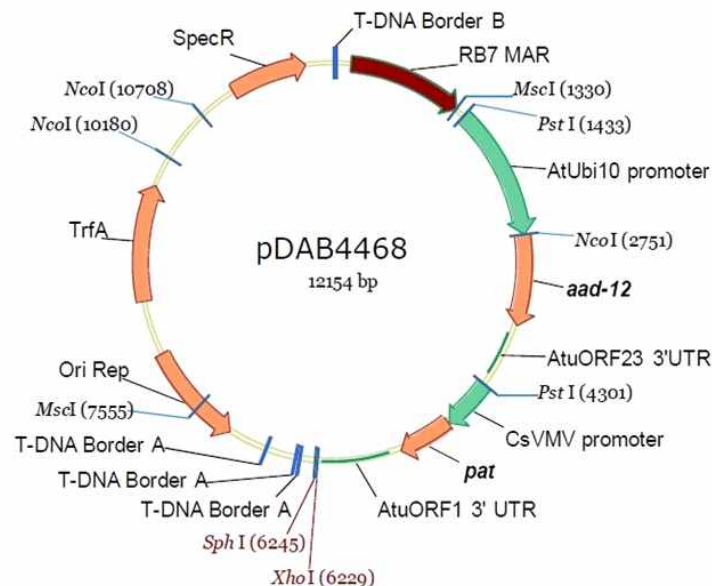
1) 형질전환 방법

- 아그로박테리움 매개 형질전환법을 사용하였다.
- 병원성이 제거된 *A. tumefaciens* LBA4404에 운반체인 pDAB4468을 이용하여 형질전환에 사용하였다. 숙주인 면화 종자를 받아시킨 후 배축(hypocotyls) 절편을 분리하여 pDAB4468을 가지고 있는 *A. tumefaciens*로 감염시켰다. 이후 배축 절편을 아그로박테리움과 형질전환되지 않은 세포의 성장을 억제하기 위해 각각 카르베니실린과 글루포시네이트를 함유하고 있는 배지에서 배양하여 선별한다. 선별된 형질전환체에 대해 목표유전자(*aad-12*, *pat*) 특이적인 PCR 분석을 실시하여 두 유전자를 모두 가진 형질전환 조직으로부터 뿌리와 줄기를 분화시켜 식물체를 선별하였다.

2) 벡터에 대한 정보

가) 기원

- 형질전환에는 pDAB4468 플라스미드 벡터를 사용하였으며, 이는 이미 승인 받은 유전자변형 콩 DAS-68416-4에서도 동일하게 사용되었다.



< 플라스미드 벡터 pDAB4468 >

나) 숙주에서의 확인

- pDAB4468은 크기가 12,154bp이고, T-DNA border A와 B를 양끝으로 하는 한 개의 T-DNA를 포함하고 있다. 형질전환 과정 중 실제 면화에 삽입되는 T-DNA는 6,794bp이다.

- T-DNA 외부에 존재하는 pDAB4468 골격부위에는 세균 내에서 플라스미드 벡터가 유지될 수 있도록 하는 두 개의 복제원점(ori Rep과 TrfA)과 선발 표지유전자로 항생제 스펙티노마이신 저항성 유전자 SpecR이 존재한다. 하지만 최종적으로 유전자변형 면화에는 pDAB4468의 T-DNA 부위만 삽입된다.

다) 숙주에서의 기능

- pDAB4468은 *E.coli*와 중간 숙주인 *A. tumefaciens*에서만 증식될 수 있는 바이너리 벡터(binary vector)로 숙주인 면화 내에서 독립적으로 증식할 수 없으며 T-DNA를 면화 식물체에 도입시키는 기능을 제외한 다른 기능은 없다.

라) 제한효소 절단 지도

- 4. 가. 2) 가)에 제시되었다.

마) 유해염기 서열 유무

- 유해염기서열은 존재하지 않는 것으로 나타났다.

바) 전달성에 관한 정보

- 벡터 플라스미드 pDAB4468은 전달성과 관련된 유전자를 포함하고 있지 않으므로 숙주 외의 다른 생물체로 스스로 이동할 수 있는 전달성은 없다.

3) 중간숙주에 대한 정보

- 플라스미드 pDAB4468을 유전자변형 면화로 전달하는데 사용한 중간 숙주는 *Agrobacterium tumefaciens* strain LBA4404로 병원성이 제거된 것이다.

나. 도입유전자에 대한 정보

1) 구성 유전자의 특성, 염기서열, 제한효소 절단지도

가) 선발표지유전자

- 선발표지유전자로 비선택성 제초제 글루포시네이트에 내성을 부여하는 *pat* 유전자를 사용하였다.

나) 조절인자

- 도입유전자의 *aad-12*의 발현은 애기장대(*Arabidopsis thaliana*)에서 유래한 AtUbi10 프로모터에 의해 조절되며, 이것은 상시 프로모터이다. 전사종결인자 AtuORF23 3' UTR은 *Agrobacterium tumefaciens* 플라스미드 pTi15955에서 유래하였다.
- 유전자 *pat*의 발현은 CsVMV(*Cassava vein mosaic virus*) 유래의 CsVMV 프로모터와 *A. tumefaciens* 플라스미드 pTi15955에서 유래한 AtuORF1 3' UTR 전사종결인자에 의해 발현이 조절된다. CsVMV 프로모터는 상시 프로모터이다.

다) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

- *Nicotiana tabacum*에서 유래한 RB7의 matrix attachment region(MAR) 서열이 삽입 부위인 T-DNA 의 5' 말단에 포함되어 있다. MAR 서열은 유전자 발현 카세트의 주변에서 도입유전자의 발현을 증가시키며, gene silencing을 감소시키는 것으로 알려져 있다(Abranches 등, 2005; Han 등, 1997; Verma 등, 2005). 또한 유전자 발현을 불안정하게 하는 이웃한 염색체상의 서열로부터 완충역할을 한다고 보고되어 있다(Allen 등, 1993; Allen 등, 2000).

2) 크기 및 명칭

- 벡터 내 유전적 요소의 크기 및 명칭이 제시되었다.

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 기능이 제시되었다.

5) 유해염기서열의 유무

- 유해염기서열은 존재하지 않는다.

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.
- DNA 표적 서열화를 실시하여 DAS-81910-7 삽입체 인자들의 온전성 및 구성을 평가하였다. PCR을 DNA 염기서열 결정 분석에 이용한 결과, 삽입체 내의 각 유전자는 온전함이 확인되었다.

5. 유전자변형농축수산물의 특성

가. 유전자변형농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보

1) 유전자변형농축수산물의 게놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

- 삽입된 *aad-12*에 의해 293개 아미노산으로 이루어진 분자량 약 32kDa의 AAD-12 단백질이 발현되며 2,4-D에 대한 내성을 가지게 된다. 유전자 *pat*은 183개 아미노산으로 구성된 분자량 약 20kDa의 PAT 단백질이 발현되며 글루포시네이트에 대해 내성을 갖도록 한다.

2) 삽입부위의 수

- *aad-12* 및 *pat*은 단일 사본으로 삽입되었으며, 플라스미드 backbone은 존재하지 않음이 확인되었다.

3) 각 삽입부위의 삽입유전자의 구성

가) 복제수, 염기서열

- Southern 분석 결과, DAS-81910-7 면화에는 *aad-12* 및 *pat*이 단일 사본으로 도입되었음이 확인되었다. 5' 경계부위 1,373bp, 3' 경계부위 1,071bp, 플라스미드 pDAB4468의 삽입 유전자 6,390bp를 분석한 결과 DAS-81910-7 면화에는 RB7 MAR 서열, *aad-12* 및 *pat* 유전자 카세트가 각각 한 카피씩 단일 부위에 온전하게 삽입되어 있었으며, 도입 유전자의 염기 서열은 pDAB4468의 T-DNA 상에 존재하는 개별 유전요소의 염기서열과 동일하였다. 비유전자변형 면화 Coker 310과 유전자변형 면화 DAS-81910-7의 염기서열을 비교한 결과, 형질 전환 과정 중 삽입 부위에서 159bp 염기 서열의 삭제가 일어났다. 따라서 염기 서열의 삭제로 인해 주요 조절 요소 등이 영향을 받았는지 여부를 확인하기 위해 해당 염기 서열에 대해 BLAST 검색 알고리즘을 이용하여 GenBank nucleotide 데이터베이스와 단백질 데이터베이스에 대해 분석을 실시한 결과 대부분이 면화 관련 염기 서열이거나 pDAB4468의 T-DNA 유래 서열로 주요한 코딩 서열이나 조절요소는 검색되지 않아 삽입 유전자의 도입으로 인해 면화의 주요 유전자나 조절 요소가 영향을 받지 않음이 확인되었다.

나) 이미 알려져 있는 독소나 항영양소를 암호화하는 유전자와의 상동성

- 기지의 독성이나 항영양소를 암호화하는 것으로 알려진 유전인자는 DAS-81910-7 면화의 삽입 DNA에 존재하지 않는다.

(1) AAD-12

- AAD-12 단백질의 기존에 알려진 독소와 유사성을 알아보기 위해 Genebank와 RefSeq nucleotide translation의 모든 엔트리를 포함하고 SWISS PROT, PIR, PRF, PDB의 단백질 서열을 포함하고 있는 non-redundant protein dataset(2012)를 이용하여 BLASTp 검색하였으며, 기존의 독소 단백질과 유의한 상동성을 나타내지 않았다.
- AAD-12 단백질의 기존에 알려진 알레르기 유발 물질과의 아미노산 상동성은 CODEX에서 제안된 단계별, weight-of-evidence 접근법을 사용하였다. 최신 버전의 FARRP(2013)과 bioinformatics tool을 활용하여 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 상동성을 나타내지 않았다.

(2) PAT

- PAT 단백질의 기존에 알려진 독소와 유사성을 알아보기 위해 Genebank와 RefSeq nucleotide translation의 모든 엔트리를 포함하고 SWISS PROT, PIR, PRF, PDB의 단백질 서열을 포함하고 있는 non-redundant protein

dataset(2012)를 이용하여 BLASTp 검색하였으며, 기존의 독소 단백질과 유의한 상동성을 나타내지 않았다.

- PAT 단백질의 기존에 알려진 알레르기 유발 물질과의 아미노산 서열 유사성은 FAO/WHO 및 CODEX 권고사항에 따라 유사성 분석을 실시하였다. 1,630개의 알레르겐 정보를 가지고 있는 FARRP Allergen DB(2013)를 이용하여 기존 알레르기 유발물질을 대상으로 80개 이상의 아미노산 서열에서 35% 이상의 상동성을 가지는지 여부와 8개의 연속적인 아미노산이 일치하는지 여부를 검색한 결과, 기존 알레르기 유발 물질과 상동성을 나타내지 않았다.

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

- T-DNA 삽입 부위와 5' 말단과 3' 말단의 경계부위를 포함한 총 8,834 bp 서열에 대해 외래전사해독프레임의 형성 여부를 분석하였다. 시작코돈과 종결 코돈까지 6-frame translation을 검색하여 잠재적인 외래전사해독프레임을 분석하였으며, 얻어진 결과 중 8개 이상의 아미노산 서열로 이루어진 외래전사해독프레임에 대해 생물정보학적 기법을 이용하여 이미 알려진 독소와 알레르겐에 대한 유사성을 분석하였다.
- 분석 결과, 아미노산 26개를 넘지 않는 4개의 잠재적인 외래전사해독프레임이 확인되었다. 검색된 외래전사해독프레임에 대해 FARRP Allergen dataset(2014)으로 유사성을 검색한 결과 8개 이상의 인접한 아미노산이 일치하는 경우가 없었다. 또한 FASTA 프로그램을 이용한 검색에서도 80개 이상의 아미노산 서열에서 35% 이상 상동성을 보이는 결과가 없었으며, GenBank non-redundant protein dataset에 대한 BLASp 검색 결과에서도 E-value<1 조건에서 일치하는 결과가 없었다.

5) 안정성에 관한 사항

가) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

- DAS-81910-7에 존재하는 삽입 DNA의 안정성을 평가하기 위해 5세대에 걸친 Southern blot 분석을 실시한 결과, 5세대에 걸쳐 도입 DNA가 유지되는 것이 확인되었다.

나) 복수 세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- 유전자변형 면화 DAS-81910-7에서 발현되는 AAD-12 및 PAT 단백질의 발현 수준을 복수 세대(3세대) 잎, 뿌리, 면실에 대해 ELISA 방법으로 측정한 결과, AAD-12 단백질의 발현량은 잎에서 30.45~33.11ng/mg, 뿌리에서 20.78~28.02ng/mg, 면실에서 11.53~13.31ng/mg이었다. PAT 단백질의 발현량은 잎에서 6.04~9.54ng/mg, 뿌리에서 2.84~4.02ng/mg, 면실에서 3.61~3.80ng/mg이었다.

나. 유전자산물에 관한 정보

1) 유전자산물의 화학적 성질

- AAD-12 단백질은 293개 아미노산으로 이루어져 있으며 분자량은 32kDa이다. 그람 음성 토양세균인 *Delftia acidovorans*에서 유래하였으며 두 번째 아미노산 서열에 알라닌이 추가된 것을 제외하면 자연계에서 발견되는 AAD-12 아미노산 서열과 99% 이상 동일하다. 제한효소 *Nco*I의 인식 부위 도입 및 발현 증진을 위하여 알라닌이 추가되었다. AAD-12 단백질은 심사가 완료된 유전자변형 콩 DAS-68416-4와 DAS-44406-6에서 발현되는 단백질과 동일하다.
- PAT 단백질은 183개 아미노산으로 구성되어 있고 분자량은 ~20kDa이다. DAS-81910-7에서 발현되는 단백질은 자연계에서 발견되는 PAT 단백질과 아미노산 서열이 동일하며, 심사가 완료된 유전자변형 콩 DAS-68416-4와 DAS-44406-6에서 발현되는 단백질과 동일하다.

2) 유전자산물의 기능

- AAD-12 단백질은 제초제 2,4-D(2,4-dichlorophenoxyacetic acid)를 제초제 활성이 없는 2,4-dichlorophenol(DCP)로 분해하여 2,4-D에 대한 내성을 가지게 한다.
- PAT 단백질은 글루포시네이트의 유효 성분인 phosphinothricin(PPT) L-isomer가 식물체 내의 글루타민 합성효소(glutamine synthetase; GS)를 저해하여 세포 내에 암모니아가 축적되게 하여 광호흡이 중지되게 하고, 결과적으로 식물 세포의 사멸을 가져오게 하는 경로를 차단하여 글루포시네이트에 대한 내성을 가지게 한다.

3) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

- AAD-12 및 PAT 단백질의 번역 후 변이 유무를 확인하기 위해 당화분석이 수행되었으며, DAS-81910-7에서 발현되는 AAD-12 및 PAT 단백질과 미생물 유래 단백질의 아미노산 서열은 서로 동일하였고, 발현된 단백질에서 당화 반응은 일어나지 않아 번역 후 변이가 일어나지 않음이 확인되었다.

4) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- *Pseudomonas fluorescens* 생산 AAD-12 및 PAT 단백질과 DAS-81910-7에서 생산된 단백질의 동등성은 SDS-PAGE, western blot, 당화분석, N-말단 분석, MALDI-TOF MS/MS 질량분석을 통하여 확인하였다. SDS-PAGE 분석결과, 두 단백질 모두 분자량이 32kDa 및 ~20kDa으로 확인되었고, western blot 분석결과, 특히 항체에 면역반응성이 확인되었으며, 당화분석결과, 두 단백질 모두 당화가 일어나지 않은 것이 확인되었고, N-말단과 C-말단의 아미노산 서열을 비교한 결과에서도 두 단백질이 동등함이 확인되었다. MALDI-TOF MS/MS에 의해 식물체 유래 단백질의 아미노산 서열의 88% 및 91.3% 이상을 확인하였다.

5) 새로운 특성의 표현형

- 새롭게 도입된 *aad-12* 및 *pat* 유전자는 2,4-D 및 글루포시네이트에 내성을 나타내며, 제초제 내성을 제외한 다른 부분은 기존 면화와 동등하다.

6) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- DAS-81910-7의 생장단계별 잎, 스퀘어(squares), 다래(bolls), 화분(pollen), 꽃, 식물 전체, 뿌리, 면실 시료의 단백질 수준을 효소면역측정법(ELISA)으로 평가하였다. 시료는 미국 6개 포장시험 장소에서 난괴법에 따라 각각 4개 반복구로부터 수집하였다.
- AAD-12는 잎에서 평균 76.22ng/mg으로 가장 많이 발현되었으며, 면실에서는 19.61ng/mg(제초제 무처리) 및 17.89ng/mg(제초제 처리)이 발현되었다.
- PAT은 잎에서 평균 13.64ng/mg으로 가장 많이 발현되었으며, 면실에서는 3.74ng/mg(제초제 무처리) 및 3.96ng/mg(제초제 처리)이 발현되었다.

다. 독성

1) 유전자산물이 단백질인 경우

가) 발현단백질의 안전한 식경험의 유무

- AAD-12에 대한 직접적인 식경험은 없으나, 공여체인 *Delfitia acidovorans*의 경우 자연계에 널리 분포되어 있으며 이를 이용하여 식품가공에 사용한 예가 있다. DAS-81910-7에서 발현되는 AAD-12 단백질은 국내외에서 승인된 유전자 변형 콩 DAS-68416-4 및 DAS-44406-6에서 발현되는 단백질과 동일하다.
- PAT 단백질의 안전성 관련 평가는 이미 보고되어 있다(OECD, 1999; Herouet 등, 2005). PAT 단백질이 도입된 작물은 대두, 옥수수, 면화 등 8종 식물에 대해 38품목이 승인되어 있으며(CERA-ILSI Research Foundation, 2011) 국내에서도 9품목이 승인되어 있다.

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

- AAD-12 및 PAT 단백질과 독성 및 항영양소와의 서열 유사성을 확인하기 위해 BLASTp 검색결과, 알려진 독소 단백질과 유사성이 없는 것으로 확인되었다.

※ 사용된 데이터베이스는 SWISS-PROT, PIR, PDB의 단백질 서열과 Gene Bank와 RefSeq nucleotide translation의 모든 non-redundant entry를 포함하는 데이터베이스를 사용하였다.

다) 발현단백질의 물리화학적 처리에 대한 감수성

(1) AAD-12

- *P. fluorescens* 유래 생산 AAD-12의 인공위액 및 장액에서의 소화성을 SDS-PAGE 및 western blot 분석을 통해 확인하였다.
 - 인공위액 안정성 : AAD-12 단백질은 인공위액에서 30초 이내에 분해되는 것으로 확인되었다.
 - 인공장액 안정성 : AAD-12 단백질은 인공장액에서 5분 이내에 분해되는 것

으로 확인되었다.

- *P. fluorescens* 유래 생산 AAD-12의 열 안정성 평가 결과 50℃ 이상, 30분 열처리 결과, 기능활성이 100% 손실되었다.

(2) PAT

- *P. fluorescens* 유래 생산 PAT의 인공위액 및 장액에서의 소화성을 SDS-PAGE 및 western blot 분석을 통해 확인하였다.
 - 인공위액 안정성 : PAT 단백질은 인공위액에서 1분 이내에 분해되는 것으로 확인되었다.
 - 인공장액 안정성 : PAT 단백질은 인공장액에서 10분 이내에 분해되는 것으로 확인되었다.
- *P. fluorescens* 유래 생산 PAT의 열 안정성 평가 결과, 55℃ 이상, 30분 열처리 결과 기능활성이 99% 손실되었다.

라) 발현단백질의 단회투여독성

- DAS-81910-7에서 발현되는 AAD-12 및 PAT 단백질을 이용하여 단회투여 독성을 평가하였다.
- CD-1 마우스(암, 수 각 5마리)를 대상으로 AAD-12 및 PAT 단백질을 각각 2,000mg/kg 용량으로 투여하고 2주 동안 관찰한 결과 생존율, 임상 관찰 소견, 체중증가, 사료 섭취량 또는 육안 병리소견에 특이사항은 없었다.

라. 알레르기성

1) 유전자산물이 알레르겐으로 알려져 있는지 여부

- AAD-12 및 PAT 단백질이 사람에게 대해 알레르기를 유발한다는 보고는 없다. *aad-12*의 공여체인 토양 미생물 *Delftia acidovorans*의 경우 직접적인 식경험은 없으나, 자연계에 널리 분포되어 있고 식품 산업에서 많이 이용되고 있다. 또한 심사 완료된 유전자변형 콩 DAS-68416-4와 DAS-44406-6에서 발현되는 단백질과 동일하다. *pat*의 공여체인 *Streptomyces viridochromogenes*의 병원성, 알레르기 유발성에 대한 보고는 없다. PAT 단백질이 도입된 유전자변형 작물은 콩, 옥수수, 면화 등을 포함하여 11개 국가에서 8종의 식물에 대해 38품목이 승인되어 있으며 국내에서 승인된 유전자변형 콩 DAS-68416-4와 DAS-44406-6, 옥수수 TC1507, DAS-59122-7, 면화 281/3006에도 동일하게 삽입되어 있다.

2) 유전자산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- AAD-12 및 PAT 단백질은 인공위액, 인공장액에서 쉽게 소화되며, 당화 반응을 일으키지 않고, 열처리할 경우 기능 활성이 손실되므로 이 단백질을 섭취하는 사람의 소화에 영향을 미칠 가능성이 매우 낮은 것이다.

3) 유전자산물 중 이미 알려져 있는 알레르겐과의 상동성

- AAD-12 및 PAT 펩티드 내 80개의 연속적인 아미노산과 알레르겐과의 상동성을 비교하기 위하여 데이터베이스(FARRP, 2014)를 이용하여 생물정보학적

분석이 수행되었으며, 유의적인 상동성이 발견되지 않았다. 또한, AAD-12 및 PAT 단백질과 8개의 연속 아미노산의 서열간 유사성을 분석한 결과, 알려진 알레르겐과 구조적 상동성을 나타내지 않았다.

4) 유전자산물이 1일 단백질섭취량의 유의한 양을 차지하고 있는지 여부

- 식용으로 사용되는 면화 부위는 면실뿐이며, 면실은 대부분의 상업종이 항영양 물질인 고시폴과 싸이클로프로파노이드 지방산을 함유하고 있어 직접 섭취하지 않는다. 면실은 주로 정제된 면실유 형태로 가공되며 정제된 면실유에는 단백질이 검출되지 않는다(OECD, 2009).
- 식품수급표 2011년(한국농촌경제연구원, 2012)의 자료를 통해 1인 1일 단백질 섭취량 및 면실유 공급량을 조사한 결과 평균 단백질 공급량은 102.1g 및 면실유 섭취량은 0.01g 이었다.
- DAS-81910-7에서 발견되는 AAD-12 및 PAT 단백질의 평균 발현량은 18.74ng/mg dw 및 3.85ng/mg dw이다. 식품수급표의 면실유 1일 공급량 0.01g을 유전자변형 면화 DAS-81910-7로 대체한다고 가정할 경우, 1인 AAD-12 단백질 섭취량은 187.4ng 이고 PAT 단백질 섭취량은 38.5ng으로 각각 단백질 1일 공급량의 $1.84 \times 10^{-7}\%$ 및 $3.8 \times 10^{-8}\%$ 수준이다. 더구나 면실유의 영양소 구성에서 단백질 비율이 0%이고 지방이 100%(한국농촌경제연구원, 2012년)인 것을 고려할 경우 AAD-12 및 PAT 단백질을 사람이 섭취하는 경우는 없다고 판단된다.

마. 숙주와의 차이

- 2012년 미국 내 8개 포장에서, 시험장소당 4개 반복시험구를 난괴법으로 배열하여 재배하였으며, 유전자변형 면화(제초제 처리구 및 미처리구), 근동질계 비유전자변형 대조군, 비유전자변형 참조군 면화 6종을 동시 재배하여 시료로 사용하였다.
- 면화의 성분 특성은 OECD 고려사항에 따라 주요영양성분, 섬유소(9종), 미네랄(12종), 아미노산(18종), 지방산(22종), 비타민(7종), 항영양소(5종)으로 총 73개의 성분에 대해 분석하였다. 통합 지역 성분 분석 결과는 mixed model(SAS Institute Inc., 2009)을 이용하여 ANOVA 분석을 실시하였다. F-검정으로 전체 처리효과의 유의성을 평가하였으며, 95% 신뢰 구간에서 유의성을 검증하였고 결과의 50% 이상에서 LOQ 미만 값을 보인 14개 성분은 통계분석에서 제외하여 총 59개의 성분에 대해 통합지역 결과 분석을 실시하였다.

1) 주요영양성분

(가) 일반성분

- 수분, 단백질, 지방, 탄수화물, 회분, 총식이섬유, 조섬유, NDF, ADF 등 총 9가지 성분에 대해 분석하였다. 그 중 회분, 탄수화물, 단백질 성분에서 유의차가 있었으나, 평균값이 참조범위와 문헌범위 내에 포함되어 생물학적으로는 유의차가 없었다.

(나) 아미노산

- 18개 아미노산 성분을 분석한 결과, 아르기닌에서 유의적인 차이가 있었으나 분석치의 평균값이 참조범위와 문헌범위 내에 포함되어 생물학적으로 유의차가 없었다.

(다) 지방산

- 22개 지방산 성분을 분석한 결과 13개 성분(8:0 카프릴릭산, 10:0 카프르산, 12:0 라우르산, 14:1 미리스트올레산, 15:0 펜타데칸산, 15:1 Pentadecenoic, 17:0 헵타데칸산, 17:1 Heptadecenoic, 18:3 γ -리놀렌산, 20:1 Eicosenoic, 20:2 이코사디엔산, 20:3 에이코사트리엔산, 20:4 아라키돈산)은 정량한계 미만으로 분석에서 제외하였다. 14:0 미리스트산, 16:1 팔미톨레산, 18:1 올레산, 18:2 리놀레산 등 4개 성분에서 유의적인 차이가 있었으나, 분석치의 평균값이 참조범위와 문헌범위 내에 포함되어 생물학적으로 차이가 없었다.

2) 미량영양성분

(가) 무기질

- 12개 성분에 대해 분석한 결과, 칼슘, 구리, 망간에서 유의적인 차이가 있었으나 분석치의 평균값이 참조범위와 문헌범위 내에 포함되어 생물학적으로 차이가 없었다.

(나) 비타민

- 7개 성분에 대해 분석한 결과, 비타민 A의 경우 정량한계 미만으로 분석에서 제외하였고, 나머지 6개 성분에 대해서는 유의적인 차이가 없어 생물학적으로 차이가 없었다.

3) 내재성독소

- 면실에는 고시폴과 싸이클로프로파노이드지방산(CPFAs)이 자연 독성 물질로 존재하는데 면실유 가공 과정에서 대부분 제거된다(OECD, 2009).

4) 항영양소

- 충고시폴과 유리고시폴, 디하이드로스테르쿨린산, 스테르쿨린산, 말발산 등 항영양소에 대한 성분 분석결과, 말발산, 유리고시폴, 충고시폴에서 유의적인 차이가 있었으나, 분석치의 평균값이 참조범위와 문헌범위 내에 포함되어 생물학적으로 차이가 없었다.

5) 알레르기 유발성분

- 면화에서 유래된 알레르기 유발성분은 알려져 있지 않다.

6) 삽입된 유전자산물의 대사산물

- AAD-12 단백질은 제초제 2,4-D를 제초제 활성이 없는 DCP로 분해함으로써 2,4-D 에 대한 내성을 부여한다. DCP는 식물에서 제초제 2,4-D의 주요 분해산물이다(Roberts, 1998). 미국 EPA는 제초제 2,4-D 에 대한 식물 잔류정의에

DCP를 포함시키지 않고 있지만, 가축의 육류와 우유(livestock meat and milk)에서는 포함된 적이 있다. 그런데, 2004년 미국 EPA의 Health Effects Division(HED) Metabolism Assessment Review Committee(MARC)에서는 DCP를 가축의 육류의 잔류정의에서 제외할 것을 권고하였다. MARC 위원회는 DCP는 가축의 조직이나 독성을 고려했을 때 안전하다고 판단하였다(EPA, 2003). 이는 Codex, 일본 및 유럽의 잔류정의에 DCP를 포함시키지 않는 국제적인 기준과도 부합된다. 유전자변형 면화 DAS-81910-7에서 발현되는 AAD-12 단백질은 심사가 완료된 유전자변형 콩 DAS-68416-4와 DAS-44406-6에서 발현되는 AAD-12 단백질과 동일하다.

- 유전자변형 면화 DAS-81910-7에서 발현되는 PAT 단백질은 기존의 유전자변형 작물들에 도입되어 이용된 PAT과 동일한 단백질이며, 비선택성 제초제인 glufosinate ammonium을 아세틸화시켜 활성이 없는 형태로 변환하는 것으로 알려져 있다(OECD, 1999). PPT(phosphinothricin)의 L-isomer는 식물에서 GS(glutamine synthetase)를 억제하는 단백질(potent inhibitor)로 비선택성 제초제(non-selective herbicide; 글루포시네이트는 PPT의 합성형태)로 사용되고 있다(OECD, 1999). PPT에 의한 GS의 억제는 세포내 암모니아의 빠른 축적을 가져와 광호흡(photorespiration)이 중단되어 결국 식물세포가 죽게 된다(Duan 등, 2009). PAT 단백질은 제초제 글루포시네이트에 대해 높은 기질 특이성을 가지고 있다. 또한 주요대사산물인 N-아세틸글루포시네이트는 글루포시네이트보다 낮은 독성을 가지는 것으로 확인되었다. 또한, 유전자변형 면화 DAS-81910-7에서 발현되는 PAT 단백질은 심사가 완료된 유전자변형 콩 DAS-68416-4 와 DAS-44406-6에서 발현되는 PAT 단백질과 동일하다.

7) 영양성

- 영양성 확인을 위하여 육계사양실험을 실시하였다. 육계의 사료에 유전자변형 면화 DAS-81910-7 면실박, 비유전자변형 근동질유전자계통(near-isogenic) 면화의 면실박, 그리고 세 종류의 상업종 면화의 면실박을 혼합하여 급이하며 육계의 성장 및 건강상태 관련 반응을 6주간 관찰하였다. 각각의 면실박을 10% 수준으로 포함시켜 Starter(어린 짐승을 위한 사료), grower(성장기 사료), finisher(비육완료기 사료)를 준비하여 난괴법으로 시험을 실시하였고, 0일차, 14일차, 28일차, 42일차에 체중과 사료 소비율을 측정하고, 건강상태, 행동, 사망률(fatality)을 매일 관찰하였다. 시험결과, 유전자변형 면화 DAS-81910-7의 면실박이 혼합된 사료가 급이된 육계는 생존, 사료소비, 전체 체중 증가, 가공된 조직과 도체(carcase)의 무게, 사료요구율(feed conversion ratio), 일반 행동양상(behavior) 등에서 비유전자변형 면화의 면실박이 혼합된 사료급이 육계와 비교하여 차이점이 없었다. 따라서 유전자변형 면화 DAS-81910-7은 비유전자변형 면화와 영양적으로 동등한 것을 확인하였다.

바. 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향

- AAD-12 단백질이 숙주가 함유한 고유의 성분을 기질로 하여 반응할 가능성을 분석하였다. AAD-12 단백질에 대한 식물체 내 기질 탐색을 위해 AAD-12 단백질의 기질 특이적인 화합물 골격구조를 가진 “aryl-oxy-alkane-carboxylic acid”에 대해 천연물 데이터베이스(<http://www.molecular-networks.com/biopath/index.html>)(2010)를 검색한 결과, 일치되는 천연물 기질 후보물질을 찾을 수 없었다. 또한 Chemical Abstracts 데이터베이스(2012)에 대해 핵심구조인 phenoxyacetate 및 alkoxyacetate에 대해 90,000 화합물 이상을 검색했지만, 식물의 천연물에서 기질 후보물질을 찾을 수 없었다.
- 알려진 생화학적 대사경로에 대한 검색에서도 식물 유래 천연물에서는 기질 후보 화합물을 찾을 수 없었다. 총 9개의 화합물이 도출되었는데, 이 중 3개 화합물은 제초제로 자연계에 없는 합성물질(2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid, 2,4-dichlorophenoxyacetate 및 4-chlorophenoxyacetic acid)이었고, secalonic acid D는 곰팡이 독소(mycotoxin)이고, 나머지 5개 화합물은 세균에서 methyl naphthalene의 xenobiotic degradation에 관련된 화합물로 AAD-12 단백질의 식물유래 기질 후보 화합물이 아니었다. 따라서, 식물체 내재물질이 AAD-12 단백질의 기질로 사용될 가능성은 매우 낮다고 판단되었다.

사. 식품용으로서의 저장 및 가공에 관한 설명

- 면화는 다래(cotton boll)만 식품으로 이용된다. 면화는 조면 과정을 거쳐 씨와 면화를 분리해 내는데, 이때 분리된 씨를 면실유 제조에 사용한다. 린터를 분리한 씨는 겉껍질을 벗긴 후 껍질은 동물 사료로 사용하고, 나머지는 압착하거나 용매추출 방법을 사용하여 기름을搾다. 원유는 추가적인 정제(가열, 원심분리, 여과 등) 과정을 거쳐 식용유로 가공된다.

아. 외국의 식품유통 승인 및 식품용 등의 이용 현황

- 미국(2014), 호주/뉴질랜드(2014), 캐나다(2015), 일본(2015)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 면화와 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

7. 기타

- 가. 「유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률」에 의하여 유전자변형 면화 DAS-81910-7의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경 위해성은 농촌진흥청, 환경부, 국립수산물과학원에서 심사 완료하였다.
- 나. 유전자변형 면화 DAS-81910-7의 안전성 심사결과보고서(안)을 식품의약품안전처 홈페이지 및 정책고객서비스(PCRM)에 2016년 6월 24일 ~ 7월 23까지 공개하여 의견을 수렴한 결과, 접수된 의견은 없었다.

붙임 : 영양성분 분석 자료

[붙임] 영양성분 분석 자료

1) 일반성분

분석성분 (Units)	전체 처리 효과 (Pr > F)	대조군 비유전자변형 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	DAS-81910-7 제조제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대 (P-값, 보정 P-값)	참조범위 최소 - 최대
		하위시험 1 (제조제 무처리)		
회분 (% Dry Weight)	0.047	4.29 ± 0.11 3.67 - 5.14	4.17 ± 0.11 3.62 - 4.76 (0.047, 0.185)	3.53 - 5.21
탄수화물 (% Dry Weight)	0.007	47.5 ± 0.9 44.5 - 53.6	49.1 ± 0.9 44.7 - 57.9 (0.007, 0.050)	42.3 - 54.2
조지방 (% Dry Weight)	0.368	21.7 ± 0.7 18.3 - 25.2	21.3 ± 0.7 15.6 - 26.2 (0.368, 0.642)	15.8 - 27.9
단백질 (% Dry Weight)	0.008	26.4 ± 0.9 22.3 - 31.5	25.4 ± 0.9 22.2 - 31.1 (0.008, 0.055)	21.5 - 32.3
수분 (% Fresh Weight)	0.663	8.2 ± 0.2 6.64 - 9.74	8.0 ± 0.2 6.56 - 9.39 (0.663, 0.815)	6.37 - 10.2
ADF (% Dry Weight)	0.381	25.9 ± 0.5 23.0 - 28.6	25.3 ± 0.5 21.3 - 28.6 (0.381, 0.642)	20.4 - 29.4
조섬유 (% Dry Weight)	0.677	18.1 ± 0.3 16.0 - 21.3	17.9 ± 0.3 14.8 - 22.7 (0.677, 0.815)	15.1 - 23.5
NDF (% Dry Weight)	0.667	34.0 ± 0.6 30.7 - 40.3	33.8 ± 0.6 28.3 - 39.7 (0.667, 0.815)	27.2 - 38.2
총식이섬유 (% Dry Weight)	0.283	44.8 ± 1.0 40.3 - 53.5	45.7 ± 1.0 40.7 - 56.5 (0.283, 0.591)	37.6 - 51.3

전체 처리 효과 (Pr > F)	DAS-81910-7 제조제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	2.
	하위시험 2 (2,4-D+글루포시네	
0.411	4.31 ± 0.13 3.69 - 5.08	
0.485	50.2 ± 1.1 46.9 - 56.6	
0.319	20.9 ± 0.9 17.3 - 25.9	
0.669	24.6 ± 1.0 19.2 - 29.7	
0.985	8.2 ± 0.2 6.95 - 9.20	
0.405	26.0 ± 0.5 22.1 - 29.8	
0.060	18.6 ± 0.3 13.7 - 23.6	
0.557	35.2 ± 0.6 30.6 - 39.3	
0.309	46.6 ± 1.1 40.0 - 54.0	

2) 아미노산

분석성분 (Units)	전제 처리 효과 (Pr > F)	대조군 비유전자변형 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	DAS-81910-7 제조제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대 (P-값, 보정 P-값)	참조범위 최소 - 최대	전제 처리 효과 (Pr > F)	DAS-81910-7 제조제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	2.4
	하위시험 1 (제조제 무처리)				하위시험 2 (2,4-D+글루포시네)		
알라닌 (% Total Amino Acid)	0.705	4.44 ± 0.03 4.29 - 4.598	4.45 ± 0.03 4.22 - 4.741 (0.705, 0.815)	4.18 - 4.656	0.549	4.48 ± 0.05 4.265 - 4.734	
아르기닌 (% Total Amino Acid)	0.020	12.64 ± 0.16 11.87 - 13.73	12.49 ± 0.16 11.50 - 13.67 (0.020 , 0.096)	11.57 - 13.67	0.677	12.41 ± 0.20 11.27 - 13.47	
아스파르트산 (% Total Amino Acid)	0.349	10.09 ± 0.15 9.67 - 11.03	10.25 ± 0.15 9.75 - 12.03 (0.349, 0.642)	9.59 - 11.42	0.182	10.32 ± 0.22 9.69 - 11.74	
시스틴 (% Total Amino Acid)	0.145	1.785 ± 0.040 1.563 - 2.126	1.833 ± 0.040 1.529 - 2.214 (0.145, 0.427)	1.593 - 2.339	0.701	1.799 ± 0.029 1.559 - 2.235	
글루탐산 (% Total Amino Acid)	0.701	20.11 ± 0.13 19.17 - 20.73	20.07 ± 0.13 18.58 - 20.72 (0.701, 0.815)	19.44 - 21.23	0.437	19.92 ± 0.20 18.91 - 20.69	
글리신 (% Total Amino Acid)	0.949	4.42 ± 0.04 4.14 - 4.61	4.41 ± 0.04 4.081 - 4.546 (0.949, 0.969)	4.10 - 4.594	0.382	4.45 ± 0.05 4.053 - 4.633	
히스티딘 (% Total Amino Acid)	0.267	2.841 ± 0.016 2.695 - 3.048	2.868 ± 0.016 2.604 - 3.001 (0.267, 0.583)	2.651 - 3.077	0.652	2.840 ± 0.019 2.685 - 2.999	
이소류신 (% Total Amino Acid)	0.746	3.62 ± 0.02 3.284 - 3.790	3.61 ± 0.02 3.391 - 3.799 (0.746, 0.847)	3.180 - 3.817	0.737	3.63 ± 0.03 3.268 - 3.880	
류신 (% Total Amino Acid)	0.702	6.30 ± 0.02 6.15 - 6.49	6.31 ± 0.02 6.18 - 6.45 (0.702, 0.815)	6.04 - 6.54	0.153	6.34 ± 0.04 6.15 - 6.60	

(계속)

분석성분 (Units)	전체 처리 효과 (Pr > F)	대조군 비유전자변형 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	DAS-81910-7 제초제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대 (P-값 보정 P-값)	참조범위 최소 - 최대
	하위시험 1 (제초제 무처리)			
리신 (% Total Amino Acid)	0.254	4.69 ± 0.06 4.36 - 5.09	4.73 ± 0.06 4.44 - 5.107 (0.254, 0.577)	4.27 - 5.03
메티오닌 (% Total Amino Acid)	0.464	1.640 ± 0.023 1.406 - 1.801	1.625 ± 0.023 1.460 - 1.774 (0.464, 0.702)	1.339 - 1.785
페닐알라닌 (% Total Amino Acid)	0.504	5.70 ± 0.06 5.49 - 6.12	5.68 ± 0.06 5.201 - 6.01 (0.504, 0.726)	5.44 - 6.02
프롤린 (% Total Amino Acid)	0.983	4.04 ± 0.01 3.908 - 4.116	4.04 ± 0.01 3.895 - 4.187 (0.983, 0.983)	3.780 - 4.192
세린 (% Total Amino Acid)	0.878	4.63 ± 0.04 4.352 - 4.88	4.63 ± 0.04 4.32 - 4.875 (0.878, 0.925)	4.26 - 5.05
트레오닌 (% Total Amino Acid)	0.849	3.54 ± 0.03 3.312 - 3.705	3.54 ± 0.03 3.291 - 3.684 (0.849, 0.911)	3.186 - 3.756
트립토판 (% Total Amino Acid)	0.557	1.433 ± 0.019 1.240 - 1.592	1.422 ± 0.019 1.267 - 1.651 (0.557, 0.747)	1.295 - 1.677
타이로신 (% Total Amino Acid)	0.155	3.335 ± 0.015 3.201 - 3.457	3.313 ± 0.015 3.180 - 3.422 (0.155, 0.436)	3.190 - 3.459
발린 (% Total Amino Acid)	0.426	4.75 ± 0.02 4.43 - 4.96	4.74 ± 0.02 4.50 - 4.92 (0.426, 0.679)	4.36 - 5.02

전체 처리 효과 (Pr > F)	DAS-81910-7 제초제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	
하위시험 2 (2,4-D+글루포)		
0.727	4.72 ± 0.07 4.40 - 5.209	
0.728	1.651 ± 0.033 1.434 - 1.988	
0.137	5.68 ± 0.06 5.35 - 5.88	
0.897	4.04 ± 0.02 3.903 - 4.200	
0.897	4.63 ± 0.03 4.354 - 4.915	
0.705	3.57 ± 0.04 3.261 - 3.800	
0.927	1.422 ± 0.018 1.254 - 1.595	
0.507	3.331 ± 0.020 3.192 - 3.490	
0.610	4.76 ± 0.04 4.36 - 5.023	

3) 지방산

분석성분 (Units)	전체 처리 효과 (Pr > F)	대조군 비유전자변형 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	DAS-81910-7 제조제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대 (P-값 보정 P-값)	참조범위 최소 - 최대	전체 처리 효과 (Pr > F)	DAS-81910-7 제조제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	2,4-D+글루포시나
	하위시험 1 (제조제 무처리)				하위시험 2 (2,4-D+글루포시나)		
8:0 카프릴릭산 (% Total Fatty Acid)	NA	NA <LOQ	NA <LOQ	<LOQ	NA	NA <LOQ	
10:0 카프르산 (% Total Fatty Acid)	NA	NA <LOQ	NA <LOQ	<LOQ	NA	NA <LOQ	
12:0 라우르산 (% Total Fatty Acid)	NA	NA <LOQ	NA <LOQ	<LOQ	NA	NA <LOQ	
14:0 미리스틴산 (% Total Fatty Acid)	<0.001	0.720 ± 0.041 0.545 - 0.907	0.657 ± 0.041 0.489 - 0.872 (<0.001, 0.002)	0.4324 - 1.046	0.541	0.651 ± 0.041 0.508 - 0.871	
14:1 미리스톨레산 (% Total Fatty Acid)	NA	NA <LOQ	NA <LOQ	<LOQ	NA	NA <LOQ	
15:0 펜타데칸산 (% Total Fatty Acid)	NA	NA <LOQ	NA <LOQ	<LOQ	NA	NA <LOQ	
15:1 Pentadecenoic (% Total Fatty Acid)	NA	NA <LOQ	NA <LOQ	<LOQ	NA	NA <LOQ	
16:0 팔미트산 (% Total Fatty Acid)	0.027	22.55 ± 0.58 20.37 - 25.67	22.26 ± 0.58 20.04 - 26.12 (0.027, 0.114)	18.76 - 26.07	0.216	22.26 ± 0.66 19.71 - 26.14	
16:1 팔미톨레산 (% Total Fatty Acid)	<0.001	0.494 ± 0.022 0.4105 - 0.639	0.460 ± 0.022 0.3917 - 0.588 (<0.001, 0.003)	0.3787 - 0.636	0.203	0.454 ± 0.023 0.3776 - 0.587	

NA= Not Applicable, LOQ= limit of quantitation(정량한계)

(계속)

분석성분 (Units)	전체 처리 효과 (Pr > F)	대조군 비유전자변형 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	DAS-81910-7 제조제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대 (P-값 보정 P-값)	참조범위 최소 - 최대
	하위시험 1 (제조제 무처리)			
17:0 헵타데칸산 (% Total Fatty Acid)	NA	NA <LOQ - 0.0990	NA <LOQ - 0.1046	<LOQ - 0.1085
17:1 Heptadecenoic (% Total Fatty Acid)	NA	NA <LOQ	NA <LOQ	<LOQ
18:0 스테아르산 (% Total Fatty Acid)	0.373	2.311 ± 0.068 1.951 - 2.685	2.334 ± 0.068 1.943 - 2.645 (0.373, 0.642)	1.801 - 2.962
18:1 올레산 (% Total Fatty Acid)	<0.001	14.84 ± 0.35 13.74 - 17.16	13.95 ± 0.35 12.76 - 16.50 (<0.001, 0.001)	12.93 - 17.09
18:2 리놀레산 (% Total Fatty Acid)	<0.001	58.5 ± 0.8 54.4 - 61.1	59.7 ± 0.8 54.9 - 62.5 (<0.001, 0.003)	52.36 - 63.9
18:3 리놀렌산 (% Total Fatty Acid)	0.249	0.2032 ± 0.0083 0.1733 - 0.2412	0.2117 ± 0.0083 0.1782 - 0.2991 (0.249, 0.577)	0.1460 - 0.2567
18:3 γ-리놀렌산 (% Total Fatty Acid)	NA	NA <LOQ	NA <LOQ	<LOQ
20:0 아라킨산 (% Total Fatty Acid)	0.489	0.2509 ± 0.0105 0.2088 - 0.2949	0.2492 ± 0.0105 0.2029 - 0.3063 (0.489, 0.722)	0.1855 - 0.3242
20:1 Eicosenoic (% Total Fatty Acid)	NA	NA <LOQ	NA <LOQ	<LOQ

NA= Not Applicable, LOQ= limit of quantitation(정량한계)

전체 처리 효과 (Pr > F)	DAS-81910-7 제조제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	
하위시험 2 (2,4-D+글루포)		
NA	NA <LOQ - 0.1044	
NA	NA <LOQ	
0.124	2.341 ± 0.073 1.959 - 2.628	
0.698	13.82 ± 0.34 12.54 - 16.50	
0.247	59.9 ± 0.9 54.45 - 62.9	
0.617	0.2126 ± 0.0090 0.1829 - 0.2761	
NA	NA <LOQ	
0.660	0.2530 ± 0.0111 0.2010 - 0.3113	
NA	NA <LOQ	

(계속)

분석성분 (Units)	전체 처리 효과 (Pr > F)	대조군 비유전자변형 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	DAS-81910-7 제초제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대 (P-값 보정 P-값)	참조범위 최소 - 최대	전체 처리 효과 (Pr > F)	DAS-81910-7 제초제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대
	하위시험 1 (제초제 무처리)				하위시험 2 (2,4-D+글루)	
20:2 이코사디엔산 (% Total Fatty Acid)	NA	NA <LOQ	NA <LOQ	<LOQ	NA	NA <LOQ
20:3 에이코사트리엔산 (% Total Fatty Acid)	NA	NA <LOQ	NA <LOQ	<LOQ	NA	NA <LOQ
20:4 아라키돈산 (% Total Fatty Acid)	NA	NA <LOQ	NA <LOQ	<LOQ	NA	NA <LOQ
22:0 베헨산 (% Total Fatty Acid)	0.181	0.1373 ± 0.0060 0.1119 - 0.1692	0.1341 ± 0.0060 0.1057 - 0.1693 (0.181, 0.464)	0.1035 - 0.1749	0.373	0.1358 ± 0.0071 0.1101 - 0.1757

NA= Not Applicable, LOQ= limit of quantitation(정량한계)

4) 무기질

분석성분 (Units)	전제 처리 효과 (Pr > F)	대조군 비유전자변형 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	DAS-81910-7 제조제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대 (P-값, 보정 P-값)	참조범위 최소 - 최대	전제 처리 효과 (Pr > F)	DAS-81910-7 제조제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	2.
	하위시험 1 (제조제 무처리)				하위시험 2 (2,4-D+글루포사)		
칼슘 (mg/100 g Dry Weight)	0.011	124 ± 7 88.1 - 164	133 ± 7 98.0 - 172 (0.011 , 0.059)	78.9 - 204	0.960	136 ± 7 113 - 178	
구리 (mg/100 g Dry Weight)	0.021	0.90 ± 0.07 0.525 - 1.37	0.86 ± 0.07 0.532 - 1.30 (0.021 , 0.096)	0.466 - 1.44	0.944	0.86 ± 0.08 0.446 - 1.32	
철 (mg/100 g Dry Weight)	0.546	4.20 ± 0.24 3.24 - 6.26	4.25 ± 0.24 3.45 - 5.76 (0.546, 0.747)	3.43 - 6.45	0.353	4.25 ± 0.21 3.28 - 5.71	
마그네슘 (mg/100 g Dry Weight)	0.420	387 ± 18 291 - 487	384 ± 18 282 - 488 (0.420, 0.679)	285 - 470	0.278	391 ± 19 250 - 494	
망간 (mg/100 g Dry Weight)	0.002	1.59 ± 0.10 1.17 - 2.36	1.35 ± 0.10 0.968 - 2.20 (0.002 , 0.021)	0.983 - 2.28	0.789	1.31 ± 0.08 0.985 - 1.93	
폴리브렌 (mg/100 g Dry Weight)	0.460	0.039 ± 0.012 0.00412 - 0.107	0.036 ± 0.012 0.00427 - 0.106 (0.460, 0.702)	0.00326 - 0.122	0.331	0.036 ± 0.011 0.00557 - 0.0980	
인 (mg/100 g Dry Weight)	0.079	652 ± 42 491 - 924	633 ± 42 469 - 921 (0.079, 0.259)	460 - 901	0.378	655 ± 45 412 - 936	
칼륨 (mg/100 g Dry Weight)	0.106	1078 ± 23 958 - 1230	1055 ± 23 937 - 1190 (0.106, 0.331)	938 - 1290	0.613	1074 ± 23 939 - 1200	
셀레늄 (ppb Dry Weight)	0.379	110 ± 30 <LOQ - 382	122 ± 30 <LOQ - 378 (0.379, 0.642)	<LOQ - 676	0.670	194 ± 95 <LOQ - 2010	

NR= Not Reported, LOQ= limit of quantitation(정량한계)

(계속)

분석성분 (Units)	전체 처리 효과 (Pr > F)	대조군 비유전자변형 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	DAS-81910-7 제조제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대 (P-값, 보정 P-값)	참조범위 최소 - 최대	전체 처리 효과 (Pr > F)	DAS-81910-7 제조제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대
	하위시험 1 (제조제 무처리)				하위시험 2 (2,4-D+글루포)	
나트륨 (mg/100 g Dry Weight)	0.249	123 ± 8 77.5 - 178	111 ± 8 64.7 - 188 (0.249, 0.577)	73.9 - 192	0.187	128 ± 9 78.7 - 207
황 (mg/100 g Dry Weight)	0.541	495 ± 67 305 - 952	535 ± 67 311 - 1850 (0.541, 0.747)	331 - 847	0.734	520 ± 74 279 - 1430
아연 (mg/100 g Dry Weight)	0.290	3.36 ± 0.13 2.63 - 3.93	3.47 ± 0.13 2.47 - 5.29 (0.290, 0.591)	2.77 - 4.26	0.821	3.51 ± 0.21 2.33 - 5.53

NR= Not Reported, LOQ= limit of quantitation(정량한계)

5) 비타민

분석성분 (Units)	전체 처리 효과 (Pr > F)	대조군 비유전자변형 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	DAS-81910-7 제조제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대 (P-값, 보정 P-값)	참조범위 최소 - 최대	전체 처리 효과 (Pr > F)	DAS-81910-7 제조제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대
	하위시험 1 (제조제 무처리)				하위시험 2 (2,4-D+글루포)	
알파토코페롤(비타민 E) (mg/kg Dry Weight)	0.612	90 ± 11 30.3 - 134	88 ± 11 26.7 - 136 (0.612, 0.803)	31.1 - 151	0.360	90 ± 10 20.4 - 135
비타민 A (베타카로틴) (mg/kg Dry Weight)	NA	NA <LOQ - 0.264	NA <LOQ - 0.323	<LOQ - 0.267	NA	NA <LOQ - 0.249
비타민 B1 (티아민) (mg/kg Dry Weight)	0.953	10.3 ± 0.4 7.52 - 12.6	10.3 ± 0.4 8.28 - 13.2 (0.953, 0.969)	5.54 - 14.7	0.912	10.4 ± 0.5 6.14 - 13.4
비타민 B2 (리보플라빈) (mg/kg Dry Weight)	0.813	6.2 ± 0.5 3.52 - 9.95	6.3 ± 0.5 3.82 - 9.82 (0.813, 0.888)	3.44 - 9.52	0.998	6.6 ± 0.5 3.69 - 12.5
비타민 B3 (니아신) (mg/kg Dry Weight)	0.315	27.8 ± 1.2 21.7 - 35.6	28.5 ± 1.2 22.7 - 35.3 (0.315, 0.620)	20.4 - 36.8	0.905	28.2 ± 1.1 21.3 - 37.7
비타민 B6 (피리독신) (mg/kg Dry Weight)	0.176	3.83 ± 0.09 3.15 - 4.49	3.72 ± 0.09 3.10 - 4.54 (0.176, 0.464)	2.84 - 5.12	0.535	3.70 ± 0.13 3.18 - 4.72
비타민 B9 (엽산) (mg/kg Dry Weight)	0.806	1.66 ± 0.07 1.14 - 2.38	1.67 ± 0.07 1.17 - 2.26 (0.806, 0.888)	1.10 - 2.40	0.160	1.56 ± 0.09 0.872 - 2.31

NA= Not Applicable, NR= Not Reported, LOQ= limit of quantitation(정량한계)

6) 항영양소

분석성분 (Units)	전체 처리 효과 (Pr > F)	대조군 비유전자변형 평균 ± 표준오차 최소 - 최대	DAS-81910-7 제초제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대 (P-값, 보정 P-값)	참조범위 최소 - 최대
	하위시험 1 (제초제 무처리)			
디하이드로스테로클린산 (% Total Fatty Acid)	0.074	0.205 ± 0.007 0.150 - 0.247	0.214 ± 0.007 0.174 - 0.261 (0.074, 0.259)	0.153 - 0.325
말발산 (% Total Fatty Acid)	0.003	0.524 ± 0.023 0.403 - 0.645	0.577 ± 0.023 0.426 - 0.762 (0.003 , 0.029)	0.402 - 0.854
스테로클린산 (% Total Fatty Acid)	0.077	0.275 ± 0.011 0.173 - 0.447	0.297 ± 0.011 0.209 - 0.358 (0.077, 0.259)	0.196 - 0.440
유리고시플 (% Dry Weight)	0.010	0.96 ± 0.06 0.593 - 1.36	0.83 ± 0.06 0.556 - 1.17 (0.010 , 0.059)	0.492 - 1.28
총고시플 (% Dry Weight)	0.001	1.08 ± 0.05 0.829 - 1.44	0.95 ± 0.05 0.719 - 1.19 (0.001 , 0.010)	0.551 - 1.41

전체 처리 효과 (Pr > F)	DAS-81910-7 제초제무처리 평균 ± 표준오차 최소 - 최대
하위시험 2 (2,4-D+글루포)	
0.578	0.216 ± 0.006 0.175 - 0.269
0.174	0.591 ± 0.026 0.474 - 0.722
0.964	0.301 ± 0.011 0.215 - 0.366
0.624	0.82 ± 0.06 0.479 - 1.20
0.867	0.92 ± 0.05 0.519 - 1.31