

유전자변형 옥수수 DAS-01131-3
안전성 심사 결과 보고서

2024. 12. 13

<차 례>

I. 요약	1
II. 심사 경위	2
III. 심사 경과	2
IV. 심사 방법	2
V. 심사 신청 자료 검토 결과	3
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	3
3. 공여체	3
가. 분류학적 특성	3
나. 안전한 식경험의 유무, 식품용 이외의 노출 경로	4
다. 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성	4
4. 유전자변형	4
가. 형질전환과정에 대한 정보	4
나. 도입 유전자에 대한 정보	6
5. 유전자변형 농축수산물의 특성	7
가. 유전자변형 농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보	7
나. 유전자산물에 관한 정보	8
다. 독성	9
라. 알레르기성	10
마. 숙주와의 차이	11
바. 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향	13
사. 식품용으로서의 저장 및 가공에 관한 설명	13
아. 외국의 식품유통 승인 및 식품용 등의 이용 현황	13
6. 결론	13
7. 기타	13
[참고문헌]	14

유전자변형 옥수수 DAS-01131-3

안전성 심사 결과 보고서

I. 요약

코르테바 아그리사이언스코리아는 해충저항성 및 제초제내성을 나타내는 유전자변형 옥수수 DAS-01131-3에 대해 식품의약품안전처에 「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 DAS-01131-3은 *Bacillus thuringiensis* 유래 *cry1Da2* 유전자 도입으로 해충저항성, *Streptomyces sviveus* 유래 *dgt-28 epsps* 유전자 도입으로 글리포세이트 제초제내성을 가지도록 개발하였다. 미국, 콜롬비아('23), 캐나다, 호주/뉴질랜드, 브라질, 대만, 일본('24) 등에서 승인되었다.

안전성 확인을 위해 숙주, 공여체, 유전자변형 과정, DAS-01131-3의 특성에 관한 자료를 제출받아 검토한 결과, 식품용으로 이용시 안전성 문제를 유발하지 않는 것으로 확인되었다.

DAS-01131-3 옥수수에 도입된 *cry1Da2* 및 *dgt-28 epsps* 유전자는 차세대 염기서열 분석(NGS)자료 및 서던 블롯(Southern blot) 자료를 통해 안정적으로 유지되는 것으로 확인되었다.

Cry1Da2 및 DGT-28 EPSPS 단백질에 대하여 단백질 데이터베이스('21)를 이용하여 기존에 알려진 독소 및 항영양소와 서열 유사성을 비교한 자료를 검토한 결과 상동성이 없는 것으로 확인되었고, 90일 반복투여독성 평가자료를 검토한 결과 독성이 없는 것으로 확인되었다.

또한 Cry1Da2 및 DGT-28 EPSPS 단백질에 대해 알레르겐 데이터베이스('21)를 이용하여 기존에 알려진 알레르겐과 서열 유사성을 비교한 자료를 검토한 결과, 80개의 아미노산 절편에 걸쳐 35% 이상의 상동성 및 연속된 8개 이상의 아미노산과 일치하는 알레르겐 서열이 없음이 확인되었다.

DAS-01131-3와 비유전자변형(non-GM) 대조군 옥수수의 주요영양성분, 미량영양성분, 항영양소 등의 함량을 비교한 결과 유의한 차이가 없었으며, 육계(broiler)를 대상으로 DAS-01131-3과 대조군 옥수수를 42일간 급이 시험한 결과 영양성에 차이가 없는 것으로 확인되었다.

따라서, 심사위원회는 유전자변형 옥수수 DAS-01131-3에 대해 지금까지 식품으로 섭취해온 옥수수와 비교하여 안전성에 문제가 없는 것으로 결론 내렸다.

II. 심사경위

- 코르테바 아그리사이언스코리아는 해충저항성 및 글리포세이트 제초제내성을 나타내는 유전자변형 옥수수 DAS-01131-3를 식품위생법 제18조에 따른 안전성 심사를 받기 위하여 2022년 7월 29일 식품의약품안전처에 「유전자변형식품등의 안전성 심사 등에 관한 규정」(이하 '심사 규정'이라 한다)에서 규정한 관련 자료를 첨부하여 심사 신청하였다.
- 이에 식품의약품안전처장은 본 품목이 심사규정에 따라 안전성 평가가 이루어졌는지 여부에 대하여 「유전자변형식품등 안전성 심사위원회」(이하 '심사위원회'라 한다)에 심사의뢰하고,
- 심사위원회는 신청자가 제출한 자료에 근거하여 아래와 같이 심사규정에 따라 안전성평가가 이루어졌는지 여부를 확인하였다.

III. 심사경과

- 심사대상품목

대상품목	신청자	개발자
유전자변형 옥수수 DAS-01131-3	코르테바 아그리사이언스코리아	Pioneer Hi-Bred International, Inc.

- 심사경과

- 2022년 7월 29일 : 안전성 심사 신청
- 2023년 10월 24일 : 1차 심사위원회
- 2024년 2월 20일 : 2차 심사위원회
- 2024년 6월 18일 : 3차 심사위원회

IV. 심사방법

- 본 품목과 관련하여 신청된 유전자변형농축수산물에 심사 규정의 적용대상인지를 확인하였습니다.
- 제출된 안전성 심사 자료가 심사규정에서 요구하는 자료를 갖추었는지를 확인한 후 자료의 내용을 토대로 안전성 심사 자료를 심사하였다.

V. 심사 신청 자료 검토 결과

1. 유전자변형농축수산물 의 개발목적 및 이용방법

- DAS-01131-3 옥수수에서 발현되는 *cry1Da2* 유전자는 *Bacillus thuringiensis*에서 유래한 *cry1Da2* 유전자서열로 이루어졌으며, Cry1Da2 단백질을 발현한다. Cry1Da2 단백질은 일부 인시류 해충의 중장 상피조직(midgut epithelium)의 파괴를 유도함으로써 해충저항성을 부여한다.
- DAS-01131-3 옥수수에서 발현되는 *dgt-28 epsps*(5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) 유전자는 *Streptomyces svicens* 유래로서, 글리포세이트 제초제에 내성을 부여하는 DGT-28 EPSPS 단백질을 발현한다.

2. 속주

가. 분류학적 특성

- 과(Family): Poaceae(Gramineae)
- 속(Genus): *Zea*
- 종(Species): *mays*
- 일반명(Common Name): 옥수수(maize, corn)

나. 재배·사육 및 품종개량의 역사

- 현재 경작되고 있는 옥수수의 기원은 teosinte로 추정되며¹⁾, 약 6000년 전 옥수수의 작물화(domestication)가 시작된 것으로 보인다²⁾. 15세기 유럽인들이 미주 지역 중 기후가 온화한 지역에 도착한 이후 세계로 전파되었다²⁾. 현재 미국에서 재배되는 옥수수의 대다수가 잡종 옥수수이며, 1920년대에 잡종 옥수수의 재배가 시작되었다³⁾.

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

- 식용 또는 사료용 옥수수에서 유의한 수준의 독성 또는 알레르기성은 보고된 바 없으며, 알레르기 유발 가능성이 낮은 식품이다⁴⁾.

라. 안전한 식경험의 유무

- 옥수수는 전분, 감미료(과당, 옥수수 시럽 등), 옥수수유, 옥수수 가루 등 다양하게 가공되어 식품원료로 사용되고 있다.

3. 공여체

가. 분류학적 특성

- 1) *cry1Da2* 유전자의 공여체 *Bacillus thuringiensis*
 - 과(Family): Bacillaceae
 - 속(Genus): *Bacillus*
 - 종(Species): *thuringiensis*

2) *dgt-28 epsps* 유전자의 공여체 *Streptomyces sviceps*

- 과(Family): Streptomycetaceae
- 속(Genus): *Streptomyces*
- 종(Species): *sviceps*
- 계통(Strain): ATCC 29083

나. 안전한 식경험의 유무, 식품용 이외의 노출 경로

- *cry1Da2*의 공여체인 *Bacillus thuringiensis*(*Bt*)은 수십년간 생물농약으로서 안전하게 이용한 경험이 있는 그람 양성 세균이다^{5~6)}. *Bt*는 토양 및 채소, 면화, 담배, 나무 작물, 산림 작물 등 식물에서 흔히 발견된다. 여러 Cry 단백질이 지난 40년간 미생물 *Bt* 제형 중 안전하고 효과적인 해충 방제제로 이용되고 있다. 일부 Cry 단백질은 안전하고 효과적인 해충 방제제로 이용되고 있을 뿐만 아니라, 유전자 변형 작물을 통해 안전한 이용 경험이 있다⁷⁾.
- *dgt-28 epsps*의 공여체인 *Streptomyces sviceps*은 토양 중 흔히 존재하고, *Streptomyces* 속 중 식물이나 동물에 대해 병원성이 알려진 종은 매우 적다^{8~9)}. *Streptomyces sviceps*가 알레르기성 또는 독성이 있다고 알려진 바 없다^{8~9)}.

다. 공여체 및 근연종의 독성, 항영양성, 알레르기성

- *cry1Da2*의 공여체인 *Bacillus thuringiensis*(*Bt*)은 안전성이나 알레르기 유발성에 관한 보고는 없다.
- *dgt-28 epsps*의 공여체인 *Streptomyces sviceps*은 토양 중에 흔히 존재하는 호기성 그람 양성균으로 식물, 인체, 기타 동물에 대해 병원성을 나타내지 않으며, 안전성에 대한 부정적인 보고 및 알레르기성에 대한 보고는 없다.

4. 유전자변형

가. 형질전환 과정에 대한 정보

1) 형질전환 방법

- DAS-01131-3 옥수수는 숙주에 아그로박테리움법(*Agrobacterium tumefaciens*)으로 T-DNA를 도입하여 개발되었다.¹⁰⁾
- 숙주 이삭에서 채취한 미성숙 배아(embryo)에 플라스미드 벡터 PHP88492가 포함된 *Agrobacterium tumefaciens*를 접종한 후, 미성숙 배아와 아그로박테리움을 함께 배양하였다. 잔류 아그로박테리움 제거 과정을 거쳐, 새순(shoot)과 뿌리(root) 유도를 위한 발아 배지를 거쳐 T0 세대 식물체가 선발되었으며, 플라스미드 벡터 PHP88492 내 T-DNA 서열의 도입 유무 확인을 위해 PCR 분석이 수행되었다.^{11,12)}

2) 벡터에 대한 정보

가) 기원

- 형질전환에 사용된 플라스미드 벡터 PHP88492는 *cry1Da2* 발현 카세트 (*ubiZM1* 프로모터, *ubiZM1* 5' UTR, *ubiZM1* 인트론, *cry1Da2* 유전자 및 *ubiZM1* 터미네이터) 및 *dgt-28 epsps* 발현 카세트(*ubiZM1* 프로모터, *ubiZM1* 5' UTR, *ubiZM1* 인트론, *dgt-28 epsps* 유전자 및 *ubiZM1* 터미네이터)의 구성되었다.
- 각 벡터의 주요 구성 요소의 기원이 제시되었다.

나) 숙주에서의 확인

- 도입된 DNA는 플라스미드 벡터 PHP88492 유래 서열로 구성된 것으로서 염기 서열 분석^{11,12)}으로 T-DNA 서열 및 주변 염기서열을 확인하였고, 차세대 염기 서열(NGS)¹³⁾ 분석으로 단일사본의 T-DNA가 도입되었음이 확인되었다.

다) 숙주에서의 기능

- *cry1Da2* 유전자는 Cry1Da2 단백질이 발현되어 일부 인시류 해충의 중장 상피 조직 파괴를 유도함으로써 해충 저항성을 부여한다.
- *dgt-28 epsps* 유전자는 DGT-28 EPSPS 단백질이 발현되어 chloroplast transit peptide에 의해 옥수수 엽록체로 이동하여 식물체에 글리포세이트 제초제 내성 형질을 나타낸다.

라) 제한효소 절단 지도

- DAS-01131-3 옥수수에 도입된 T-DNA 영역의 제한효소 절단지도는 제시되었다¹¹⁾.

마) 유해염기 서열 유무

- 도입된 DNA 서열은 발현 카세트 도입에 이용된 PHP88492 플라스미드 유래 서열로 구성되며 유해 염기서열을 포함하지 않았다.

바) 전달성에 관한 정보

- 플라스미드 벡터 PHP88492는 T-DNA를 옥수수 게놈으로 전달하는데 필요한 우측 및 좌측 경계서열을 포함하고 있으며, 이는 T-DNA를 옥수수 게놈으로 이동시키는데 필요하다. 하지만 형질전환 이후 T-DNA 경계 영역이 온전하게 남아 있지 않으므로 T-DNA 내의 유전자가 다른 생물로 전달될 가능성은 없었다.

3) 중간숙주에 대한 정보

- 아그로박테리움을 매개로 플라스미드 벡터 PHP88492 T-DNA 영역에서 유래한

의도했던 유전자 발현 카세트를 포함한 DNA 서열이 옥수수 게놈에 도입되었다.

나. 도입유전자에 대한 정보

1) 구성 유전자의 특성, 염기서열, 제한효소 절단지도

가) 선발표지유전자

- *dgt-28 epsps* 유전자는 *Streptomyces sviveus* 유래로 글리포세이트 제초제내성을 가진 것으로 DAS-01131-3 옥수수 선발에 이용되었다.

나) 조절인자

- 도입된 구성 유전자의 크기 및 명칭이 제시되었다.

다) DNA의 기능에 영향을 주는 기타 인자

- 삽입유전자 발현과 관련된 인자 이외의 다른 염기서열은 삽입되지 않았다^{11,12)}. 플라스미드 벡터 PHP88492의 T-DNA가 landing pad 영역 2개와 nuclease 표적 인식 위치를 포함하지만 관련 recombinase가 식물체 내에 존재하지 않아 해당 서열들은 DNA의 기능에 영향을 주지 않는다.

2) 크기 및 명칭

- 도입된 구성 유전자의 크기 및 명칭이 제시되었다.

3) 완성된 발현 벡터내의 유전자 염기서열의 위치 및 방향성

- 플라스미드 벡터 PHP88492의 크기는 18,024 bp로 각 구성요소의 위치와 방향성이 제시되었다^{11,12)}.

4) 구성 유전자의 기능

- 구성 유전자의 기능이 제시되었다.

5) 유해염기서열의 유무

- 도입된 DNA 서열은 의도했던 발현 카세트 도입에 이용된 플라스미드 벡터 PHP88492 유래 서열로 구성되며 유해 염기서열을 포함하지 않았다.

6) 외래전사해독프레임의 유무와 그 전사 및 발현 가능성

- DAS-01131-3 옥수수의 삽입 유전자 서열에 대해 외래전사해독프레임(ORF) 유무를 확인한 자료¹⁴⁾를 검토한 결과, Cry1Da2, DGT-28 EPSPS 단백질 이외의 번역산물이 생성될 가능성은 없으며, 잠재적 알레르기성, 독성 또는 기타 안전성이 우려되는 단백질과 서열 유사성이 없는 것으로 확인되었다.

7) 목적하는 유전자 이외의 염기서열의 혼입

- DAS-01131-3 옥수수 도입 DNA에 대한 Sanger 방법에 의한 염기서열 분석

^{11,12)} 및 NGS/SbS(Next generation sequencing/Southern by Sequencing) 분석 자료¹³⁾를 검토한 결과 삽입유전자 이외의 염기서열은 혼입되지 않았음이 확인되었다.

5. 유전자변형농축수산물의 특성

가. 유전자변형농축수산물 내 도입된 유전자에 관한 정보

1) 유전자변형농축수산물의 계놈에 삽입된 유전자의 특성 및 기능

- *cry1Da2* 유전자는 *cry1Da2* 유전자 서열로 이루어졌으며, Cry1Da2 단백질을 발현하여 일부 인시류 해충의 중장 상피조직의 파괴를 유도함으로써 해충저항성 형질을 나타낸다.
- *dgt-28 epsps* 유전자는 DGT-28 EPSPS 단백질을 발현하여 chloroplast transit peptide (TraP8)에 의해 옥수수 엽록체로 이동하여 식물체에 글리포세이트 제초제 내성 형질을 나타낸다.

2) 삽입부위의 수

- NGS/SbS 분석자료¹³⁾, 멘델 분리비 분석자료¹⁵⁾를 검토한 결과, 의도했던 도입 DNA 단일사본이 DAS-01131-3 옥수수에 존재하며, 멘델의 유전 법칙에 따라 유전되고 있음이 확인되었다.

3) 각 삽입부위의 삽입유전자의 구성

가) 복제수, 염기서열

- 차세대 염기서열(NGS) 분석자료^{11~13)}를 검토한 결과 *cry1Da2* 유전자 발현 카세트, *dgt-28 epsps* 유전자 발현 카세트를 포함하는 도입하고자 의도했던 DNA가 단일 자리에 단일사본으로 삽입되었고, 플라스미드 backbone은 존재하지 않으며 도입된 염기서열의 온전성이 확인되었다.

나) 이미 알려져 있는 독소나 항영양소를 암호화하는 유전자와의 상동성

- Cry1Da2, DGT-28 EPSPS 단백질의 아미노산 서열을 단백질 데이터베이스(NCBI non-redundant 단백질 DB, '21)를 이용하여 검색한 결과, 독소 및 항영양소와 유의한 서열 상동성이 나타나지 않았다¹⁴⁾.

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

- 삽입유전자 및 인접하는 숙주 계놈 유전자를 대상으로 외래전사해독프레임(ORF)이 검색되었고¹⁴⁾, ORF 아미노산 서열에 대해 독소 및 알레르겐 데이터베이스를 이용하여 분석한 자료¹⁴⁾를 검토한 결과 서열 유사성은 없는 것으로 확인되었다.

5) 안정성에 관한 사항

가) 복수세대에서 삽입된 유전자의 서열, 크기

- DAS-01131-3에 존재하는 삽입 DNA의 안정성을 평가하기 위해 5세대의 시료를 수집하여 Southern blot의 분석자료¹⁶⁾를 검토한 결과, 5세대에 걸쳐 삽입 DNA가 유지됨이 확인되었다.
- 5개 세대에 대한 분리비를 측정한 결과¹⁵⁾ 멘델법칙에 따른 분리 비율이 관찰되어 단일 자리에 하나의 사본이 삽입된 것으로 확인되었다.

나) 복수세대에서 발현부위, 발현시기, 발현량

- 복수세대(2세대) 뿌리, 잎, 화분, 줄기, 경엽, 곡립에서 Cry1Da2 및 DGT-28 EPSPS 단백질의 발현을 효소면역측정법(ELISA)으로 분석한 결과 2세대에 걸쳐 발현됨이 확인되었다¹⁷⁾.

나. 유전자산물에 관한 정보

1) 유전자산물의 화학적 성질

- Cry1Da2 단백질은 603개 아미노산으로 구성되어 있으며 분자량은 약 68 kDa이다.
- DGT-28 EPSPS 단백질은 481개 아미노산으로 구성되어 있으며 분자량은 약 51 kDa이다. 단백질은 엽록체로 이동하면서 chloroplast transit peptide(65개 아미노산)가 제거되어 mature 형태의 DGT-28 EPSPS 단백질(약 45 kDa)이 된다.

2) 유전자산물의 기능

- Cry1Da2 유전자가 도입되어 Cry1Da2 단백질을 발현한다. Cry1Da2 단백질은 pore를 형성하는 기능을 가지는데, 인시류 해충의 중장 상피조직의 파괴를 유도함으로써 해충저항성을 부여한다¹⁸⁾.
- *dgt-28 epsps* 유전자가 도입되어 DGT-28 EPSPS 단백질을 발현한다. DGT-28 EPSPS 단백질은 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase(EPSPS) 효소로 시키메이트 경로(shikimate pathway)에서 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate와 무기인(inorganic phosphate)을 생산하여 제초제내성을 나타낸다^{19)~20)}.

3) 발현단백질의 아미노산 서열의 번역 후 변이 유무

- Cry1Da2 및 DGT-28 EPSPS 단백질의 번역 후 변이 유무를 확인하기 위한 당화 분석 자료^{21~22)}가 제출되었으며, 번역 후 변이가 일어나지 않은 것으로 확인되었다.

4) 발현단백질의 구조적 변화 여부

- 미생물 생산 Cry1Da2 및 DGT-28 EPSPS 단백질과 DAS-01131-3에서 생산된 단백질의 동등성은 N-말단 분석, LC MS/MS 질량분석, Western blot, 분자량 분석, 기능활성 분석, 당화 분석을 통하여 확인한 자료^{21~22)}가 제출되었으며, 두 단백질의 동등함이 확인되었다.

5) 새로운 특성의 표현형

- 새롭게 도입된 *cry1Da2* 및 *dgt-28 epsps* 유전자는 Cry1Da2 및 DGT-28 EPSPS 단백질을 발현하여 인시목 해충저항성, 글리포세이트 제초제내성 특성을 나타내었다.

6) 유전자산물의 발현부위 및 발현량

- 2020년 미국 및 캐나다의 6개 포장시험 장소에서 4개 반복구로부터 뿌리, 잎, 화분, 경엽, 곡립의 시료가 수집되었고, 다중면역분석법(multiplexed immunoassay)으로 단백질 발현량을 분석한 자료¹⁷⁾가 제출되었다.
- Cry1Da2 평균 단백질 발현 수준은 잎에서 20~52 ng/mg dw, 화분에서 9.6~42 ng/mg dw, 줄기에서 17~24 ng/mg dw, 경엽에서 11~30 ng/mg dw, 뿌리에서 9.6~42 ng/mg dw, 알곡에서 4.2~12 ng/mg dw이었다.
- DGT-28 EPSPS 단백질 발현 수준은 잎에서 <LLOQ~170 ng/mg dw, 화분에서 <LLOQ~31 ng/mg dw, 줄기에서 11~30 ng/mg dw, 경엽에서 17~54 ng/mg dw, 뿌리에서 <LLOQ~20 ng/mg dw, 알곡에서 14~39 ng/mg dw이었다.

다. 독성

1) 유전자산물이 단백질인 경우

가) 발현단백질의 안전한 식경험의 유무

- *cry1Da2*의 공여체인 *Bacillus thuringiensis*(*Bt*)은 수십년간 생물농약으로서 안전하게 이용한 경험이 있는 그람 양성 세균이다^{5~6)}. 여러 Cry 단백질이 지난 40년간 미생물 *Bt* 제형 중 안전하고 효과적인 해충 방제제로 이용되고 있다. 일부 Cry 단백질은 안전하고 효과적인 해충 방제제로 이용되고 있을 뿐만 아니라, 유전자 변형 작물을 통해 안전한 이용 경험이 있다⁷⁾.
- *dgt-28 epsps*의 공여체인 *Streptomyces sviveus*은 알레르기성 또는 독성이 있다고 알려진 바 없다^{8~9)}. 다른 천연(natural) 및 개량된 EPSPS 단백질들이 글리포세이트 내성을 부여하는 것이 이미 알려져 있으며, 이미 상업화된 여러 품목들에서 발현되는 EPSPS 단백질들이 안전하게 이용되고 있는 경험이 있다²⁴⁾.

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

- Cry1Da2, DGT-28 EPSPS 단백질의 아미노산 서열을 단백질 데이터베이스(NCBI non-redundant 단백질 DB, '21)를 이용하여 분석한 자료¹⁴⁾를 검토한 결과, 서열 유

사성은 없는 것으로 확인되었다.

다) 발현단백질의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 인공 위·장액 조건에서 Cry1Da2, DGT-28 EPSPS 단백질의 소화성을 평가한 결과, 발현 단백질은 인공 위·장액에서 분해되었으며, 열처리에 의해 활성이 소실되는 것으로 확인되었다^{24)~31)}.

라) 발현단백질의 단회투여독성

(1) 단회투여독성

- CrI:CD1(ICR) 마우스(암, 수 각 6마리)를 대상으로 Cry1Da2 및 DGT-28 EPSPS 단백질을 각각 5,000 mg/kg bw 및 2,000 mg/kg bw로 투여하고 14일 동안 관찰한 결과, 폐사율, 체중, 임상 증상, 육안 병리 검사 등에 미치는 영향은 없었다^{32~33)}.

(2) 90일 반복투여독성

- SD 랫드(암, 수 각 16마리/군)를 대상으로 90일간 DAS-01131-3을 포함한 사료를 급이한 처리군과 대조군을 비교한 결과, 폐사율, 체중, 사료섭취량, 안 검사, 임상 증상(행동·외형 등), 요검사, 혈액학, 혈액 생화학, 육안병리검사, 장기 중량, 조직병리검사에서 시험물질과 관련된 부정적 영향이 관찰되지 않았다³⁴⁾.

라. 알레르기성

1) 유전자산물이 알레르겐으로 알려져 있는지 여부

- Cry1Da2 및 DGT-28 EPSPS 단백질은 알레르기성이 있는 것으로 보고된 사례는 없다.

2) 유전자산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 인공 위·장액 조건에서 Cry1Da2, DGT-28 EPSPS 단백질의 소화성을 평가한 결과 발현 단백질은 인공 위·장액에서 분해되었으며, 열처리에 의해 활성이 소실되는 것으로 확인되었다^{24)~31)}.

3) 유전자산물 중 이미 알려져 있는 알레르겐과의 상동성

- Cry1Da2 및 DGT-28 EPSPS 단백질의 아미노산 서열을 이미 알려졌거나 추정된 알레르겐 데이터베이스인 COMPARE 데이터베이스('21)를 이용하여 비교한 결과, 80개 이상의 아미노산 잔기로서 35%이상 상동성 및 연속한 8개 아미노산 잔기가 일치하는 서열의 상동성이 관찰되지 않았다¹⁴⁾.

4) 유전자산물이 1일 단백질 섭취량의 유의한 양을 차지하고 있는지 여부

- 국민영양통계(2019)³⁵⁾에 따르면 1인당 일일 평균 단백질 섭취량은 71.1 g이었으며, 1인당 일일 평균 옥수수 섭취량은 2.66 g(만 1~2세), 4.47 g(만 50~64세)이었다.
- 1일 단백질 섭취량 중 Cry1Da2 단백질이 차지할 수 있는 비율은 국민영양통계를

바탕으로 $3.37 \times 10^{-5}\%$ (만 1~2세) 및 $5.66 \times 10^{-5}\%$ (만 50~64세)로 추산되었고, 2019 식품수급표(2020)³⁶⁾를 바탕으로 $5.94 \times 10^{-4}\%$ 로 추산되었다.

- 1일 단백질 섭취량 중 DGT-28 EPSPS 단백질이 차지할 수 있는 비율은 국민영양 통계를 바탕으로 $1.14 \times 10^{-4}\%$ (만 1~2세) 및 $1.92 \times 10^{-4}\%$ (만 50~64세)로 추산되었고, 2019 식품수급표(2020)³⁶⁾를 바탕으로 $2.01 \times 10^{-3}\%$ 로 추산되었다.
- DAS-01131-3 옥수수가 상업화되어 한국에서의 옥수수 섭취량 또는 공급량 전체를 DAS-01131-3 옥수수로 대체한다고 가정하더라도, Cry1Da2 및 DGT-28 EPSPS 단백질이 국내 소비자의 단백질 섭취량에서 차지하는 비율은 매우 낮을 것으로 추산되었다.

마. 숙주와의 차이

- 2020년 미국 및 캐나다의 8개 지역에서 4반복으로 글루포시네이트 처리된 DAS-01131-3 곡립과 비변형 대조군 옥수수 곡립, 비변형 상업종(참조품종) 옥수수 곡립을 수확하여 성분분석을 실시하였으며, OECD 합의문의 주요 작물별 검토 성분을 참고하여 분석한 자료³⁷⁾가 제출되었다. 통계적 유의적 차이가 관찰된 성분은 참조범위³⁸⁾, 허용범위³⁹⁾ 및 문헌범위⁴⁰⁾와 비교한 결과, 모두 허용범위 또는 문헌범위 내에 포함되었다.

1) 주요영양성분

(1) 일반성분

- 수분, 조단백, 조지방, 조섬유, 산성세제불용성섬유(ADF), 중성세제불용성섬유(NDF), 총 식이섬유(TDF), 회분 및 탄수화물을 분석하였다.
- 곡립 중 수분에서 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 참조범위³⁸⁾, 허용범위³⁹⁾ 및 문헌범위⁴⁰⁾ 내에 포함되어 생물학적으로 유의차가 없었다.

(2) 지방산

- 라우르산(C12:0), 미리스트산(C14:0), 팔미트산(C16:0), 팔미톨레산(C16:1), 헵타데칸산(C17:0), 헵타데센산(C17:1), 스테아르산(C18:0), 올레산(C18:1), 리놀레산(C18:2), α -리놀렌산(C18:3), 아라키드산(C20:0), 에이코센산(C20:1), 에이코사디엔산(C20:2), 베헨산(C22:0), 리그노세르산(C24:0)을 분석하였다.
- 분석한 지방산(15개) 중 11개 항목이 통계 분석되었다. 분석 결과, 곡립 중 팔미톨레산(C16:1)에서 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 참조범위³⁸⁾, 허용범위³⁹⁾ 및 문헌범위⁴⁰⁾ 내에 포함되어 생물학적으로 유의차가 없었다.
- 4개 항목(C12:0, C14:0, C17:1, C20:2)은 DAS-01131-3 옥수수 곡립 및 비변형 대조군 옥수수 곡립 분석치가 모두 정량한계 미만이었으므로 통계분석에서 제외했다.

(3) 아미노산

- 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산, 시스틴, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 라이신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판,

티로신, 발린을 분석하였다.

- 곡립 중 분석한 아미노산(18개) 모두 통계적으로 유의적인 차이가 없었다.

2) 미량영양성분

(1) 무기질

- 칼슘, 구리, 철, 마그네슘, 망간, 인, 칼륨, 나트륨, 아연을 분석하였다.
- 분석한 무기질(9개) 중 곡립 중 칼슘(calcium), 망간(manganese), 아연(zinc)에서 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 문헌범위⁴⁰⁾ 내에 포함되어 생물학적으로 유의차가 없었다.

(2) 비타민

- β-카로틴, 티아민, 리보플라빈, 나이아신, 판토텐산, 피리독신, 엽산, α-토코페롤, β-토코페롤, γ-토코페롤, δ-토코페롤, 총 토코페롤을 분석하였다.
- 분석한 비타민(12개) 중 11개 항목이 통계분석되었다. 분석 결과, 곡립 중 β-카로틴 및 비타민 B5(판토텐산)에서 통계적으로 유의적인 차이를 보였으나, 참조범위³⁸⁾, 허용범위³⁹⁾ 및 문헌범위⁴⁰⁾ 내에 포함되어 생물학적으로 유의차가 없었다.
- δ-토코페롤은 DAS-01131-3 옥수수 곡립 및 비변형 대조군 옥수수 곡립 분석치가 모두 정량한계 미만이었으므로 통계분석에서 제외했다.

3) 내재성독소

- 옥수수에 대한 오랜 기간의 안전한 식경험을 통해, 인체 및 동물의 건강에 부정적인 영향을 줄 수 있는 내재성 독소가 옥수수에 존재한다는 보고는 없다.

4) 항영양소

- p-쿠마르산, 페룰산, 퍼퓨럴, 이노시톨 피틴산, 라피노오스, 트립신 저해제를 분석하였다.
- 분석한 7개 항목 중 6개 항목이 통계분석되었다. 분석 결과, 곡립 중 분석한 항영양소 모두 통계적으로 유의적인 차이가 없었다.
- 퍼퓨럴(furfural)은 DAS-01131-3 옥수수 곡립 및 비변형 대조군 옥수수 곡립 분석치가 모두 정량한계 미만으로 나타났기 때문에 통계분석에서 제외했다.

5) 알레르기 유발성분

- 옥수수는 주요한 알레르기성 식품으로 간주되지 않는다.

6) 삽입된 유전자산물의 대사산물

- Cry1Da2 단백질은 해충저항성을 부여하는 형질, DGT-28 EPSPS 단백질은 기질특이적으로 글리포세이트 제초제내성을 부여하는 형질을 제외하면 관행 옥수수와 비교하여 DAS-01131-3 유래 식품의 성분에 의도된 변화가 없다. 따라

서, DAS-01131-3 옥수수에서 발현된 Cry1Da2 및 DGT-28 EPSPS 단백질이 옥수수 식물체의 내재 성분들에 작용하여 새로운 대사산물을 생성하지 않을 것으로 설명하였다.

7) 영양성

- 육계(암수 각 60마리, 총 120마리)를 이용하여 DAS-01131-3, 대조군 및 상업화된 옥수수(참조군) 곡립을 함유한 사료를 42일간 섭취시키고, 생존율, 사료 섭취량, 육계의 증체량, 폐사율, 폐사율을 고려한 사료효율, 장기 수율, 도체수율 등을 관찰한 결과 특이적 영향은 관찰되지 않았다⁴¹⁾.

바. 유전자산물이 대사경로에 미치는 영향

- Cry1Da2 단백질은 인시류 해충의 중장 상피조직 파괴를 유도함으로써 해충저항성을 부여하는데, 인시류 5종에 대해서 활성을 보였고, 다른 인시류 4종 및 초시류 1종에 대해서는 유의한 활성을 보이지 않았다¹⁸⁾. Cry1Da2 단백질이 식물체 내에서 효소 활성을 가진다는 보고는 없다.
- DGT-28 EPSPS 단백질은 시키메이트 경로(shikimate pathway)에서 S3P(shikimate-3-phosphate)와 PEP(phosphoenolpyruvate)의 반응을 촉매하여 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate와 무기인(inorganic phosphate)을 생산하는 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) 효소로서 식물체에 글리포세이트 제초제 내성을 부여한다.
- 이처럼 Cry1Da2 및 DGT-28 EPSPS 단백질은 각각 고유의 작용기작을 가지며, 기질에 특이적이다. 따라서 옥수수 식물체의 내재성 대사경로에 영향을 줄 가능성은 낮다.

사. 식품용으로서의 저장 및 가공에 관한 설명

- DAS-01131-3 옥수수의 저장 및 가공은 기존의 상업화된 옥수수와 같다.

아. 외국의 식품유통 승인 및 식용 등의 이용 현황

- 미국, 콜롬비아('23), 캐나다, 호주/뉴질랜드, 브라질, 대만, 일본('24) 등에서 승인되었다.

6. 결론

- 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 옥수수와 비교하여 안전성에 문제가 없음이 확인되었다.

7. 기타

- 가. 「유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률」에 따라 유전자변형 옥수수 DAS-01131-3의 작물재배환경, 자연생태계, 해양생태계에 대한 환경위해성은 농식품부(농촌진흥청), 환경부(국립생태원), 해양수산부(국립수산물과학원)에서 심사 완료하였다.
- 나. 유전자변형 옥수수 DAS-01131-3의 정성 및 정량 시험법에 대한 검토가 완료되었다.
- 다. 유전자변형 옥수수 DAS-01131-3의 안전성 심사 결과보고서(안)을 식품의약품안전처 누리집 및 정책메일서비스(PMS)에 2024년 11월 4일 ~ 12월 3일까지 공개하여 의견을 수렴한 결과, 접수된 의견은 없었다.

[참고문헌]

1. OECD(Organisation for Economic Co-operation and Development) (2003) Consensus Document on the Biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize). ENV/JM/MONO(2003)
2. OGTR(Office of the Gene Technology Regulator) (2008) The Biology of *Zea mays* L. ssp *mays*(maize or corn)
3. Wych, (1988) Production of hybrid seed corn, Agronomy Monograph no. 18, 3rd edition
4. OECD (2002) Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Maize (*Zea Mays*): Key Food and Feed Nutrients, Anti-Nutrients and Secondary Plant Metabolites. Organisation for Economic Co-operation and Development, ENV/JM/MONO(2002)25
5. US-EPA(1998) Reregistration Eligibility Decision (RED): *Bacillus thuringiensis*. United States Environmental Protection Agency, EPA738-R-98-004, <http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/0247.pdf>
6. US-EPA(2001) Biopesticides registration action document: *Bacillus thuringiensis* (Bt) plant-incorporated protectants (October 15, 2001). United States Environmental Protection Agency, http://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/pip/bt_brad.htm
7. ISAAA(2019) GM Approval Database. International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications, <https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/default.asp>
8. Bignell DRD, Huguet-Tapia JC, Joshi MV, Pettis GS, Loria R (2010) What does it take to be a plant pathogen: genomic insights from *Streptomyces* species. *Antonie Van Leeuwenhoek* 98: 179-194
9. Kampfer P (2006) The Family Streptomycetaceae, Part I: Taxonomy. In M Dworkin, S Falkow, E Rosenberg, K-H Schleifer, E Stackebrandt, eds, *The Prokaryotes: Volume 3: Archaea. Bacteria: Firmicutes, Actinomycetes*, Ed 3. Springer-Verlag New York, pp 538-604
10. Zupan JR and Zambryski P (1995) Transfer of T DNA from *Agrobacterium* to the Plant Cell. *Plant Physiology* 107: 1041-1047
11. Sequence Characterization of Insert and Flanking Regions of DAS-Ø1131-3 Maize(개발사, '21)
12. Characterization of the Genomic Border Regions of Maize Event DAS-Ø1131-3(개발사, '21)
13. Southern-by-Sequencing Analysis of the T1 Generation of DAS-Ø1131-3 Maize(개발사, '21)
14. Reading Frame Analysis at the Insertion Site of Maize Event DAS-Ø1131-3(개발사, '21)
15. Segregation Analysis and Tissue Production of Multiple Maize Generations Containing Event DAS-Ø1131-3(개발사, '20)
16. Characterization of DAS-Ø1131-3 Maize for Insertion Stability in Five Generations Using Southern Blot Analysis(개발사, '21)
17. Expressed Trait Protein Concentration of a Maize Line Containing Event DASØ1131-3(개발사, '20)
18. Evaluation of Cry1Da2 Protein Activity Against Multiple Insect Species: *Helicoverpa zea*,

- Trichoplusia ni*, *Ostrinia nubilalis*, *Spodoptera frugiperda*, *Vanessa cardui*, *Chrysodeixis includens*, *Diatraea saccharalis*, *Diatraea grandiosella*, *Anticarsia gemmatilis* and *Diabrotica virgifera virgifera*(개발사, '21)
19. Forlani G, Parisi B, Nielsen E (1994) 5-enol-Pyruvyl-Shikimate-3-Phosphate Synthase from *Zea mays* Cultured Cells (Purification and Properties). *Plant Physiology* 105: 1107-1114
 20. Griffin SL, Chekan JR, Lira JM, Robinson AE, Yerkes CN, Siehl DL, Wright TR, Nair SK, Cicchillo RM (2021) Characterization of a Glyphosate-Tolerant Enzyme from *Streptomyces svecius*: A Distinct Class of 5-Enolpyruvylshikimate-3-phosphate Synthases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 69: 5096-5104
 21. Registration-Specific Summary of the Characterization Results of the DAS1131 Maize and Microbially Derived Cry1Da2 Proteins
 22. Registration-Specific Summary of the Characterization Results of the DAS1131 Maize and Microbially Derived DGT-28 EPSPS Proteins
 23. CERA - ILSI Research Foundation (2011) A review of the environmental safety of the CP4 EPSPS protein. *Environmental Biosafety Research* 10: 5-25
 24. Characterization of the In Vitro Pepsin Resistance of Cry1Da2 Using SDS-PAGE and Western Blot Analysis(개발사, '21)
 25. Characterization of the In Vitro Pancreatin Resistance of Cry1Da2 Using SDS-PAGE and Western Blot Analysis(개발사, '21)
 26. Characterization of Cry1Da2 Following In Vitro Pepsin and Sequential Pancreatin Digestion Using SDS-PAGE Analysis(개발사, '21)
 27. Determination of the Biological Activity of Heat-Treated Cry1Da2 Protein Incorporated in an Artificial Diet and Fed to *Spodoptera frugiperda*(개발사, '21)
 28. Characterization of the In Vitro Pepsin Resistance of DGT-28 EPSPS Using SDS-PAGE and Western Blot Analysis(개발사, '21)
 29. Characterization of the In Vitro Pancreatin Resistance of DGT-28 EPSPS Using SDS-PAGE and Western Blot Analysis(개발사, '21)
 30. Characterization of DGT-28 EPSPS Following In Vitro Pepsin and Sequential Pancreatin Digestion Using SDS-PAGE Analysis(개발사, '21)
 31. Determination of the Enzymatic Activity of Heat-Treated DGT-28 EPSPS Protein(개발사, '21)
 32. Cry1Da2 protein: Acute Oral Toxicity Study in Mice(개발사, '20)
 33. DGT-28 EPSPS Protein: Acute Oral Toxicity Study in Crl:CD1(ICR) Mice(개발사, '21)
 34. 90-Day Rat Feeding Study with Grain from Maize Containing Event DAS-Ø1131-3(개발사, '21)
 35. 한국보건산업진흥원, 2019 국민건강영양통계(<https://www.khidi.or.kr/nutristat>)
 36. 한국농촌경제연구원, 2019 식품수급표('20) (<https://www.krei.re.kr>)
 37. Nutrient Composition of an Herbicide-Treated Maize Line Containing Event DASØ1131-3(개발사, '21)
 38. ILSI (2016) ILSI Crop Composition Database, Version 6.0. International Life Sciences

Institute, www.cropcomposition.org

39. Hong B, Fisher TL, Sult TS, Maxwell CA, Mickelson JA, Kishino H, Locke MEH (2014) Model-Based Tolerance Intervals Derived from Cumulative Historical Composition Data: Application for Substantial Equivalence Assessment of a Genetically Modified Crop. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 9916-9926
40. Hothorn LA, Oberdoerfer R (2006) Statistical analysis used in the nutritional assessment of novel food using the proof of safety. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 44: 125-135
41. Nutritional Equivalency Study of Maize Grain Containing Event DAS-Ø1131-3 - Poultry Feeding Study(개발사, '21)