

综述

复合性状转基因植物安全性评价

刘柳^{1,2}, 向钱², 李宁², 张立实¹

(1. 四川大学华西公共卫生学院, 四川 成都 610000;

2. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100050)

摘要:复合性状转基因植物由于其多元化的功能和高效的资源利用率,已成为当前发展最快的转基因产品类型。但由于多个外源基因间潜在的协同效应,使得对其安全性评价有更高的要求。然而当前缺乏国际通行的复合性状转基因植物的安全性评价规范。本文以欧盟制定的评价指导为框架,从参照物的选择、分子特征评价、对比分析、环境影响评价、毒性和过敏性评价以及营养价值评价等方面概述了复合性状转基因植物安全性评价体系,并指出了其中应关注的问题。

关键词:复合性状转基因植物;安全性评价;实质等同原则;对比分析

中图分类号:R151;Q753 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2011)02-0177-04

Safety assessment on stacked genetically modified plants

Liu Liu, Xiang Qian, Li Ning, Zhang Lishi

(Huaxi Department of Public Health of Sichuan University, Sichuan Chengdu 610000, China)

Abstract: Genetically modified plants with stacked events (stacked GM), the combination of two or more transgenic traits in a plant, have been the most promising transgenic products due to their multiple functions and efficient utilization of resources. However, the potential interactions among multiple transgenes might affect the safety of plants. Therefore, higher standards should be applied to the safety assessment of GM stacked events. Currently, few guidelines have been published by any country or international organizations other than the European Union. The guidance established by the European Union on GM stacked events was applied as a framework for the safety assessment in this article. This system was briefly described in the aspects of choosing reference objects, assessing molecular characteristics, comparative analysis, assessing environmental risks and toxicology/allergenicity and evaluating nutritional effects. The problems worthy of attention were also pointed out and discussed.

Key words: GM stacked events; safety assessment; substantive equivalence; comparative analysis

利用现代基因工程技术将两个或两个以上的外源有效基因整合到植物基因组中,并使多个目的基因在植物体表达以获得多个能在后代稳定遗传的新性状^[1],这种含有多个性状的转基因植物即为复合性状转基因植物,而转化到植物中的两个或两个以上的有效转基因统称为复合性状转基因^[2]。

目前主要的复合性状转基因策略是将多个抗虫基因或是将抗虫基因和抗除草剂基因导入同一植物中,这样一方面可以有效地延缓靶标生物抗性的产生,另一方面还能提高杀虫活性,扩大杀虫谱,延长抗性品种的使用寿命。复合转基因策略拓展

了转基因作物功能,满足了种植者多元化的需求,提高了资源利用效率,有良好的应用前景。据统计截止2009年,已有包括美国、加拿大、澳大利亚、墨西哥、南非、菲律宾等在内的11个国家种植了复合性状转基因植物,种植面积超过2 870万公顷^[3]。复合性状转基因植物已成为当前发展最快的转基因产品类型。

但是,由于复合性状转基因植物涉及多个转基因,复合转基因之间可能存在非关联、关联、代谢等相互作用关系,可能会引发协同效应^[4],产生与单性状转基因植物不同的食用安全结果,也能引起毒性、过敏性等方面的危害,其中非期望效应可能更为显著。所以,相较单性状转基因植物的安全性评价,针对复合性状转基因植物的安全性评价需要具有更高的标准,并将重点放在对复合转基因相互作用的检测上。

复合性状基因的转化有杂交、再转化、共转化³

收稿日期:2009-12-02

基金项目:“转基因生物新品种培育”国家重大专项(2009ZX0811-002B)

作者简介:刘柳 女 硕士生 研究方向为食品毒理学 E-mail: sherrychenxi1984@126.com

通信作者:李宁 女 研究员,博士生导师 研究方向为食品毒理学

种方式^[1],但目前投入生产应用的主要都是通过杂交方式获得的,故当前的安全性评价指导文件都是针对杂交获得的复合性状转基因植物。受技术发展水平、经济利益、公众接受程度等诸多因素的影响,世界各国对复合性状转基因作物采取不同的管理模式。按照监管宽严程度不同,可以将其分为美国模式、日本模式和欧盟模式^[5]。这些不同的管理模式都不约而同地将关注的重点放在了复合转基因的相互作用上,只是在对其判断依据上略有不同。美国模式属于比较宽松的简化管理模式,管理部门包括食品药品监督管理局、环保署和农业部,监管对象是单个转化事件,其对复合基因相互作用的判断依据是目的基因产物表达水平及有效性。如果复合性状转基因植物的单性状亲本已获得批准,且有充分证据表明组合性状间不会有相互作用,则无需再提交完整的安全评价资料;若复合基因间可能存在相互作用,则需根据“个案处理(case-by-case)”原则补充相应的安全性评估数据^[6]。日本和韩国是采用递交补充数据的模式进行管理,将目标蛋白的表达水平和代谢途径的改变作为判断依据,若复合基因间有相互作用,则需补充相应的安全性评价资料。欧盟在管理上最为严格,对复合性状转基因植物采取严格的重新评价原则,对复合基因之间相互作用的判断依据也基本上涵盖了单个转化事件安全评价的全部资料^[7]。

1 复合性状转基因植物的安全性评价

鉴于目前除欧盟外,还没有其他的国家、地区或权威国际组织出台过针对复合性状转基因植物的安全性评价指导文件,故本文将以欧洲食品安全局(EFSA)制定的复合性状转基因植物安全性评价指南^[8]为框架,概述复合性状转基因植物安全性评价中应关注的问题,从选择合适的参照物、分子特征评价、成分的对比分析,毒性、过敏性和营养价值评价以及环境影响评价等方面来综合分析复合转基因带来的影响。

1.1 参照物的选择

复合性状转基因植物的安全性评价,所选择的参照物不仅应包括各单性状杂交亲本植物,还要求包括2个相应的已经商用化的植物;选择条件要求其生长气候、地点、年份具有代表性,至少要分析2个季度和几个不同地方生长的复合性状植物^[7]。

1.2 分子特征评价

外源基因插入位点的完整性和遗传稳定性是在复合性状转基因植物分子特征评价中应该考虑的一个重要方面。转基因生物中外源基因整合位

点或插入序列连接方式的改变会影响其表达方式和表达量,同时基因组中其他基因的表达也很有可能受其影响而发生改变。通常认为,在杂交过程中转入的外源目的基因序列(包括侧翼调控区)不会发生变化。然而,几乎没有任何科学证据可以证明目的基因能通过杂交完整地遗传给下一代^[9]。可利用 Southern Blot、PCR 及对目的基因序列测序等的结果,得到重组发生位点的信息,再经过数代遗传后,对重组发生区(生物基因组与外源基因插入片段的边界序列)进行进一步的 PCR 扩增,即可得到基因整合位点遗传稳定性的信息^[10]。

目的基因表达水平是必须关注的另一个方面。由于复合性状转基因植物的特点,多个外源目的基因之间以及目的基因与植物基因组基因之间都有可能发生潜在的相互作用,引起某些基因的沉默或激活,从而影响基因表达的结果。这种相互作用发生的可能性比单性状转基因更高。通过将复合性状转基因植物中目的基因的表达水平与其单性状亲本进行比较,可以验证复合基因间的相互作用是否发生,从而指导之后的环境影响、毒性过敏性评价和营养价值评价。

1.3 对比分析

对比分析是基于实质等同(substantial equivalence)原则,通过将复合性状转基因植物与参照物进行比较分析,以检测出非期望效应(unintended effects)。非期望效应是在排除了目的基因的预期效应后,转基因植物在表型、生物学效应和组成成分等方面与其亲本比较时出现的差异有统计学意义的效应,条件是转基因植物与其参照物的生长环境相同^[11]。由于复合转基因间的相互作用,非期望效应可能更为明显,可直接或间接地对复合转基因植物的食用安全性和营养价值造成影响,所以在安全性评价中必须对其进行鉴定。

对非期望效应的鉴定,有目标导向型(targeted approaches)和非目标导向型(non-targeted approaches)两种策略^[11]。前者针对植物中的某些关键成分如氨基酸、脂肪酸、维生素等,比较转基因植物与参照物之间的异同。经济合作与发展组织(OECD)从2001年开始,已制定了针对包括转基因蓖麻、大豆、土豆、玉米、水稻等在内的多个转基因作物的关键成分选择的规范性指导文件,所检测的成分种类应包括主要的营养成分(宏量和微量营养素)、抗营养因子、第二代谢产物、小分子物质、植物自身含有的毒素等^[12]。然而,许多人认为目标导向型策略侧重于分析已知的关键成分,往往只能找出可预期的非期望效应(predictable unintended

effects)^[13]。随着新的生物特征分析技术的发展,人们更偏向于采用非目标导向型策略。该策略侧重于从分子、蛋白质和代谢等水平上,通过不同检测手段进行分析。例如,分子水平上有 mRNA 指纹技术、DNA 微阵列技术;蛋白质水平上有双向电泳技术;代谢水平上有质谱技术、高效液相色谱技术(HPLC)和核磁共振技术(NMR)等^[14]。

综合应用目标导向型和非目标导向型策略对复合性状转基因植物与其参照物进行对比分析,可以更全面地识别可能出现的非期望效应,指导之后的环境影响评价、毒性过敏性评价和营养价值评价。

1.4 环境影响评价

复合性状转基因植物的环境影响评价,应将其分子特征评价、对比分析和单性状杂交亲本环评的结果予以综合考虑。现已知,目的基因表达水平的变化可能会对农业生态环境产生影响。例如,目的基因表达水平的增高可能会引起对环境中非靶标生物的不良效应;而表达水平的降低则可能使靶标生物产生耐受的危險性增加。所以,如果分子特征评价结果显示复合性状转基因植物目的基因的表达水平发生了变化,则有必要对其重新进行环境评价^[9],评价应包含复合性状转基因植物的侵袭力和选择性优势/劣势、与靶标和非靶标生物间的相互作用以及其特殊的栽种、管理、收获技术对环境的影响等方面^[15];若没有变化,则可以直接应用其杂交亲本的环境影响评价结果。

1.5 毒性及过敏性评价

与环境影响评价相似,复合性状转基因植物的毒性及过敏性评价应综合分子特征评价和其单性状杂交亲本的毒性及过敏性评价结果。如果分子特征评价证实了复合转基因在杂交过程中的完整性、插入位点的稳定性、表达的忠实性等,且其每个目的基因表达产物也按照单个蛋白质毒性和过敏性评价的程序和原则进行评价,证实无毒性和过敏性,则无需再对复合性状转基因植物进行重复的毒性和过敏性检测^[8];而如果分子特征评价证明复合转基因的结构完整性出现异常或表达水平增高,则有必要再进行毒性和过敏性测试。在毒性测试方面,可采用整体食物喂养试验(包括急性毒性、90天喂养试验^[16,17]等);过敏性评价则应注意进一步阐明蛋白质结构和功能及其与过敏性之间的关系,提高对蛋白质抗消化性与潜在过敏性之间关系的认识,有条件时还应增加新的有效体外试验和动物试验,以便直接对蛋白质固有的过敏性进行评价^[18]。

在毒性和过敏性评价中,须特别关注复合性状转基因及其表达产物的协同效应。由于目前还没

哪项试验可以从分子水平上准确地检测出复合转基因及其表达产物是否会产生协同效应,所以只能通过对复合性状转基因植物进行分子特征评价以及表型性状和组分广泛对比分析而得到间接的证据^[10]。

1.6 营养价值评价

由于复合转基因之间的协同作用,使得植物的成分变得更为复杂,所以单性状杂交亲本的营养价值评价结果不能直接外推至复合性状转基因植物。应该根据对比分析的结果,找出组分表达的差异,以此为基础推断可能引起的非期望效应。必要时可进行动物喂养试验,从营养物质的吸收、分布、代谢、分泌、生物利用度等主要方面了解复合性状转基因植物对试验动物的影响并进行评价。由于小鸡(broiler chicken)对食物引起的营养价值改变较为敏感,所以欧盟要求所有转基因食品包括复合性状转基因食品都要进行小鸡的喂养试验^[19]。如已有复合性状转基因玉米的小鸡喂养试验^[20,21],选取动物的生长表现、饲料摄入量、尸解后各器官重量、检测鸡胸肉的营养成分等作为评价指标。

2 结语

综上所述,复合性状转基因植物的安全性评价是基于单性状转基因植物评价基础上的。但由于复合转基因之间可能的相互作用,导致其可能产生的非期望效应大大增加,使得对其评价要求均大幅度提升。由于目前国际上还缺乏公认的针对复合转基因协同效应的评价规范,只能通过对其分子特征评价、对比分析的结果来获得有关的信息,来指导后面的环境影响、毒性过敏性和营养价值评价。最后综合多方面的评价结果,力求全面、准确地评价复合性状转基因植物的安全性。

参考文献

- [1] HALPIN C. Gene stacking in transgenic plants—the challenge for 21st century plant biotechnology[J]. *Plant Biotech J*, 2005, 3:141-155.
- [2] HALPIN C, BARAKATE A, ASKARI B M, et al. Enabling technologies for manipulating multiple genes on complex pathways[J]. *Plant Molecular Biol*, 2001, 47:295-310.
- [3] JAMES C. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2009 [EB/OL]. [2009-11-24]. <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/41/executivesummary/default.html>.
- [4] KUIPER H A, KONIG A, KLETER G A, et al. Safety assessment, detection and traceability, and societal aspects of genetically modified foods. European network on safety assessment of genetically modified food crops (ENTRANSFOOD) [J]. *Food Chem Toxicol*, 2004, 42(7):1195-1202.

[5] 王琴芳. 转基因作物生物安全性评价与监管体系的分析与对策[D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.

[6] EPA. Biopesticides registration action document - *Bacillus thuringiensis* plant-incorporated Protectants [EB/OL]. [2001-10-15]. http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/pips/bt_brad.htm.

[7] 刘培磊, 李宁, 程金根. 不同国家和地区复合性状转基因作物安全评价管理的比较[J]. 农业科技管理, 2008, 27(3): 23-26.

[8] EFSA. Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for the risk assessment of genetically modified plants containing stacked transformation events[J]. EFSA J, 2007, 512:1-5.

[9] de SCHRIJVER A, et al. Risk assessment of GM stacked events obtained from crosses between GM events[J]. Trends in Food Sci & Technol, 2007, 18(2):101-109.

[10] 邓平建. 转基因食品食用安全性和营养质量评价及验证[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003:149-150.

[11] CELLINIA F A, CHESSONB I, COLQUHOUNC A, et al. Unintended effects and their detection in genetically modified crops[J]. Food Chem Toxicol, 2004, 42:1089-1125.

[12] HERMAN R A, STORER N P, PHILLIPS A M, et al. Compositional assessment of event DAS-59122-7 maize using substantial equivalence [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2007, 47:37-47.

[13] MILLSTONE E, BRUNNER E, MAYER S. Beyond substantial equivalence[J]. Nature, 1999, 401: 525-526.

[14] RISCHE H, OKSMAN-CALDENTEY K M. Unintended effects in genetically modified crops: revealed by metabolomics? [J]. Trend Biotechnol, 2006, 24(3):102-104.

[15] EFSA. Risk assessment of plants containing genetic modification events combined by crossing[EB/OL]. [2006-06-08]. <http://www.efsa.europa.eu>.

[16] MALLEY L A, EVERDS N E, REYNOLDS J, et al. Subchronic feeding study of DAS-59122-7 maize grain in Sprague-Dawley rats [J]. Food Chem Toxicol, 2007, 45:1277-1292.

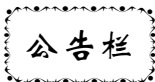
[17] HE X Y, HUANG K L, LI X, et al. Comparison of grain from corn rootworm resistant transgenic DAS-59122-7 maize with non-transgenic maize grain in a 90-day feeding study in Sprague-Dawley rats[J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46: 1994-2002.

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

[19] 陈志飞, 徐海滨. 复合性状转基因植物及其安全性评价[J]. 国外医学卫生学分册, 2008, 35(1): 40-44.

[20] McNAUGHTON J L, ROBERTSM, RICE D, et al. Feeding performance in broiler chickens fed diets containing DAS-59122-7 maize grain compared to diets containing non-transgenic maize grain[J]. Anim Feed Sci Technol, 2007, 132:227-239.

[21] TAYOR M L, HARTNELL G F, RIORDAN S G, et al. Comparison of broiler performance when fed diets containing grain from YieldGard (MON810), YieldGard roundup ready (GA21) nontransgenic control, or commercial corn[J]. Poult Sci, 2003, 82:823-830.



关于批准溶菌酶等物质为食品添加剂及部分食品添加剂 和营养强化剂扩大使用范围、用量的公告

2010 年 第 23 号

根据《中华人民共和国食品安全法》和《食品添加剂新品种管理办法》的规定,经审核,现批准溶菌酶等 8 种物质为食品添加剂,批准环己基氨基磺酸钠等 22 种食品添加剂和叶酸等 3 种营养强化剂扩大使用范围及用量。

特此公告。

- 附件:** 1. 溶菌酶等 8 种食品添加剂(略)
 2. 环己基氨基磺酸钠等 22 种扩大使用范围、用量的食品添加剂(略)
 3. 叶酸等 3 种扩大使用范围、用量的食品营养强化剂(略)

二〇一〇年十二月三十一日