유전자재조합 옥수수 MIR162
안전성평가자료 심사결과 보고서

2010. 10.

식 품 의 약 품 안 전 청
유전자재조합식품등 안전성평가자료심사위원회

<차례>

1. 요약 ····· 1
2. 심사경위 ····· 2
3. 심사경과 ····· 2
4. 심사방법 ····· 3
5. 심사 신청 자료 검토 ····· 3
5-1. 심사 신청된 식품의 개요 ····· 3
5-2. 식품으로의 적합성 검토 ····· 3
5-3. 유전자재조합체의 안전성 ····· 3
가. 유전자재조합체의 개발목적 및 이용방법에 관한 자료 ····· 3
나. 숙주에 관한 자료 ····· 3
(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등) ····· 3
(2) 재배 및 품종개량의 역사 ····· 4
(3) 기지의 독성 또는 알레르기 유발성 ····· 4
(4) 안전한 식경험의 유무 ····· 4
다. 공여체에 관한 자료 ····· 4
(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등) ····· 4
(2) 안전한 식경험의 유무 ····· 5
(3) 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성(미생물의 경우 병원성 및 기지의 병원체와의 관련성) ····· 5
라. 유전자재조합에 대한 자료 ····· 5
(1) 형질전환에 관한 정보 ····· 5
(2) 도입 유전자에 대한 정보 ····· 7
마. 유전자재조합체의 특성에 관한 자료 ····· 9
(1) 유전자재조합체 내 도입된 유전자에 관한 정보 ····· 9
(2) 유전자산물에 관한 정보 ····· 10
(3) 독성 ····· 12
(4) 알레르기성 ····· 13
(5) 숙주와의 차이 ····· 15
(6) 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향(숙주가 함유한 고유의 성분을 기질로 하여 반응할 가능성) ····· 16
(7) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황 ····· 16
6. 심사신청 자료 검토 결과 ····· 17
7. 기타 ····· 17

유전자재조합 옥수수 MIR162
안전성성평가자료 심사결과 보고서

1. 요약

신젠타종묘(주)는 유전자재조합 옥수수 MIR162를 식품의약품안전청에 안전성 심사를 신청하였고, "유전자재조합식품등 안전성평가자료 심사위원회"는 「유전자재조합식품의 안전성평가 심사 등에 관한 규정」에 따라 안전성 심사를 수행하였다.

MIR162는 일반 옥수수에 세균 유래 *vip3Aa20* 유전자와 *pmi* 유전자를 아그로박테리움법으로 도입하여 만들어진다. 도입된 유전자의 발현에 의해 Vip3Aa20 단백질과 PMI 단백질이 생성되며, 이 단백질들은 각각 옥수수가 나비목 유충에 대한 저항성을 가지게 하며, 형질전환 과정 중 선발표지로 사용되었다.

MIR162에는 *vip3Aa20* 유전자와 *pmi* 유전자가 각각 한개씩 도입되었으며 도입된 유전자가 3 세대에 걸쳐 안정적으로 유전되는 것으로 나타났다.

새로 생성된 Vip3Aa20 단백질과 PMI 단백질에 대하여 마우스(mouse)에서 단회투여 독성을 평가한 결과 독성이 없는 것으로 나타났으며, MIR162를 랫드(rat)에서 90일 반복투여독성실험을 실시한 결과 독성이 없는 것으로 나타났다.

MIR162와 일반 옥수수의 주요영양성분, 미량영양성분, 항영양소 등의 함량을 비교한 결과, 통계적 또는 생물학적으로 차이가 없었다. MIR162를 육계에 42일 동안 계속 먹였을 때에도 일반 옥수수와 비교하여 영양성에 차이가 없었다.

결론적으로, MIR162는 지금까지 식품으로 섭취해온 일반옥수수와 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

2. 심사경위

○ 신젠타종묘(주)는 해충에 저항성을 갖는 MIR162에 대해 식품위생법 제18조에 따른 안전성 평가심사를 받기 위하여 2007년 12월 28일 식품의약품안전청에 「유전자재조합식품의안전성평가심사등에관한규정」(이하 '심사규정'이라고함)에 규정한 관련 자료를 첨부하여 심사 신청하였다.

○ 이에 식품의약품안전청장은 본 제품이 심사규정에 따라 안전성 평가가 이루어졌는지 여부에 대하여 '유전자재조합식품등 안전성평가자료심사위원회'(이하 '심사위원회'라고 함)에 검토 의뢰하고,

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

3. 심사경과

○ 심사대상품목

대상품목	신청자	개발자	제외국의 안전성 확인(승인) 현황
유전자재조합 옥수수 MIR162	신젠타종묘(주)	Syngenta Seeds	미국(2008), 호주(2009), 대만(2009), 브라질(2009), 멕시코(2010), 일본(2010), 캐나다(2010), 필리핀(2010)

○ 심사경과

- 2007년 12월 28일 : 안전성 평가자료 심사신청
- 2008년 2월 19일 : 1차 심사위원회 개최
- 2008년 2월 28일 : 심사위원회 서류심사 의뢰
- 2008년 6월 17일 : 2차 심사위원회 개최
- 2008년 10월 14일 : 3차 심사위원회 개최
- 2009년 1월 20일 : 4차 심사위원회 개최
- 2009년 3월 24일 : 5차 심사위원회 개최
- 2009년 6월 16일 : 6차 심사위원회 개최
- 2009년 7월 21일 : 7차 심사위원회 개최
- 2010년 6월 15일 : 8차 심사위원회 개최
- 2010년 6월 : 환경위해성 심사 완료(농촌진흥청, 국립수산과학원, 국립환경과학원)
- 2010년 7월 20일 : 9차 심사위원회 개최
- 2010년 9월 14일 : 10차 심사위원회 개최
- 2010년 9월 20일 ~ 10월 12일 : 공개의견수렴
- 2010년 10월 19일 : 11차 심사위원회 개최

4. 심사방법

○ 본 제품과 관련하여 심사 신청된 유전자재조합체가 심사규정의 적용대상인지를 검토하였고,
○ 제출된 안전성 평가자료가 심사규정에서 요구하는 자료를 갖추었는지를 확인한 후 자료의 내용을 토대로 안전성 평가자료를 심사하였다.

5. 심사신청 자료 검토

5-1. 심사 신청된 식품의 개요

○ 신젠타종묘(주)가 심사 신청한 MIR162는 나비목의 유충들 중 옥수수 선충(Corn earworm), 서부콩거세미나방(Western bean cutworm), 조밤나방(Fall arymyworm), 검거세미나방(Black cutworm) 등에 대하여 저항성을 나타낸다.

5-2. 식품으로의 적합성 검토

○ 본 제품과 관련하여 제출된 안전성 평가자료가 심사규정 제12조에서 요구하는 자료를 만족시키는지 여부를 검토하였으며,
○ 자료의 내용을 토대로 다음과 같이 식품으로서의 안전성이 확보되어 있는 지를 심사하였다.

5-3 유전자재조합체의 안전성

가. 유전자재조합체의 개발목적 및 이용방법에 관한 자료

○ 신젠타는 나비목의 유충들 중 미국의 옥수수 재배 경작지에서 문제를 일으키는 옥수수 선충(Corn earworm), 서부콩거세미나방(Western bean cutworm), 조밤나방(Fall arymyworm), 검거세미나방(Black cutworm) 등에 대하여 저항성을 가지도록 Vip3Aa20 단백질을 발현하는 옥수수를 개발하였다.
○ 재배방법 및 이용방법은 기존의 옥수수와 동일하다.

나. 숙주에 관한 자료

(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)

- 종(Species): *mays*
- 속(Genus): *Zea*

- 과(Family): Gramineae
- 일반명(Commom Name) : 옥수수(corn[미국], maize[그 외 지역])

(2) 재배 및 품종개량의 역사

- 옥수수는 전 세계 거의 모든 지역에서 재배되며, 밀(*Triticum* sp.)에 이어 총 재배면적이 두 번째로 많은 작물이다.
- 20세기 초에 옥수수 잡종이 자연적으로 수분된 품종에 비해 더 나은 수확률을 보이는 것으로 알려 졌으며, 1930년대와 1940년대에는 점차적으로 잡종에서 유래한 품종이 자연적으로 수분된 품종을 대체하게 되었다.

(3) 기지의 독성 또는 알레르기 유발성

- 옥수수가 속하는 *Zea* 속 식물은 자연적으로 독소를 생산하지 않는 것으로 보고되었다(CFIA, 2003).
- 옥수수는 식품 알레르기를 유발하는 주요 원인 식품으로 간주되지 않는다. 그러나 일부 연구에서는 알레르기 반응이 보고되었다(OECD, 2002).

(4) 안전한 식경험의 유무

- 옥수수는 세계 3대 곡물 중의 하나로서 전분, 식용유, 옥수수가루 등으로 이용되어 오랜 기간의 안전한 식경험을 가지고 있다.

다. 공여체에 관한 자료

(1) 분류학적 특성(일반명, 학명, 계통분류 등)

① *vip3Aa20* 유전자
- 종(Species): *thuringiensis*
- 속(Genus): *Bacillus*
- 과(Family): Bacillaceae
- 일반명(Commom Name): *Bacillus thuringiensis*

② *pmi* 유전자
- 종(Species): *coli*
- 속(Genus): *Escherichia*
- 과(Family): Enterobacteriaceae
- 일반명(Commom Name): 대장균

(2) 안전한 식경험의 유무

- *B. thuringiensis* 및 *E. coli*는 직접적으로 식용으로 이용된 적은 없다. 그러나 *B. thuringiensis* 유래의 Bt 단백질들은 농업분야에서 살충제로 널리 이용되고 있다. Vip3A단백질을 포함하는 Bt 살충제들이 미국 환경청으로부터 사용승인을 받아 사용되고 있다.

(3) 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성(미생물의 경우 병원성 및 기지의 병원체와의 관련성)

- *B. thuringiensis*는 이미 국제적으로 70년 동안 미생물 농약으로 사용되고 있는 것으로 우리나라에서도 친환경농업에서 이용하고 있으며, 현재까지 사람에게 해로운 영향을 미친다는 보고가 없다.
- 대장균의 경우 일부 혈청형(Serotype)의 대장균들은 장병원성으로 알려져 있으며 설사를 일으키는 사례가 있으나 극히 일부 strain을 제외하고 일반적으로 병을 유발하지 않는 것으로 알려져 있다.

라. 유전자재조합에 대한 자료

(1) 형질전환에 관한 정보

(가) 형질전환방법 (아그로박테리움법, 입자총법, 원형질체법 등)

- 아그로박테리움법을 사용하였다.

(나) 재조합에 사용된 벡터에 대한 정보

1) 기원

- pNOV200에 *pmi* 유전자 카세트를 절단하여 형질전환 벡터인 pSB12에 삽입하여 pNOV2109를 완성하였다. 완성된 pNOV2109에 HindIII/KpnI 제한효소절단위치를 도입하여 pNOV3000을 제조하였으며, *vip3Aa19* 유전자 카세트가 들어있는 pCIB9806을 HindIII/KpnI 제한효소로 절단하여 pNOV3000에 도입하여 pNOV1300을 완성하였다.

2) 숙주에서의 확인

- MIR162 옥수수 개발을 위해 아그로박테리움 법에 의해 숙주인 옥수수에 유전자를 도입했다. 삽입된 DNA 서열은 상응하는 재조합 플라스미드 DNA 서열과 두 개의 염기서열의 차이 이외에는 동일하다.
- *Bacillus thuringiens* strain AB88에서 발견된 *vip3Aa1* 유전자를 pNOV1300 벡터 내 삽입하는 과정에서 [그림 1]와 같이 아미노산 서열 한군데에 차이를 보이는 것이 *vip3Aa19* 유전자이고, *vip3A19* 유전자가

삽입되어 있는 pNOV1300 플라스미드를 아그로박테리움법으로 옥수수 배에 형질전환시킨 후 두 개의 염기서열에서 차이를 나타내 이를 *vip3Aa20*으로 하였다.

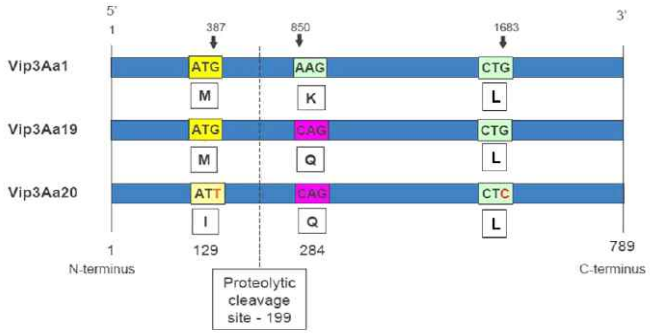

그림 1. MIR162의 형질전환과정에서 이용된 *vip3Aa1, vip3Aa19, vip3Aa20*

Vip3Aa 근원	살충활성 단백질명	아미노산	129번 아미노산[a]	284번 아미노산[a]
B. thuringiensis strain AB88	Vip3Aa1	789	M	K
pNOV1300	Vip3Aa19	789	M	Q
MIR162 maize	Vip3Aa20	789	I	Q

[a] M=메티오닌; I=이소류신; K=라이신; Q=글루타민

3) 숙주에서의 기능

- *vip3Aa20* 유전자는 옥수수 선충(Corn earworm), 서부콩거세미나방(Western bean cutworm), 조밤나방(Fall arymyworm), 검거세미나방(Black cutworm)를 비롯한 옥수수의 주요 나비목 해충들에 대한 저항성을 부여하는 Vip3Aa20 단백질을 발현하고. *pmi* 유전자는 선발표지 유전자로서 만노스(mannose) 이용성을 갖게 하는 PMI 단백질을 발현한다.

(다) 중간숙주에 대한 정보

- 삽입유전자가 포함되어 있는 pNOV1300을 *E. coli*에서 대량생산한 후, *A. tumefaciens*를 매개로 하여 삽입유전자를 식물체로 전달하였다.

(라) 전달성에 관한 정보

- 발현 벡터 pNOV1300에는 숙주생물 이외의 다른 생물로 스스로 전달되거나 이동될 수 있는 요소를 지니고 있지 않다.

(2) 도입 유전자에 대한 정보

(가) 구성 유전자의 특성

1) 선발표지유전자

① *pmi* 유전자

포스포만노스 이성화효소(phosphomannose isomerase)를 암호화하는 *E. coli* 유래 *manA* 유전자로 만노스를 에너지원으로 첨가한 선택배지를 사용 가능하게 한다.

② *spec* 유전자

pNOV1300 재조합 벡터를 구성하면서 *E. coli*에서 선발표지 유전자로 사용하였다. 스펙트로마이신(spectromycin)을 암호화하나 형질전환 과정에서 제거되었다.

2) 조절인자

① 프로모터 (promoter)

vip3Aa19 유전자 및 *pmi* 유전자 발현 카세트에는 옥수수 *polyubiquitin* 유래의 ZmUbiInt 프로모터를 이용했다.

② 터미네이터 (terminator)

vip3Aa19 유전자 발현 카세트에는 양배추꽃 모자이크 바이러스 게놈의 35S RNA 유래의 35S 터미네이터를 이용했다. *pmi* 유전자 발현 카세트에는 *A. tumefaciens* 유래의 NOS 터미네이터를 이용했다.

3) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

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

(나) 크기 및 명칭

- 14,405 bp 길이인 직쇄상 DNA 절편인 pNOV1300의 구성 DNA 요소, 크기, 유래 및 기능을 요약하면 다음 [표 1]과 같다.

표 1. pNOV1300 벡터의 구성 유전자 요소

구성요소	크기(bp)	유래 및 기능
***vip3Aa19* 유전자 발현 카세트**		
ZmUblint	1993	*Z. mays polyubiquitin* 유전자에서 유래한 프로모터
vip3Aa19	2370	*Bacillus thuringiens strain* AB88에서 발견되는 *vip3Aa1* 유전자의 변형된 형태.
iPEPC9	108	*Z. mays* 로부터 유래한 phosphoenolpyruvate carboxylase 유전자의 9번 인트론.
35S Terminator	70	양배추꽃 모자이크 바이러스 게놈의 35S RNA에서 유래한 터미네이터.
***pmi* 유전자 발현 카세트**		
ZmUbiInt	1993	*Z. mays polyubiquitin* 유전자에 서 유래한 프로모터.
pmi	1176	Phosphomannose isomerase (PMI) 효소를 코딩하는 *E. coli pmi* 유전자; 이 유전자는 *manA*로도 알려져 있음. Mannose-6-phosphate의 fructose-6-phosphate로의 이성질체화 (isomerization) 반응을 촉매함. 형질전환 과정 중 선택표지로 사용됨.
NOS Terminator	253	*Agrobacterium tumefaciens*의 nopaline 합성 유전자에서 유래한 터미네이터(NCBI, 2006).

(다) 완성된 벡터내의 유전자 염기서열의 위치 및 방향성

- 제한효소지도, 벡터 내에서의 유전자위치, 방향성이 [그림 2]제시되었다.

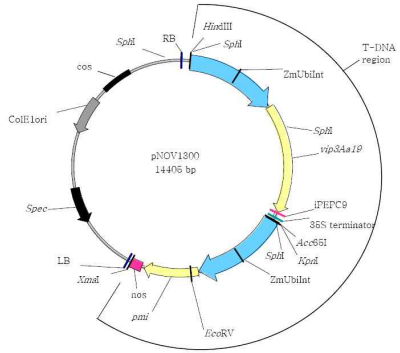

그림 2. 제한효소 인식 부위를 포함한 pNOV1300의 플라스미드 맵

(라) 구성 유전자의 기능

① *vip3Aa19* 유전자 : 특정 나비목 해충에 대해 살충활성을 보인다.

② *pmi* 유전자 : 형질전환 과정 중 선발표지로 사용된다.

(마) 유해염기서열의 유무

- 공여체에서 받은 유전 요소들은 그 특성이 잘 알려져 있으며, 유해한 염기서열을 함유하고 있지 않았다.

(바) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현가능성

- 목적으로 하는 Vip3Aa20 단백질과 PMI 단백질의 발현과 관련된 서열 이외 전사 및 발현가능성이 있는 새로운 외래전사해독프레임(Open reading frame, ORF)이 존재하지 않는 것으로 나타났다.

(사) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입

- 염기서열 확인 결과 목적하는 유전자이외의 유전자는 혼입되지 않았다.

마. 유전자재조합체의 특성에 관한 자료

(1) 유전자재조합체 내 도입된 유전자에 관한 정보

(가) 유전자재조합체의 게놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

① *vip3Aa20* 유전자

크기는 2370 bp이며, *B. thuringiensis*에서 유래하며, 일부 나비목 해충에 저항성을 보였다.

② *pmi* 유전자

크기는 1,176 bp이며, *E. coli*에서 포스포만노스 이성화효소 암호화 하는 *manA* 유전자 유래한다. 만노스 선택배지에서 형질전환체를 선발하였다.

(나) 삽입부위의 수

- MIR162 옥수수에는 단일 유전자 자리에 각각 1개의 *vip3Aa20* 유전자 발현 카세트 및 *pmi* 유전자 발현 카세트가 삽입되어 있는 것이 확인 되었다.

(다) 각 삽입부위의 삽입유전자의 구성

1) 복제수, 염기서열(주변염기서열 포함)

- 서던 블롯(Southern blot) 분석 결과 MIR162의 게놈에는 완전한 *vip3Aa20* 유전자 발현 카세트 및 *pmi* 유전자 발현 카세트로 구성된 1 copy의

T-DNA가 도입되었음이 확인되었다.

- 아래 [그림 3]는 MIR162 안에 플라스미드 삽입 유전자의 전체적인 모식을 나타내고 있다.

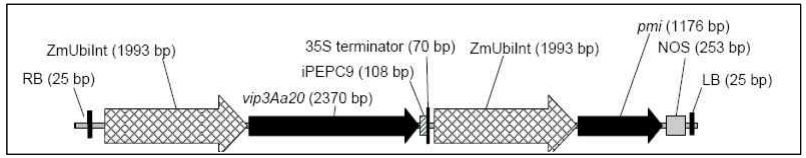

그림 3. 유전자재조합 옥수수 MIR162에서 플라스미드의 삽입 모식도

2) 기지의 독성이나 항영양소를 암호화하는 유전자가 없음을 입증하는 자료

- 기지의 독성이나 항영양소를 암호화하는 유전자는 없는 것으로 나타났다.

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

- MIR162에 삽입된 유전자와 인접한 염기서열에 전사 및 발현가능성이 있는 새로운 외래전사해독프레임이 존재하지 않는 것으로 나타났다.

(마) 안정성에 관한 사항

1) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

- MIR162에 존재하는 삽입 DNA의 안정성을 평가하기 위해 MIR162의 DNA를 사용하여 3세대(BC1F1, BC2F1, BC4F1)에 걸친 서던 블롯(Southern blot) 분석을 실시한 결과, 3세대에 걸쳐 MIR162의 삽입 DNA가 유지됨이 확인되었다.

2) 복수 세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- Vip3Aa20 단백질과 PMI 단백질의 잎에서의 발현량을 MIR162 3세대(BC1F1, BC2F1, BC4F1)를 대상으로 ELISA 시험법에 의해 평가한 결과, 각 단백질 모두 안정적으로 발현됨을 확인하였다.

(2) 유전자산물에 관한 정보

(가) 유전자산물의 화학적 성질 (단백질이나 전사되지 않은 RNA)

① Vip3Aa20 단백질

Vip3Aa20 단백질은 789개 아미노산으로 되어있으며, 분자량은 약 88,647 Da이다.

② PMI 단백질

PMI 단백질은 391개 아미노산으로 되어있으며, 분자량은 약 42,800 Da이다.

(나) 유전자산물의 기능

① Vip3Aa20 단백질

옥수수의 해충인 나비목 곤충에 대해 살충활성을 나타난다.

② PMI 단백질

만노스 이용성을 갖게 하여 선발표지로 이용되고 있다.

(다) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

- Vip3Aa20 단백질과 PMI 단백질 모두 당화(glycosylation) 등과 같은 번역 후 변이가 없을 것으로 판단된다.

(라) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- *E.coli* Vip3Aa20 단백질 서열은 MIR162에서 분리 정제한 Vip3Aa20 단백질의 아미노산 서열과 비교하면, 아미노산 서열사이에 동등성이 입증되어 구조적 변화가 없는 것으로 판단되었다.
- *E.coli* PMI 단백질 서열의 아미노산 서열은 MIR162에서 분리 정제한 PMI 단백질의 아미노산 서열과 비교하면, N 말단의 16개 아미노산의 부가를 제외하고 동등성이 입증되어, 면역반응성 등의 특성에 대한 차이가 없으므로 발현단백질의 구조적 변화가 없을 것으로 판단되었다.

(마) 새로운 특성의 표현형

① Vip3Aa20 단백질

Vip3Aa20 단백질은 *Bacillus thuringiensis* 유래의 천연 살충활성 단백질인 Vip3Aa 중 하나인 Vip3Aa1의 변형된 형태이다. Vip3Aa20 단백질은 옥수수의 중요 나비목 해충들 즉, 옥수수 선충(Corn earworm), 서부콩거세미나방(Western bean cutworm), 조밤나방(Fall arymyworm), 검거세미나방(Black cutworm)들에 살충활성을 지닌다.

② PMI 단백질

유전자재조합체의 만노스 이용성을 부여하여 형질전환 과정에서 선발표지로 사용되었다.

(바) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- Vip3Aa20 단백질과 PMI 단백질의 옥수수의 생육단계(V9-V12기, 개화기, 종자성숙기, 노화기)의 4단계에서 ELISA방법에 의해 분석한 결과

Vip3Aa20 단백질은 잎(종자성숙기)에서 50.41 ㎍/g로 가장 많이 발현되었고, PMI 단백질은 화분(개화기)에서 4.87 ㎍/g로 가장 많이 발현되었다. 알곡에서는 Vip3Aa20 단백질과 PMI 단백질이 각각 29.81 ㎍/g(종자성숙기), 1.32 ㎍/g(종자성숙기)로 나타났다.

(3) 독성

(가) 생산물이 단백질인 경우

1) 안전한 식경험의 유무

- Vip3Aa20 단백질 및 PMI 단백질에 대한 식경험은 없다.

2) 기지의 독성 및 항영양소와의 아미노산 서열 유사성

- Vip3Aa20 단백질과 PMI 단백질은 알려진 독소 혹은 항영양소와 유사성을 가지지 않았다. NCBI(National Center for Biotechnology Information) Entrez 단백질 데이터베이스와 비교한 결과, 기지의 독소 단백질 및 인체 위해성이 알려진 기지의 아미노산 서열과 상동성이 없는 것으로 확인되었다.

3) 유전자 산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 인공위액 안정성 : Vip3Aa20 단백질 및 PMI 단백질은 인공 위액에서 2분내 분해되었다.
- 인공장액 안정성 : Vip3Aa20 단백질 및 PMI 단백질은 인공 장액에서 각각 5분, 2분내 분해되었다.
- 열 안정성
  ① Vip3Aa20 단백질
  : 65℃에서 30분 처리 결과 조밤나방에 대한 LD_{50}을 측정할 수 없을 정도의 낮은 치사율을 보여 온도에 안정적이지 않음을 확인하였다.
  ② PMI 단백질
  : 95℃에서 30분 처리 결과 효소활성이 나타나지 않았다.

4) 안전한 식경험이 없는 단백질인 경우 경구독성실험 및 그 단백질을 가지고 있는 것으로 알려진 식물에서 그 단백질의 생물학적 기능

- 미리 절식시킨 Alpk:APfCD-1 마우스(암수 각 5 수)를 대상(실험구, 대조구)으로 Vip3Aa20 단백질을 2,000 mg/Kg body wt.을 단회강제 경구투여하고, HSD:ICR 마우스(암 6 수, 수 7 수)를 대상(실험구, 대조구)으로 PMI 단백질을 5,000 mg/Kg body wt. 단회강제 경구투여 한 결과 어떠한 사망

사례나 임상학적 징후도 발견되지 않았다. 처리에 따른 체중, 음식소비, 조직 무게 등에서 부정적 소견이 발견되지 않았다.

- A1pk:AP$_f$SD 랫트(암수 각 12마리)에 MIR162 와 일반 옥수수가 들어간 사료(10%, 41.5%)를 13주 동안 섭취시킨 결과 MIR162 시험군 및 일반 옥수수 시험군 간에는 독성학적 차이 또는 사료섭취와 관련된 차이가 나타나지 않았다. 무게, 사료 섭취량 및 이용량, 임상병리(혈액학적 검사, 응고 등), 장기중량 및 병리조직학검사를 통해 시험사료 섭취와 관련된 것으로 보이는 영향은 관찰되지 않았다.

(4) 알레르기성

(가) 유전자산물이 알레르겐으로 알려지고 있는가에 관한 자료

- Vip3Aa20 단백질 및 PMI 단백질이 사람에 대한 알레르기 유발성을 갖는다는 보고는 없다.

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

- Vip3Aa20 단백질과 PMI 단백질 모두 열처리에 쉽게 면역반응성 및 효소활성을 잃으며, 인공위액 또는 인공장액 같은 소화효소에 의해 쉽게 분해됨이 확인 되었다.

① Vip3Aa20 단백질

- *E. coli*에서 생산된 Vip3Aa20과 MIR162에서 생산된 Vip3Aa20과의 웨스턴 블롯 분석에 의한 분자량 분석, N 말단 아미노산 분석, 펩타이드 매스 맵핑(peptide mass mapping) 분석 등을 통해 동일한 것으로 판단되었다.

② PMI단백질

- *E. coli*에서 생산된 PMI와 MIR162에서 생산된 PMI와의 웨스턴 블롯(Western blot) 분석, SDS-PAGE 분석 등을 통해 N 말단의 16개 아미노산의 부가를 제외하고 동일한 것으로 판단되었다.

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

① Vip3Aa20 단백질

- Vip3Aa20 단백질의 아미노산서열과 알레르겐 서열을 FARRP(Food Allergy Research and Resource Program) 알레르겐 데이타베이스를 이용하여 유사성을 검사한 결과, 80개씩의 아미노산 펩타이드 비교에서 35%이상의 상동성을 나타내는 알레르겐 서열을 확인할 수 없었다.
- 연속하는 8개의 아미노산 잔기와 일치하는 아미노산 서열 검색에서도

상동성을 나타내는 알레르겐 서열을 확인할 수 없었다.

② PMI단백질

- PMI 단백질의 아미노산서열과 알레르겐 서열을 FARRP(Food Allergy Research and Resource Program) 알레르겐 데이터베이스를 이용하여 유사성을 검사한 결과, 80개씩의 아미노산 펩타이드 비교에서 35%이상의 상동성을 나타내는 알레르겐 서열을 확인할 수 없었다.
- 8개씩의 인접 아미노산 비교에서 PMI와 최근의 알레르겐으로 밝혀진 Rana speices(개구리의 한 종류) 유래의 α-parvalbumin(110개 아미노산) 사이에 알레르겐 서열과의 상동성 나타났다.

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

- 옥수수 및 옥수수 가공품을 모두 MIR162로 대체한다고 가정할 경우,
  - 보건복지부의 국민건강영양조사 3기(2005) 통계를 바탕으로 옥수수를 가장 많이 섭취하는 만 3~6세의 단백질 1일 섭취량 중 Vip3Aa20 단백질 및 PMI 단백질이 차지할 수 있는 비율은 각각 약 1.2×10^{-4}%, 5.4×10^{-6}%로 계산되었다.
  - 한국농촌경제연구원의 식품수급표(2005) 통계를 바탕으로, 한국인의 단백질 1일 평균 섭취량 중 Vip3Aa20 단백질 및 PMI 단백질이 차지할 수 있는 비율은 각각 약 3.3×10^{-3}%, 1.4×10^{-4}%로 계산되었다.
- 이상의 추정에 따르면 MIR162가 상업화되어 한국에서의 모든 옥수수 수요량을 MIR162로 대체한다고 가정하더라도, 한국 소비자의 1일 Vip3Aa20 단백질 및 PMI 단백질 섭취량은 한국 소비자의 1일 단백섭취량과 비교하면 매우 낮을 것으로 판단되었다.

(마) (가) 내지 (라) 의 자료에 의해 알레르기성을 판단하기 어려울 경우 다음 자료

1) 구조유사성이 확인된 알레르겐에 대한 환자 IgE항체와 유전자산물과의 결합력에 관한 자료

- 알려진 알레르겐의 하나인 Rana speices(개구리의 한 종류) 유래의 α-parvalbumin과 PMI 간에 8개의 인접한 아미노산 서열 중 한 곳에서 상동성을 보였다. 감수성이 있는 혈청 스크리닝 방법(CODEX, 2003)을 통해 PMI와 이 α-parvalbumin에 IgE 매개의 알러지를 일으키는 것으로 밝혀진 특정 개인에게서 유래한 혈청간에 어떠한 교차반응도 일어나지 않았다. 그 환자의 혈청은 PMI 단백질의 어떠한 부분도 알레르겐 유발 epitope로 인식하지 못하였다.

2) 주요 알레르겐에 대한 환자 IgE항체와 유전자산물과의 결합력에 관한 자료

- 해당사항 없음

(5) 숙주와의 차이

- 2005년 총 6개 지역(아이오와 주, 일리노이 주, 미네소타 주, 네브래스카 주, 위스콘신 주)에서 3반복으로 MIR162 알곡(grain)과 일반 옥수수 알곡을 수확하여 성분 분석을 실시했다.
- 통계방법으로는 General Linear Model을 사용하였고, 통계학적으로 유의적 차이가 나는 성분에 대해 생물학적 유의적 차이가 있는지 여부 확인을 위해 문헌범위(literature range)를 사용하였다.

(가) 주요영양성분

① 일반 성분

- 옥수수 일반성분(수분, 회분, 지방, 단백질, 탄수화물, 식이섬유(ADF, NDF, TDF), 녹말) 중 회분, NDF, 녹말에서 통계학적 유의차를 나타내었으나, 각각의 평균이 문헌범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

② 아미노산

- MIR162와 일반 옥수수 사이에 통계적 유의차가 없었다.

③ 지방산

- 지방산 중 리놀레산(linoleic acid), 리놀렌산(linolenic acid)에서 통계학적 유의차를 나타내었으나, 각각의 평균이 문헌범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

(나) 미량영양성분

- 무기물 중 Ca, Fe, P에서 통계학적 유의차를 나타내었으나, 각각의 평균이 문헌범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.
- 비타민 중 비타민 B_6, E 함량에서 통계학적 유의차를 나타났고, 비타민 A, 엽산은 유전형과 지역간에 교호작용이 있는 것으로 나타났으나, 각각의 평균이 문헌범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

(다) 내재성독소

- 옥수수에서 영양학적으로 유해한 수준의 유해생리활성물질은 생산되지 않는 것으로 알려져 있다.

(라) 영양억제인자(항영양소성분)

- 항영양소(coumaric acid, ferulic acid, inositol, phytic acid, trypsin inhibitor, Furfural) 중, ferulic acid과 p-coumeric acid 함량에서 통계학적 유의차를 나타났으나, 각각의 평균이 문헌범위 이내에 존재하였으므로 생물학적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

(마) 알레르기유발성분

- 옥수수는 식품 알레르기를 유발하는 주요 원인 식품으로 간주되지 않는다 (OECD, 2002).

(바) 삽입된 유전자의 대사산물

- Vip3Aa20 단백질은 효소활성을 나타내지 않으므로, 식물 대사계에 영향을 주지 않을 것으로 판단된다.
- PMI 단백질은 mannose-6-phosphate 기질에 대해 특이적이기 때문에 비의도적으로 대사 경로에 영향을 주지 않을 것으로 판단된다.

(사) 영양성

- MIR162 옥수수는 영양소 함량 분석결과 다른 일반 옥수수와 실질적으로 다르지 않음을 확인하고 있다.
- Ross 육계(암수 각 90수)를 MIR162와 일반 옥수수, 기존 육계 사료 원료로 사용된 옥수수(NC2006)이 들어간 사료를 44일간 섭취시킨 결과 폐사율, 증체량, 사료효율 등에서 특이적 영향은 관찰되지 않았다.

(6) 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향 (숙주가 함유한 고유의 성분을 기질로 하여 반응할 가능성)

- Vip3Aa20 단백질은 효소활성을 지니고 있지 않는 것으로 여겨지며 숙주의 대사계로부터 독립적으로 기능하고 있는 점으로부터 식물의 대사경로에 미치는 영향은 주지 않을 것으로 판단된다.
- PMI 단백질은 mannose-6-phosphate 기질에 대해 특이적이기 때문에 비의도적으로 대사 경로에 영향을 주지 않을 것으로 판단된다.

(7) 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황

- 현재 미국(2008), 호주(2009), 대만(2009), 브라질(2009), 멕시코(2010), 일본

(2010), 캐나다(2010) 및 필리핀(2010)에서 승인받았다.

6. 심사신청 자료 검토 결과

○ 이상의 검토 내용과 같이 심사규정에 따라 제출된 안전성 평가 자료를 심사한 결과, 사용된 공여체, 숙주 및 유전자재조합 과정 등이 식품으로 이용 시 안전성 문제를 유발하지 않는다고 판단되었다.

○ 유전자재조합체에 관해서도 도입된 유전자, 유전자산물, 알레르기성, 독성 및 영양성 등에서 안전성 평가에 필요한 적절한 자료가 제출되었다. 이 자료를 토대로 검토한 결과 지금까지 식품으로 섭취해온 옥수수와 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

7. 기타

○ 「유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률」에 의하여 유전자재조합 옥수수 MIR162의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성을 농촌진흥청, 국립환경과학원, 국립수산과학원에서 심사 완료하였다.