

转基因植物安全评价指南

二〇一〇年十月二十七日

转基因植物安全评价指南

一、总体要求

(一) 分子特征

从基因水平、转录水平和翻译水平，考察外源插入片段的整合和表达情况。

1. 表达载体相关资料

(1) 目的基因与载体构建的物理图谱

详细注明表达载体所有元件名称、位置和酶切位点。

(2) 目的基因

详细描述目的基因的供体生物、结构(包括基因中的酶切位点)、功能和安全性。

供体生物：如 Bt 基因 cry1A 来源于苏云金芽孢杆菌 XX 菌株。

结构：完整的 DNA 序列和推导的氨基酸序列。

功能：生物学性状，如抗鳞翅目昆虫。

安全性：从供体生物特性、安全使用历史、基因结构、功能及有关安全性试验数据等方面综合评价目的基因的安全性。

(3) 表达载体其他主要元件

启动子：供体生物来源、大小、DNA 序列(或文献)、功能、安全应用记录。

终止子：供体生物来源、大小、DNA 序列(或文献)、功能、安

全应用记录。

标记基因：供体生物来源、大小、DNA 序列（或文献）、功能、安全应用记录。

报告基因：供体生物来源、大小、DNA 序列（或文献）、功能、安全应用记录。

其他表达调控序列：来源（如人工合成或供体生物名称）、名称、大小、DNA 序列（或文献）、功能、安全应用记录。

2. 目的基因在植物基因组中的整合情况

采用转化事件特异性 PCR、Southern 杂交等方法，分析外源插入片段在植物基因组中的整合情况，包括目的基因和标记基因的拷贝数，标记基因、报告基因或其它调控序列删除情况，整合位点等。

外源插入片段的转化事件特异性 PCR 检测：具有片段名称、引物序列、扩增产物长度、PCR 条件、扩增产物电泳图谱（含图题、分子量标准、阴性对照、阳性对照、泳道标注）。

外源插入片段的 Southern 杂交：采用两种以上限制性内切酶分别消化植物基因组总 DNA，获得能明确整合拷贝数的、具有转化事件特异性的分子杂交图谱。文字描述至少包括探针序列位置、内切酶名称、特异性条带的大小、图题、分子量标准、阴性对照、阳性对照、泳道标注。

外源插入片段的全长 DNA 序列：实际插入受体植物基因组的全长 DNA 序列和插入位点的两端边界序列（大于 300bp）。提供转化事件特异性 PCR 验证时相应引物名称、序列及其扩增产物长度。

3. 外源插入片段的表达情况

(1) 转录水平表达 (RNA)

采用 Real-time PCR, RT-PCR 或 Northern 杂交等方法, 分析主要插入序列 (如目的基因、标记基因等) 的转录表达情况, 包括表达的主要组织和器官 (如根、茎、叶、种子等)。

RT-PCR 检测: 引物序列、扩增产物长度、RT-PCR 条件、扩增产物电泳图谱 (含图题、分子量标准、阴性对照、阳性对照、泳道标注)。

Northern 杂交: 探针序列位置、特异性条带的大小、Northern 杂交条件、杂交图谱 (含图题、分子量标准、阴性对照、阳性对照、泳道标注)。

(2) 翻译水平表达 (蛋白质)

采用 ELISA 或 Western 杂交等方法, 分析主要插入序列 (如目的基因、标记基因等) 的蛋白质表达情况, 包括表达的主要组织和器官 (如根、茎、叶、种子等)。

ELISA 检测: 描述定量检测的具体方法, 包括相关抗体、阴性对照、阳性对照、光密度测定结果、标准曲线等。

Western 免疫印记: 相关抗体名称、特异性蛋白条带的大小、Western 免疫印记条件、免疫印记图谱 (含图题、分子量标准、阴性对照、阳性对照、泳道标注、样品和阳性对照的加样量)。

(二) 遗传稳定性

主要考察转基因植物世代之间目的基因整合与表达情况。

1. 目的基因整合的稳定性

用 Southern 或转化事件特异性 PCR 手段检测目的基因在转化体中的整合情况，明确转化体中目的基因的拷贝数以及在后代中的分离情况，提供不少于 3 代的试验数据。

2. 目的基因表达的稳定性

用 Northern, Real-time PCR, RT-PCR, Western 等手段提供目的基因在转化体不同世代在转录 (RNA) 和 (或) 翻译 (蛋白质) 水平表达的稳定性 (包括不同发育阶段和不同器官部位的表达情况)，提供不少于 3 代的试验数据。

3. 目标性状表现的稳定性

用适宜的观察手段考察目标性状在转化体不同世代的表现情况，提供不少于 3 代的试验数据。

(三) 环境安全

1. 生存竞争能力

提供在自然环境下，转基因植物与受体关于种子活力、种子休眠特性、越冬越夏能力、抗病虫能力、生长势、生育期、产量、落粒性等适合度变化与杂草化风险评估等的试验数据和结论。

若受体植物为多年生草类 (饲草、制种用的草坪草) 或目标性状增强生存竞争力 (如抗旱、耐盐等)，应根据个案分析的原则提出有针对性的补充资料。

2. 基因漂移的环境影响

(1) 受体物种的相关资料

如果存在可交配的野生近缘种，提供野生近缘种的地理分布范围、发生频率、生物学特性（生育期、生长习性、开花期、繁殖习性、种子及无性繁殖器官的传播途径等）以及与野生近缘种的亲缘关系（包括基因组类型、与栽培种的天然异交结实性（%）、杂种 F1 的育性及其后代的生存能力和结实能力）的资料。

如果存在同一物种的可交配植物类型，需提供同一物种植物类型的分布及其危害情况。

（2）外源基因漂移风险

对于存在可交配的野生近缘种或存在同一物种可交配的植物类型，又无相关数据和资料的，可设计试验评估外源基因漂移风险及可能造成的生态后果，如基因漂移频率、外源基因在野生近缘种中表达情况、目的基因是否改变野生近缘种的生态适合度等。

3. 功能效率评价

提供自然条件下转基因植物的功能效率评价报告。如为有害生物抗性转基因植物，则需要提供对靶标生物的抗性效率试验数据。

抗性效率指抗有害生物转基因植物所产生的抗性物质对靶标生物综合作用的结果，一般通过转基因品种与受体品种在靶标生物数量变化、危害程度、植物长势及产量等方面的差别进行评价。抗病虫转基因植物需提供在室内和田间试验条件下，转基因植物对靶标生物的抗性生测报告、靶标生物在转基因品种及受体品种田季节性发生危害情况和种群动态的试验数据与结论。

4. 有害生物抗性转基因植物对非靶标生物的影响

根据转基因植物与外源基因表达蛋白特点和作用机制，有选择地提供对相关非靶标植食性生物、有益生物（如天敌昆虫、资源昆虫和传粉昆虫等）、受保护的物种等其它非靶标生物潜在影响的评估报告。

5. 对植物生态系统群落结构和有害生物地位演化的影响

根据转基因植物与外源基因表达蛋白的特异性和作用机理，有选择地提供对相关动物群落、植物群落和微生物群落结构和多样性的影响，以及转基因植物生态系统下病虫害等有害生物地位演化的风险评估报告等。

6. 靶标生物的抗性风险

靶标生物的抗性是指靶标生物由于连续多代取食转基因植物，敏感个体被淘汰，抗性较强的个体存活、繁殖、逐渐发展成高抗性种群的现象。抗病虫害转基因植物需提供对靶标生物的作用机制和特点等资料，转基因植物商业化种植前靶标生物的敏感性基线数据，抗性风险评估依据和结论，拟采取的抗性监测方案和治理措施等。

（四）食用安全

按照个案分析的原则，评价转基因植物与非转基因植物的相对安全性。

传统非转基因对照物选择：无性繁殖的转基因植物，以非转基因植物亲本为对照物；有性繁殖的转基因植物，以遗传背景与转基因植物有可比性的非转基因植物为对照物。对照物与转基因植物的种植环境（时间和地点）应具有可比性。

1. 新表达物质毒理学评价

(1) 新表达蛋白资料

提供新表达蛋白质（包括目标基因和标记基因所表达的蛋白质）的分子和生化特征等信息，包括分子量、氨基酸序列、翻译后的修饰、功能叙述等资料。表达的产物若为酶，应提供酶活性、酶活性影响因素（如 pH、温度、离子强度）、底物特异性、反应产物等。

提供新表达蛋白质与已知毒蛋白质和抗营养因子（如蛋白酶抑制剂、植物凝集素等）氨基酸序列相似性比较的资料。

提供新表达蛋白质热稳定性试验资料，体外模拟胃液蛋白消化稳定性试验资料，必要时提供加工过程（热、加工方式）对其影响的资料。

若用体外表达的蛋白质作为安全性评价的试验材料，需提供体外表达蛋白质与植物中新表达蛋白质等同性分析（如分子量、蛋白测序、免疫原性、蛋白活性等）的资料。

(2) 新表达蛋白毒理学试验

当新表达蛋白质无安全食用历史，安全性资料不足时，必须提供急性经口毒性资料，28 天喂养试验毒理学资料视该蛋白质在植物中的表达水平和人群可能摄入水平而定，必要时应进行免疫毒性检测评价。如果不提供新表达蛋白质的经口急性毒性和 28 天喂养试验资料，则应说明理由。

(3) 新表达非蛋白质物质的评价

新表达的物质为非蛋白质，如脂肪、碳水化合物、核酸、维生素及其它成分等，其毒理学评价可能包括毒物代谢动力学、遗传毒性、

亚慢性毒性、慢性毒性/致癌性、生殖发育毒性等方面。具体需进行哪些毒理学试验，采取个案分析的原则。

(4) 摄入量估算

应提供外源基因表达物质在植物可食部位的表达量，根据典型人群的食物消费量，估算人群最大可能摄入水平，包括同类转基因植物总的摄入水平、摄入频率等信息。进行摄入量评估时需考虑加工过程对转基因表达物质含量的影响，并提供表达蛋白质的测定方法。

2. 致敏性评价

外源基因插入产生新蛋白质，或改变代谢途径产生新蛋白质的，应对其蛋白质的致敏性进行评价。

提供基因供体是否含有致敏原、插入基因是否编码致敏原、新蛋白质在植物食用和饲用部位表达量的资料。

提供新表达蛋白质与已知致敏原氨基酸序列的同源性分析比较资料。

提供新表达蛋白质热稳定性试验资料，体外模拟胃液蛋白消化稳定性试验资料。

对于供体含有致敏原的，或新蛋白质与已知致敏原具有序列同源性的，应提供与已知致敏原为抗体的血清学试验资料。

受体植物本身含有致敏原的，应提供致敏原成分含量分析的资料。

3. 关键成分分析

提供受试物基本信息，包括名称、来源、所转基因和转基因性状、

种植时间、地点和特异气候条件、储藏条件等资料。受试物应为转基因植物可食部位的初级农产品，如大豆、玉米、棉籽、水稻种子等。同一种植地点至少三批不同种植时间的样品，或三个不同种植地点的样品。

提供同一物种对照物各关键成分的天然变异阈值及文献资料等。

(1) 营养素。包括蛋白质、脂肪、碳水化合物、纤维素、矿物质、维生素等，必要时提供蛋白质中氨基酸和脂肪中饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸、多不饱和脂肪酸含量分析的资料。矿物质和维生素的测定应选择在该植物中具有显著营养意义或对人群营养素摄入水平贡献较大的矿物质和维生素进行测定。

(2) 天然毒素及有害物质。植物中对健康可能有影响的天然存在的有害物质，根据不同植物进行不同的毒素分析，如棉籽中棉酚、油菜籽中硫代葡萄糖甙和芥酸等。

(3) 抗营养因子。对营养素的吸收和利用有影响、对消化酶有抑制作用的一类物质。如大豆胰蛋白酶抑制剂、大豆凝集素、大豆寡糖等；玉米中植酸；油菜籽中单宁等。

(4) 其他成分。如水分、灰分、植物中的其他固有成分

(5) 非预期成分。因转入外源基因可能产生的新成分。

4. 全食品安全性评价

大鼠 90 天喂养试验资料。必要时提供大鼠慢性毒性试验和生殖毒性试验及其他动物喂养试验资料。

5. 营养学评价

如果转基因植物在营养、生理作用等方面有改变的，应提供营养学评价资料。

(1) 提供动物体内主要营养素的吸收利用资料。

(2) 提供人群营养素摄入水平的资料以及最大可能摄入水平对人群膳食模式影响评估的资料。

6. 生产加工对安全性影响的评价

应提供与非转基因对照物相比，生产加工、储存过程是否可改变转基因植物产品特性的资料，包括加工过程对转入 DNA 和蛋白质的降解、消除、变性等影响的资料，如油的提取和精炼、微生物发酵、转基因植物产品的加工、储藏等对植物中表达蛋白含量的影响。

7. 按个案分析的原则需要进行的其它安全性评价

对关键成分有明显改变的转基因植物，需提供其改变对食用安全性和营养学评价资料。

二、阶段要求

转基因植物安全评价应按照《农业转基因生物安全评价管理办法》的规定撰写申报书，并参照如下要求提供各阶段安全评价材料。以下规定是申请该阶段时所需材料的基本要求。

(一) 申请实验研究

1. 外源基因：包括目的基因、标记基因、报告基因以及启动子、终止子和其他调控序列。外源基因名称应当是按国际通行规则正式命名的名称或 Genbank 中的序列号，未正式命名或无 Genbank 序列号的应提供基因序列。

2. 转基因性状：包括产量性状改良、品质性状改良、生理性状改良、杂种优势改良、抗逆、抗病、抗虫、抗除草剂、生物反应器、其他十种类型。

产量性状改良：指改良株高、株型、籽粒数量、籽粒大小、棉铃数量等。

品质性状改良：指改良淀粉成分、蛋白成分、微量元素含量，硫甙含量、芥酸含量、饱和脂肪酸含量、纤维品质、含油量等。

生理性状改良：指改良生育期、光合效率、营养物质利用率、种子储藏活力、根系活力等。

杂种优势改良：指雄性不育、育性恢复以及改良育性恢复能力等。

抗逆：指改良抗旱性、耐涝性、耐寒性、耐盐性等。

3. 实验转基因植物材料数量：一份申报书中只能包含同一物种的受体生物和相同的转基因性状。

4. 实验年限：一般为一至两年。

（二）申请中间试验

1. 提供外源插入序列的分子特征资料。

2. 提供每一个转化体的转基因植株自交或杂交代别，及相应代别目的基因和标记基因 PCR 检测或转化事件特异性 PCR 检测的资料。

3. 按《转基因植物及其产品食用安全评价导则》(NY/T1101-2006) 提供受体植物、基因供体生物的安全性评价资料。

4. 提供新表达蛋白质的分子和生化特征等信息，以及提供新表

达蛋白质与已知毒蛋白质和抗营养因子氨基酸序列相似性比较的资料。

5. 提供抗虫植物表达蛋白质和已商业化种植的转基因抗虫植物对靶标害虫作用机制的分析资料，评估交互抗性的风险。

（三）申请环境释放

1. 申请中间试验提供的相关资料，以及中间试验结果的总结报告。

2. 提供每个转基因株系中目的基因和标记基因整合进植物基因组的 Southern 杂交图和插入拷贝数，或提供每个转基因株系转化事件特异性 PCR 检测图，并注明转基因株系的代别和编号。

3. 提供目的基因在转录水平或翻译水平表达的资料。

4. 提供转基因株系遗传稳定性的资料，包括目的基因和标记基因整合的稳定性、表达的稳定性和表型性状的稳定性。

5. 对于抗病虫害转基因植物，提供目标蛋白的测定方法，植物不同发育阶段目标蛋白在各器官中的含量，以及对靶标生物的田间抗性效率。

6. 新蛋白质（包括目的基因和标记基因所表达的蛋白质）在植物食用和饲用部位表达含量的资料。

7. 提供靶标害虫对新抗虫植物和已商业化种植的抗虫植物交互抗性的研究资料。

8. 提供对可能影响的非靶标生物的室内生物测定资料。

9. 提供目标性状和功能的评价资料。如，抗虫植物应明确靶标

生物种类并提供室内或田间生测报告。

（四）申请生产性试验

分为两种类型，一是转化体申请生产性试验，二是用取得农业转基因生物安全证书的转化体与常规品种杂交获得的衍生品系申请生产性试验。

1. 转化体申请生产性试验

（1）申请环境释放提供的相关资料，以及环境释放结果的总结报告。

（2）提供转化体外源插入片段（如转化载体骨架、目的基因和标记基因等）整合进植物基因组的 Southern 杂交图和插入拷贝数，或提供转化事件特异性 PCR 检测图，并注明供试材料的名称和代别。

（3）提供目的基因和标记基因翻译水平表达的资料，或目标基因（被 RNAi 等方法所干涉的基因）在转录水平或翻译水平表达的资料。

（4）提供该转化体遗传稳定性至少 2 代的资料，包括目的基因整合的稳定性、表达的稳定性和表现性状的稳定性。

（5）提供该转化体个体生存竞争能力的资料。

（6）提供该转基因植物基因漂移的资料。

（7）提供目标性状和功能的评价资料。如，抗虫植物应提供田间试验条件下，靶标生物在转基因品种及受体品种田季节性发生危害情况和种群动态的试验数据。

（8）提供靶标生物对抗病虫转基因植物的抗性风险评价资料。

(9) 提供对非靶标生物和生物多样性影响的评价资料。

(10) 提供新表达蛋白质体外模拟胃液蛋白消化稳定性试验资料。

(11) 必要时提供全食品毒理学评价资料。

2. 用取得农业转基因生物安全证书的转化体与常规品种杂交获得的衍生品系申请生产性试验

(1) 已取得农业转基因生物安全证书的转化体综合评价报告及相关附件资料。

(2) 提供亲本名称及其选育过程的资料。

(3) 提供外源插入片段（如转化载体骨架、目的基因和标记基因等）整合进植物基因组的 Southern 杂交图和插入拷贝数，或提供转化事件特异性 PCR 检测图，并注明供试材料的名称和代别。

（五）申请安全证书

分为农业转基因生物安全证书（生产应用）和农业转基因生物安全证书（进口用作加工原料）两种类型。其中，农业转基因生物安全证书（生产应用）包括转化体申请生产证书，以及用取得农业转基因生物安全证书的转化体与常规品种杂交获得的衍生品系申请安全证书两种情况。

类型 1：申请农业转基因生物安全证书（生产应用）

1. 转化体申请生产证书

(1) 汇总以往各试验阶段的资料，提供环境安全和食用安全综合评价报告。

(2) 提供外源插入片段整合进植物基因组的资料。包括能明确外源片段（如转化载体骨架、目的基因和标记基因等）整合拷贝数并具有转化事件特异性的分子杂交图谱，整合进植物基因组的外源片段的全长 DNA 序列和插入位点两端的边界序列，以及转化事件特异性 PCR 检测图等。

(3) 提供该转化体遗传稳定性至少 3 代的资料，包括目的基因整合的遗传稳定性、表达的稳定性和表现性状的稳定性。

(4) 提供该转化体个体生存竞争能力、自然延续或建立种群能力的资料。

(5) 提供该转基因植物基因漂移的资料。

(6) 提供至少 2 代对目标性状和功能的田间评价资料。

(7) 提供靶标生物对转基因植物所产生抗病/虫物质的敏感性基线资料，抗性风险评估的依据和结论；拟采取的靶标生物综合治理策略、抗性监测方案和治理措施等。

(8) 提供至少 2 代对非靶标生物和生物多样性影响的评价资料，以及转基因植物生态系统下病虫害地位演化的风险评估报告。

(9) 提供完整的毒性、致敏性、营养成分、抗营养因子等食用安全资料。

(10) 如为续申请，则需要提供上次批准期限内的商业化种植数据和环境影响监测报告。

2. 取得农业转基因生物安全证书的转化体与常规品种杂交获得的衍生品系申请安全证书

(1) 申请生产性试验提供的相关资料, 以及生产性试验的总结报告。

(2) 提供亲本名称及其选育过程的资料。

(3) 提供外源插入片段整合进植物基因组的资料。包括能明确外源片段(如转化载体骨架、目的基因和标记基因等)整合拷贝数并具有转化事件特异性的分子杂交图谱, 整合进植物基因组的外源片段的全长 DNA 序列和插入位点两端的边界序列, 或转化事件特异性 PCR 检测图等。

(4) 提供目的基因和标记基因翻译水平表达的资料, 或目标基因(被 RNAi 等方法所干涉的基因)在转录水平或翻译水平表达的资料。

(5) 提供遗传稳定性的资料, 包括目的基因整合的稳定性、表达的稳定性和表现性状的稳定性。

(6) 提供目标性状和功能的评价资料。如, 抗虫植物应提供田间试验条件下, 靶标生物在转基因及受体品种田间季节性发生危害情况和种群动态的试验数据。

(7) 如为续申请, 则需要提供上次批准期限内的商业化种植数据和环境影响监测报告。

类型 2: 申请农业转基因生物安全证书(进口用作加工原料)

(1) 提供环境安全和食用安全综合评价报告。

(2) 农业转基因生物技术检测机构出具的环境安全和食用安全检测报告, 环境安全检测报告一般包括生存竞争能力、基因漂移的环

境影响、对非靶标生物和生物多样性影响的评价资料等；食用安全检测报告一般包括抗营养因子分析、全食品喂养安全性（大鼠 90 天喂养）等。对于新性状、新类型的转基因植物的检测内容根据个案原则确定。

（3）提供外源插入片段整合进植物基因组的资料。包括能明确外源片段（如转化载体骨架、目的基因和标记基因等）整合拷贝数并具有转化事件特异性的分子杂交图谱，整合进植物基因组的外源片段的全长 DNA 序列和插入位点两端的边界序列，以及转化事件特异性 PCR 检测图等。

（4）提供完整的毒性、致敏性、营养成分、抗营养因子等食用安全资料。

（5）输出国家或者地区经过科学试验证明对人类、动植物、微生物和生态环境无害的资料。