

综述

食品中转基因表达蛋白的危险性评估

杨辉 向钱 李宁

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100050)

摘要:随着转基因技术的商业化发展,直接或间接来源于转基因作物的食品日益增多。对食品中外源性基因表达蛋白质的研究是转基因食品安全性评价工作中的重要部分。本文从安全食用历史、生物信息学分析、体外稳定性研究、作用方式研究、毒理学试验等方面,对目前常见转基因表达蛋白的危险性评估进行了综述。

关键词:转基因;食品安全;危险性评估

中图分类号:R155.5 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2010)02-0173-06

Risk Assessment on Transgenic Proteins in Foods

YANG Hui, XIANG Qian, LI Ning

(National Institute of Nutrition and Food Safety, China CDC, Beijing 100050, China)

Abstract: With the commercialization of transgenic technology, foods directly or indirectly derived from genetically modified (GM) crops have increased significantly. Research on the newly expressed proteins is one of the critical parts that constitute the safety assessment on GM foods. The potential hazards of transgenic proteins were reviewed on the aspects of safety use history, analysis on bioinformatics, stability *in vitro*, mode of action and toxicological tests etc.

Key words: Transgene; Food Safety; Risk Assessment

随着基因工程的不断进步,许多具有耐除草剂、抗虫害、抗病毒等优良品质的转基因作物不断被研发并应用于大规模的农业生产^[1]。转基因技术在改良作物品种、增加粮食产量的同时,也给人类的食品安全问题提出了新的挑战^[2]。例如,传统作物在转入新基因后是否会产生有害遗传性状,转基因在农作物中的表达是否会产生有害物质而影响消费者健康。因此,转基因作物的食用安全性问题日益受到学术界、各国政府和消费者的关注。

1 转基因食品的安全性评价

对于转基因作物及其产品的安全性评价,国际上除食品法典委员会(CAC)的几项指南作为参考外尚无统一的程序和方法,但多数国家都认同采用经济合作发展组织(OECD)提出的“实质等同”(substantial equivalence)原则^[3,4]。目前,已经有许多转基因作物通过了“实质等同”检测,内容包括种属、来源、农艺特征、生物学特征、营养成分和食用方

式等^[5,6]。根据这一原则,如果转基因食品经研究证实与其相应的传统食品具有完全的“实质等同性”,则与传统食品同等对待,无需再做进一步的安全性分析;如果转基因食品与其相应的传统食品具有基本的“实质等同性”,但具有遗传性状方面的改变,则应重点评价所转入基因表达产物的安全性。

由于植物获得新特性(如抗虫、抗病毒、抗除草剂)的基础是外源基因在转入宿主植物后的表达,所以转基因表达蛋白的毒性和致敏性研究是转基因食品安全性评价的关键部分^[6]。特别是对于那些不具有“实质等同性”的转基因作物,更需要对其中的转基因表达蛋白进行系统的毒理学评价。

目前,国内外关于转基因食品安全性的研究和综述较多,但针对转基因表达蛋白安全性评价的归纳总结很少。根据危险性评估的评价策略^[7],本文从安全食用历史、生物信息学分析、蛋白质作用方式、消化稳定性和毒理学试验、人群暴露水平等方面对转基因表达蛋白的安全性研究进行综述。

2 转基因表达蛋白的危险性评估

转基因表达蛋白的危险性评估是指对其产生已知或潜在的健康不良作用的可能性进行科学估算,包括危害识别、危害特征的描述、摄入量评估和危险性特征描述。

收稿日期:2008-11-03

基金项目:转基因生物新品种培育科技重大专项(2009ZX08011-002B)

作者简介:杨辉,男,博士研究生,研究方向为食品毒理学

E-mail: yanghui813@126.com

通信作者:李宁,女,研究员,博士生导师

2.1 危害识别

2.1.1 安全食用历史 安全食用历史 (history of safe use, HOSU) 是指:有资料证实,一定数量的动物或人在较长时间内通过饮食摄入某种化学物或蛋白质后,未对大多数摄入者的健康造成危害^[8]。人群食用历史包括国内外人群食用历史(食用人群、食用量、食用时间、不良反应资料)以及其他国家批准情况和市场应用情况,是食品安全性评价最有价值的资料。安全食用历史能够为初步确定化学物或蛋白质的食用安全性提供指导,因此这一概念被广泛用于食品安全性评价工作。

美国 FDA 早在 1986 年就将 HOSU 应用于转基因农作物的食用安全性评价中。欧盟食品安全局 (EFSA) 在其最新的规范中也采用了 HOSU 这一概念,并指出 HOSU 在转基因表达蛋白质的安全性评价中至关重要^[9]。除了 FDA 和 EFSA,许多权威机构如食品法典委员会也一致主张运用 HOSU^[10]。我国《新资源食品安全性评价规程》规定,在新资源食品食用历史中应当无人类食用后发生重大不良反应的记录。

根据食用历史,转基因表达蛋白可以分为以下几类:1)食物链中存在,转基因作物的应用未使其摄入量改变;2)食物链中存在,但转基因作物的使用使其摄入量显著改变;3)自然界中存在,但未曾进入食物链;4)新蛋白质或经组成修饰的蛋白质,这一类比较少见。一般来讲,如果转基因植物中新基因所表达的蛋白质具有安全食用历史,则无需对转基因表达蛋白进行特别的毒性检测。例如,抗病毒马铃薯中转基因表达的 Y 病毒外壳蛋白与感染马铃薯 Y 病毒 (PVY) 的普通马铃薯完全相同,而且其表达水平是自然感染植株中外壳蛋白的 0.01%。根据美国和欧洲 PVY 植株感染的调查资料分析,即使转基因马铃薯的市场占有率为 100%,人们摄入转基因 PVY 外壳蛋白的数量也要少于目前的膳食暴露水平。由于具有较可靠的安全食用历史,所以不需要对转基因表达的 PVY 外壳蛋白再进行毒理学检测^[8]。某些特殊蛋白质没有安全食用历史并不表示其具有毒性作用,而只能说明对此蛋白质的潜在危害鉴定尚不完整或不确定,这时需要进行进一步的安全性评价。

基因供体(基因来源)生物本身的食用历史资料也可以为预测转基因表达蛋白的食用安全性提供重要信息。如果某种生物能够产生具有不良效应(毒性、致敏性或抗营养作用)的蛋白质,那么从此生物体中获取的基因有可能会编码毒性蛋白或致敏性蛋白。与已知致病微生物相比,普通微生物或动

物来源的转基因所表达的蛋白质则一般具有较可靠的安全食用历史。草铵膦乙酰转移酶 (PAT) 和 5-烯醇丙酮酸莽草酸-3-磷酸合酶 (CP4-EPSPS) 是抗除草剂作物中的转基因表达蛋白,其编码基因分别来源于吸水/产色链霉菌和土壤农杆菌,均属于普通土壤微生物,人们通过正常摄入食物而频繁暴露,但未曾有报道它们对人或动物具有毒性和致敏性^[11]。同样,植物中通过转基因表达的磷酸甘露糖异构酶 (PMI) 也广泛存在于自然界中,目前已经从多种细菌、酵母菌、动物包括人类细胞中克隆出该蛋白的编码基因;人体肠内菌群也有 PMI 的表达,没有证据显示其具有潜在危害^[12]。

2.1.2 生物信息学分析 危害识别中,虽然食用历史具有重要价值,但此类资料在实际情况下往往难以得到,而生物信息学分析则能够为初步判断转基因表达蛋白是否具有潜在危害提供信息。对转基因表达蛋白进行生物信息学分析的主要内容是评价氨基酸序列的相似程度、不同蛋白之间的种系发生关系或进化关系。如果转基因表达蛋白质与已知具有致敏性、毒性或药理学作用的蛋白质具有相似的氨基酸序列时,需要按照相似性的特征和程度提出进一步安全性评价的假设。生物信息学分析的指导原则就是转基因表达蛋白质与毒性蛋白质之间氨基酸序列的相似性愈高,就愈需要在提出假设的基础上进行毒性试验验证。

Fast protein comparison (FASTA) 和 basic local alignment search tool (BLAST) 是目前用于蛋白质序列总体相似性评价最常用的工具^[13]。在美国国立卫生研究院的生物技术信息中心 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 和 Uniprot-Swissprot (<http://www.expasy.org/sprot/>) 等数据库中,可以通过转基因表达蛋白氨基酸序列的检索获得与之最匹配的蛋白质或者 DNA,并可以按照相似程度高低进行排序。目前,通过对草铵膦乙酰转移酶 (PAT)、5-烯醇丙酮酸莽草酸-3-磷酸合酶 (CP4-EPSPS)、苏芸金芽胞杆菌 Cry1Ab 蛋白、磷酸甘露糖异构酶 (PMI) 等几种转基因表达蛋白的生物信息学分析,未发现它们与已知有毒蛋白质或致敏原之间存在氨基酸序列的同源性^[11,14,15]。

对于新蛋白质,利用生物信息学工具不仅可以计算基因和基因家族之间的进化关系来确定其同源性,还可以用来预测蛋白质的三维结构,高级结构的构建将有助于阐明蛋白质在分子水平上的效应机制。但是,目前能够用作对照的三维结构已知的蛋白质数量远小于氨基酸序列已知的蛋白质数量,为了提高转基因表达蛋白质安全性评价的准确性,

还需要其他生物学检测资料的支持^[16]。

2.1.3 作用方式及特异性研究 作用方式是指转基因表达蛋白发挥杀虫、抗菌、耐除草剂等目标功能的过程,转基因表达蛋白一般是以某种已知或期望的作用方式为基础而选定的。例如,转基因杀虫蛋白主要包括:1)成孔毒素,诱导细胞膜形成溶孔;2)蛋白酶,酶解重要蛋白从而阻断蛋白磷酸化或神经递质的释放;3)蛋白合成抑制剂,阻断蛋白质合成途径;4)糖基化作用,使细胞GTP结合蛋白发生糖基化。对转基因表达蛋白作用方式和特异性的了解,是确定安全性评价策略和研究方法的基础。对作用方式及特异性的认识越多,蛋白质是否能够产生不良效应的可预测性就越高。

如果以上作用方式可以被证实与人体相关性较小,如在人体或其他非靶向生物体内不存在适于该蛋白发挥功能的环境条件(包括与蛋白质发生作用的底物、辅助因子、受体等),那么该转基因蛋白的潜在危险性就可以大大降低。Cry1Ab蛋白只对鳞翅目昆虫有杀灭作用,其特异性直接来源于与氨肽酶、钙黏蛋白等受体的特异结合;在哺乳动物肠细胞表面没有这种特殊的昆虫中肠受体,因此这种蛋白毒素对人、其他哺乳动物、或者非敏感昆虫没有影响^[17]。同样,EPSPS存在于所有植物、细菌和真菌中,但人和其他哺乳动物中不含此酶,也不存在能够与CP4-EPSPS反应的特异作用底物或受体,因此,一般认为它不会对人或动物造成危害^[18]。

2.1.4 体外稳定性评价 由于消化过程中胃内酸性环境和大量蛋白酶、肽酶的参与,许多蛋白质对哺乳动物的消化作用比较敏感,随降解而失去生物学活性,所以绝大多数食物蛋白对机体没有毒性。但是,也有某些蛋白质表现出对消化液的稳定性,即经口摄入后有可能在消化道被完整吸收。因此,消化稳定性评价是对转基因表达蛋白进行危害识别的重要环节。另外,在食品生产加工过程中,转基因及其表达的蛋白质可能会受到温度、酸碱环境等因素的影响。研究转基因表达蛋白对温度和pH值的稳定性能够提供进一步的危害识别资料^[19,20]。消化稳定性检测的焦点是蛋白质氨基酸序列的完整性,而蛋白质热稳定性和酸碱稳定性的检测终点则是蛋白质的功能如酶活性等^[21]。

转基因表达蛋白的体外消化稳定性评价主要采用模拟哺乳动物胃/肠液(SGF/SIF)消化试验,FAO/WHO、食品法典(Codex)、国际生命科学学会(ILSI)和我国国家标准均对实验方法提出了明确规定。如果一种蛋白质在暴露于SGF或SIF后迅速被消化,那么以其生物活性形式被小肠上皮细胞吸收

的几率极低。目前国内外研究表明,GFP、Cry、PAT、CP4-EPSPS、PMI等转基因表达蛋白在模拟胃/肠消化试验中易消化,均能够被迅速降解^[11,15,22-24]。

2.2 危害特征的描述

当危害识别不能提供明确的证据确定转基因表达蛋白的安全性时,则需要通过第二阶段的检测对其进行危害特征描述。危害特征的描述是指对潜在危害引起的不良健康作用的定性或定量评价,其主要内容是通过毒理学试验研究剂量-反应关系。在这一部分,一般需要对转基因表达蛋白质进行急性毒性评价,因为已经证实大部分毒性蛋白主要通过急性作用机制发挥作用^[25]。根据急性毒性研究结果,可能需要采取进一步的重复染毒试验。

2.2.1 急性毒性试验 对转基因表达蛋白的急性毒性试验一般以啮齿类动物(通常是小鼠)一次性高浓度经口暴露,观察时间为14天。EPA^[26]和OECD^[27]建议在急性经口毒性试验中采用的剂量分别为2000和5000mg/kg。为了使用较少的蛋白样品进行转基因表达蛋白质的致死效应分析,在急性毒性研究中有时也采用静脉注射等消化道外染毒方式^[11],但当这种蛋白质实际被消化道完整吸收的可能性极低时,其本身的潜在毒性可能会被夸大。

目前,在对转基因表达蛋白进行的急性毒性试验中,即使在非常高的剂量下也未发现毒性效应。例如,通过对转基因表达的PAT进行小鼠经口急性毒性试验(2500mg/kg),没有发现任何毒性反应;静脉注射(10mg/kg)的染毒方式也未引发系统毒性症状,而以相同剂量处理的阳性对照组小鼠在10min内全部死亡^[11]。同样,高剂量的苏芸金芽孢杆菌Cry1Ab蛋白(4000mg/kg)^[28]和CP4-EPSPS(572mg/kg)^[29]经口暴露对小鼠无急性毒性作用。对于大肠杆菌过表达体系中得到的纯化PMI,通过小鼠灌胃染毒后也未导致任何毒性反应,其LD₅₀>3030mg/kg^[15]。

2.2.2 重复染毒(短期喂养)试验 对于无食用历史的转基因表达蛋白,仅依据危害识别分析和急性毒性研究的结果是不可靠的,应该进行重复染毒试验^[30]。OECD指南建议啮齿动物30天喂养试验的最高暴露剂量为每天1000mg/kg^[31]。根据这一剂量进行喂养实验,即使是使用小鼠也至少需要25g纯化的转基因表达蛋白。因此,进行该实验的最大困难就是难以获得足量的转基因蛋白样品,一般需要借助生物工程技术来获取^[32]。

目前,安全性评价中的重复染毒研究多数是以转基因作物(食品)整体作为检测对象进行的30天或90天喂养试验。用含有10%转基因(Cry1F/

1Ac)棉籽的饲料喂养大鼠90天,通过检查未发现摄食量、体重、活动、血液、尿检、组织病理等指标的显著改变^[33]。转基因(Cry1Ab)大米90天喂养试验结果表明,每天摄入0.54 mg/kg的转基因Cry1Ab蛋白未对Wistar大鼠造成任何不良影响^[34]。Shimada等^[35]以牛作为受试对象,进行转基因(Cry1Ab)玉米的90天喂养试验,也未发现异常效应。Peng等^[36]对基因修饰的苏云金杆菌进行急性和亚急性毒性试验,得出其最大无作用剂量(NAOEL)大于5000 mg/kg,完全可以安全应用于生物杀虫剂的工业化生产。有研究证实,转基因(bar)马铃薯对大鼠的生殖和发育能力没有显著影响^[37]。还有多种转基因表达蛋白经过不同种属的动物喂养试验均未发现毒性效应^[23,38]。杨丽琛等^[39]转sek基因大米中标记基因表达的HPT蛋白水平极低,且对消化环境不稳定,推测该标记基因表达蛋白不易引起可观察到的食用安全性问题,但利用转基因表达的HPT蛋白直接进行动物急性毒性及致敏性实验的工作仍有待进行。

2.3 暴露评估

评估消费者对转基因表达蛋白质的膳食摄入量分为两个部分:1)蛋白质在转基因作物组织中(果实、种子或者叶)的表达水平,如转基因水稻的谷粒与普通水稻是否实质等同^[40];2)通过膳食调查资料对人群实际消费量的估测。转基因表达蛋白在目前进入食物链的转基因作物中的含量为总蛋白的0.01%~0.1%^[41]。转基因表达蛋白质摄入量的评价依据来源于食品供应资料、家庭食品消费资料和个人食品消费调查资料。但是,要做到对转基因表达蛋白暴露水平的精确评定是很困难的:首先,转基因作物只占食用作物的一小部分;第二,同一种转基因表达蛋白可能会出现于不同种类食品中;第三,食品加工过程对转基因表达蛋白的影响及程度非常复杂。目前还没有文献报道对转基因表达蛋白的人群暴露水平进行过评估。

2.4 危险性特征描述

危险性特征描述是危害识别、危害特征描述和摄入量评估的综合结果,即对所摄入的化学物对人群健康产生不良作用的可能性估计。综上所述,根据目前的文献报道,可以确定PAT、PMI、CP4-EPSPS、Cry等常见转基因表达蛋白经膳食摄入后不会对人体产生健康危害。

3 危险性评估中存在的问题

转基因食品的安全性评价中,“个案处理”(case-by-case)是一种比较科学的方法,但目前尚未

形成适用于所有转基因食品的系统的评价方法。与食品添加剂、农药等化学品相比,转基因表达蛋白具有“本身毒性小但人群摄入量大”的特点,因此传统的安全评价原则和方法可能不适用于转基因食品的评价。在利用细菌、酵母等生物体系获取足量转基因表达蛋白以进行毒理学试验时,应该考虑到不同生物体(植物与微生物)之间可能存在对同种转基因表达蛋白的翻译后修饰、折叠等加工过程的差异^[42],需要通过分子量、氨基酸序列、糖基化或磷酸化作用、酶活性和特异性等关键指标进行对比验证。

另外,传统的化学物毒理学评价程序所采用的检测终点是死亡、遗传毒性、生殖毒性和致癌性,以此难以正确评价转基因表达蛋白可能导致的内分泌干扰作用、神经毒性、免疫毒性及潜在致敏性。例如,对于致敏性评价,除上述评价内容外还需要进行血清筛选等免疫学检测^[43];生物信息学分析可能得出假阳性或假阴性推测结论,食物致敏原数据库资料有待完善^[14];为更直接地对潜在致敏性进行评价,尚需建立合适的体外试验或动物试验模型^[44]。

参考文献

- [1] LANFRANCO L. Engineering crops, a deserving venture [J]. Riv Biol, 2003, 96(1): 31-54.
- [2] SHELTON A M, ZHAO J Z, ROUSH R T. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of bt transgenic plants [J]. Annu Rev Entomol, 2002, 47: 845-881.
- [3] OECD. Safety evaluation of foods produced by modern biotechnology: Concepts and principles [M]. Paris: OECD, 1993.
- [4] FAO/WHO. Biotechnology and food safety. Joint FAO/WHO Consultation [J]. FAO Food Nutr Pap, 1996(61): 1-27.
- [5] NOTEBORN H P, LOMMEN A, van der JAGT R C, et al. Chemical fingerprinting for the evaluation of unintended secondary metabolic changes in transgenic food crops [J]. J Biotechnol, 2000, 77(1): 103-114.
- [6] CHASSY B M. Food safety evaluation of crops produced through biotechnology [J]. J Am Coll Nutr, 2002, 21(3 Suppl): S166-S173.
- [7] FAO/WHO. Risk management and food safety. Report of a Joint FAO/WHO Consultation, Rome, Italy, 27 to 31 January 1997. United Nations [J]. FAO Food Nutr Pap, 1997(65): 1-27.
- [8] DELANEY B, ASTWOOD J D, CUNNY H, et al. Evaluation of protein safety in the context of agricultural biotechnology [J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46(Suppl 2): S71-S97.
- [9] EFSA. Guidance document of the Scientific Panel on Generically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. [J]. EFSA J, 2006(9): 1-100.
- [10] CAC. Appendix III, Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant-DNA plants and Appendix IV, Annex on the assessment of possible allergenicity

- [A] //Alinorm 03/34: Joint FAO/WHO Food Standard Programme, Codex Alimentarius Commission, Twenty-Fifth Session, Rome, Italy, 30 June-5 July 2003, 2003: 47-60.
- [11] HEROUET C, ESDAILE D J, MALLYON B A, et al. Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the pat and bar sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2005, 41(2): 134-149.
- [12] DAVIS J A, FREEZE H H. Studies of mannose metabolism and effects of long-term mannose ingestion in the mouse [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1528(2-3): 116-126.
- [13] GENDEL S M. Sequence databases for assessing the potential allergenicity of proteins used in transgenic foods [J]. *Adv Food Nutr Res*, 1998(42): 63-92.
- [14] KLETER G A, PEIJNENBURG A A. Screening of transgenic proteins expressed in transgenic food crops for the presence of short amino acid sequences identical to potential, IgE-binding linear epitopes of allergens [J]. *BMC Struct Biol*, 2002, 2: 8.
- [15] PRIVALLE L S. Phosphomannose isomerase, a novel plant selection system: potential allergenicity assessment [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2002(964): 129-138.
- [16] GENDEL S M. Sequence analysis for assessing potential allergenicity [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2002(964): 87-98.
- [17] VAN RIE J, JANSSENS S, HOFTE H, et al. Specificity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins. Importance of specific receptors on the brush border membrane of the mid-gut of target insects [J]. *Eur J Biochem*, 1989, 186(1-2): 239-247.
- [18] PADGETTE S R, TAYLOR N B, NIDA D L, et al. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans [J]. *J Nutr*, 1996, 126(3): 702-716.
- [19] CHEN Y, WANG Y, GE Y, et al. Degradation of endogenous and exogenous genes of roundup-ready soybean during food processing [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(26): 10239-10243.
- [20] THOMAS K, HEROUET-GUICHENEY C, LADICS G, et al. Evaluating the effect of food processing on the potential human allergenicity of novel proteins: international workshop report [J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45(7): 1116-1122.
- [21] FU T J. Digestion stability as a criterion for protein allergenicity assessment [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2002, 964: 99-110.
- [22] SINAGAWA-GARCIA S R, RASCON-CRUZ Q, VALDEZ-ORTIZ A, et al. Safety assessment by in vitro digestibility and allergenicity of genetically modified maize with an amaranth 11S globulin [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(9): 2709-2714.
- [23] RICHARDS H A, HAN C T, HOPKINS R G, et al. Safety assessment of recombinant green fluorescent protein orally administered to weaned rats [J]. *J Nutr*, 2003, 133(6): 1909-1912.
- [24] MOMMA K, HASHIMOTO W, OZAWA S, et al. Quality and safety evaluation of genetically engineered rice with soybean glycinin: analyses of the grain composition and digestibility of glycinin in transgenic rice [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1999, 63(2): 314-318.
- [25] SJOBLAD R D, MCCLINTOCK J T, ENGLER R. Toxicological considerations for protein components of biological pesticide products [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 1992, 15(1): 3-9.
- [26] EPA. Health effects test guidelines [M]. OPPTS 870. 1100 Acute Oral Toxicity. 1998.
- [27] OECD. Guideline for the testing of chemicals: acute oral toxicity. OECD Test Guideline 401 [M]. France: Organization for Economic Co-operation and Development, 2002.
- [28] EPA. EPA fact sheet for *Bacillus thuringiensis* subspecies *kurstaki* Cry 1A (b) delta endotoxin and its controlling sequences as expressed in corn [M]. 1996.
- [29] HARRISON L A, BAILEY M R, NAYLOR M W, et al. The expressed protein in glyphosate-tolerant soybean, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. strain CP4, is rapidly digested in vitro and is not toxic to acutely gavaged mice [J]. *J Nutr*, 1996, 126(3): 728-740.
- [30] EPA. Background document for the FIFRA scientific advisory panel on mammalian toxicity assessment guidance for protein plant pesticides [M]. 2000.
- [31] OECD. Guideline for the testing of chemicals: repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents. OECD Test Guideline 407 [M]. France: Organization for Economic Co-operation and Development, 1995.
- [32] GUSTAFSON M E, CLAYTON R A, LAVRIK P B, et al. Large-scale production and characterization of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Tenebrionis* insecticidal protein from *Escherichia coli* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1997, 47(3): 255-261.
- [33] DRYZGA M D, YANO B L, ANDRUS A K, et al. Evaluation of the safety and nutritional equivalence of a genetically modified cottonseed meal in a 90-day dietary toxicity study in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45(10): 1994-2004.
- [34] SCHRODER M, POULSEN M, WILCKES A, et al. A 90-day safety study of genetically modified rice expressing Cry1Ab protein (*Bacillus thuringiensis* toxin) in Wistar rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45(3): 339-349.
- [35] SHIMADA N, MURATA H, MIKAMI O, et al. Effects of feeding calves genetically modified corn bt11: a clinico-biochemical study [J]. *J Vet Med Sci*, 2006, 68(10): 1113-1115.
- [36] PENG D, CHEN S, RUAN L, et al. Safety assessment of transgenic *Bacillus thuringiensis* with VIP insecticidal protein gene by feeding studies [J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45(7): 1179-1185.
- [37] RHEE G S, CHO D H, WON Y H, et al. Multigeneration reproductive and developmental toxicity study of bar gene inserted into genetically modified potato on rats [J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2005, 68(23-24): 2263-2276.
- [38] HASHIMOTO W, MOMMA K, YOON H J, et al. Safety assessment of transgenic potatoes with soybean glycinin by feeding studies in rats [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1999, 63(11): 1942-1946.
- [39] 杨丽琛, 李英华, 杨晓光, 等. 转 *sek* 基因水稻中标记基因表达蛋白 HPT 食用安全性的初步研究 [J]. *卫生研究*, 2005, 34(5): 549-553.
- [40] LI X, HUANG K, HE X, et al. Comparison of nutritional quality between Chinese indica rice with *sek* and *cry1Ac* genes and its nontransgenic counterpart [J]. *J Food Sci*, 2007, 72(6): S420-S424.
- [41] BETZ F S, HAMMOND B G, FUCHS R L. Safety and

advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2000, 32(2): 156-173.

[42] JONAS D A, ANTIGNAC E, ANTOINE J M, et al. The safety assessment of novel foods. Guidelines Prepared by ILSI Europe Novel Food Task Force [J]. *Food Chem Toxicol*, 1996, 34(10): 931-940.

[43] LADICS G S. Current codex guidelines for assessment of potential protein allergenicity [J]. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46(10, suppl): S20-S23.

[44] KONIG A, COCKBURN A, CREVEL R W, et al. Assessment of the safety of foods derived from genetically modified (GM) crops [J]. *Food Chem Toxicol*, 2004, 42(7): 1047-1088.

• 法规文件 •

卫生部监督局关于公开征求拟批准新资源食品意见的函

卫监督食便函[2010]74号

各有关单位：

《食品安全法》的规定，经新资源食品评审专家委员会审核，拟批准雨生红球藻和雪莲培养物为新资源食品（见附件）。现公开征求意见，截止时间为2010年4月15日，请将意见反馈至卫生部卫生监督中心。

传 真：010-64047878-2231

邮 箱：zhangxx3961@yahoo.com.cn

附 件：雨生红球藻和雪莲培养物

二〇一〇年三月十五日

附件

雨生红球藻

中文名称	雨生红球藻	
拉丁名称	<i>Haematococcus pluvialis</i>	
基本信息	种属：绿藻门、团藻目、红球藻属	
生产工艺简述	选育优良雨生红球藻藻种进行人工养殖，采收雨生红球藻孢子，经破壁、干燥等工艺制成。	
食用量	≤0.8克/天	
质量要求	性状	红色或深红色粉末
	蛋白质含量	≥15%
	总虾青素含量（以全反式虾青素计）	≥1.5%
	全反式虾青素含量	≥0.8%
	水分	≤10%
	灰分	≤15%
其他需要说明的情况	使用范围不包括婴幼儿食品。	

雪莲培养物

中文名称	雪莲培养物		
英文名称	<i>Tissue culture of Saussurea involucrata</i>		
基本信息	来源：菊科植物天山雪莲（ <i>Saussurea involucrata</i> ）的愈伤组织		
生产工艺简述	选取雪莲离体组织，经脱分化形成的愈伤组织作为继代种子，给予一定条件进行继代培养而获得的团块状颗粒，或该颗粒经干燥粉碎得到的粉末。		
食用量	鲜品≤80克/天、干品≤4克/天		
不适宜人群	婴幼儿、孕妇		
质量要求	鲜品	干品	
	性状	紫红色团状颗粒	紫灰色粉末
	蛋白质含量	≥1%	≥20%
	总黄酮含量	≥0.4%	≥7%
	水分	≤96%	≤10%
	灰分	≤1%	≤10%
其它需要说明的情况	标签、说明书中应当标注不适宜人群和食用限量。		