

深 圳 市 农 业 地 方 标 准

DB 440300/T 32.2—2007

农业转基因生物食用安全性检验 第2部分：毒性检验

Edible safety determination of agriculture genetically modified organisms—
Part II : Testing for toxicity

2007-11-12 发布

2008-02-12 实施

深圳市质量技术监督局 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 项目与程序	1
5 受体生物毒性的检验	1
6 基因操作对受体生物毒性影响的检验	4

前　　言

DB 440300/T 32-2007 《农业转基因生物食用安全性检验》分成五个部分：

- 第1部分：样品制备；
- 第2部分：毒性检验；
- 第3部分：致敏性检验；
- 第4部分：抗营养作用检验；
- 第5部分：非期望效应检验。

本部分为DB 440300/T 32的第2部分。

本部分由深圳市农林渔业局和深圳市卫生局提出。

本部分由深圳市农林渔业局和深圳市卫生局负责解释。

本部分主要起草单位：深圳市疾病预防控制中心、深圳市农作物良种引进中心。

本部分主要起草人：邓平建 周向阳 杨冬燕 侯红利 刘晋 杨永存 杨小柯 王学林 李永红 吴水清
周鹏 杜忠

农业转基因生物食用安全性检验

第2部分：毒性检验

1 范围

本部分规定了农业转基因生物毒性检验的项目、程序和方法。

本部分适用于农业转基因生物毒性的检验。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB 15193.1~15193.21 食品安全性毒理学评价程序和方法

NY/T 1102—2006 转基因植物及其产品食用安全性检测 90 d 喂养试验

SZJG 23 农业转基因生物食用安全性要求和评价

DB 440300/T 32.1 农业转基因生物食用安全性检验 第1部分 样品制备

中华人民共和国卫生部 保健食品检验与评价技术规范（2003年版）

3 术语和定义

SZJG 23确立的术语和定义适用于本部分。

4 项目与程序

4.1 检验项目

4.1.1 受体生物毒性。

4.1.2 基因操作对受体生物毒性的影响。

4.2 检验程序

检验程序见图1。

5 受体生物毒性的检验

5.1 资料性审查

5.1.1 申报资料审查

对待检的转基因生物的受体生物食用史、食用毒性记录及安全控制措施等申报资料进行审查，分析受体生物的毒性及可能存在的天然生物毒素的名称及分布状态、受体生物食用方法和加工方式对其所含天然生物毒素安全控制措施的作用和效果。

5.1.2 信息检索

应用国际通用的生物信息学数据库，检索受体生物食用毒性记录的资料，分析受体生物毒性及可能产生天然生物毒素的名称、分子量、氨基酸序列、分子特性及分布状态。

注：国际通用的生物信息学数据库是指GenBank（网址：<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Web/Genbank/>）、EMBL（网址：<http://www.embl-heidelberg.de/>）、SWISS-PROT and TrEMBL（网址：<http://www.expasy.ch>）、国际生命科学学院（ILSI）

美国分院创建的作物成分数据库（网址：<http://www.cropcomposition.org/>）和 EuroFIR-BASIS（网址：<http://www.eurofir.net/>）。

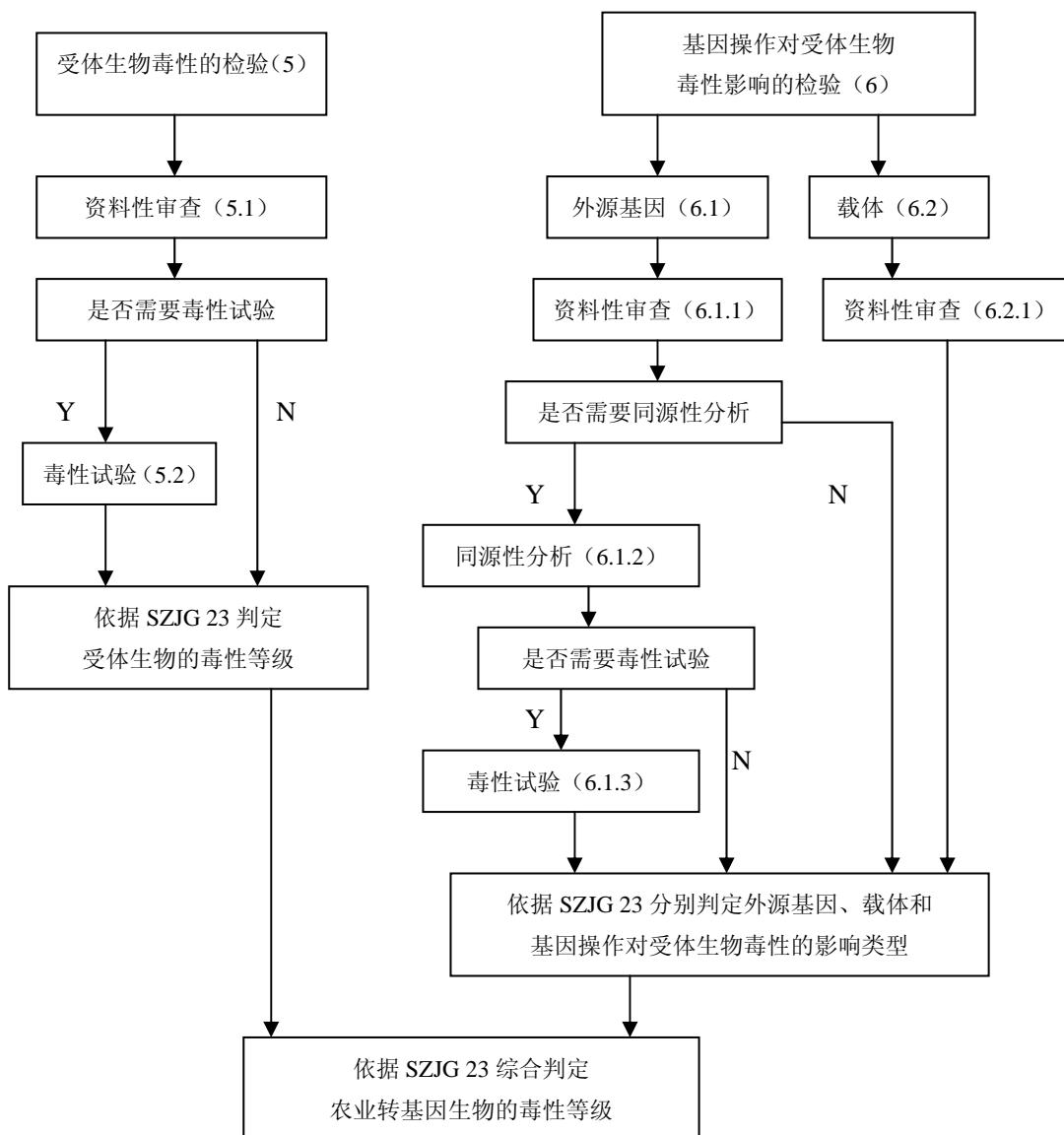


图 1 农业转基因生物毒性检验程序

5.1.3 结果判定

5.1.3.1 受体生物在国内或国外有长期食用史，可判定受体生物为传统农业生物。

5.1.3.2 受体生物在国内外均无食用史，或者仅在国外少数国家有食用史，或者仅在国内少数地区有食用史的生物，可判定受体生物为非传统农业生物。

5.1.3.3 受体生物为相关文献资料记载的，或相关数据库登录的含有天然生物毒素的生物，可判定受体生物有天然生物毒素。

5.1.3.4 受体生物为相关文献资料记载的，或相关数据库登录的不含天然生物毒素的生物，可判定受体生物无天然生物毒素。

5.1.3.5 对于非传统农业生物的受体生物，需要进行毒性试验。

5.2 毒性试验

5.2.1 试验阶段

5.2.1.1 国内外均无食用历史的受体生物，对其进行下述四个阶段的毒性试验：

第一阶段：急性毒性试验（LD₅₀测定、联合急性毒性测定、最大耐受剂量测定）。

第二阶段：遗传毒性试验、30 d 喂养试验、传统致畸试验。

第三阶段：亚慢性毒性试验（90 d 喂养试验、繁殖试验、代谢试验）。

第四阶段：慢性毒性试验（包括致癌试验）。

5.2.1.2 仅在国外少数国家或国内局部地区有食用历史的受体生物，对其进行第一、二、三阶段的毒性试验，必要时进行第四阶段毒性试验。

5.2.1.3 在国外多个国家广泛食用的受体生物，对其进行第一、二阶段的毒性试验，根据试验结果决定是否进行下一阶段的毒性试验。

5.2.1.4 我国卫生部规定允许用于保健食品的动植物和微生物（普通食品和卫生部规定的药食同源物质除外），进行急性毒性试验、三项致突变试验和30 d 喂养试验，必要时进行传统致畸试验和第三阶段的毒性试验。

5.2.2 各阶段毒性试验方法

参照 GB 15193.3~15193.17 和 NY/T 1102—2006 规定的方法。

5.2.3 结果判定

5.2.3.1 急性毒性试验

5.2.3.1.1 受体生物的LD₅₀小于人的可能摄入量的100倍，可判定该受体生物不可应用于食品。

5.2.3.1.2 受体生物的LD₅₀大于或等于人的可能摄入量的100倍，该受体生物可进入下一阶段毒性试验。

5.2.3.1.3 试验动物未出现死亡的剂量大于或等于10 g/kg BW（涵盖人体推荐量的100倍），该受体生物可进入下一阶段毒理学试验。

5.2.3.1.4 对人的可能摄入量较大的受体生物，按最大耐受剂量法给予最大剂量动物未出现死亡，该受体生物可进入下一阶段毒理学试验。

5.2.3.2 遗传毒性试验

5.2.3.2.1 3项致突变试验中，体内和体外有1项或以上试验阳性，则该受体生物很可能具有遗传毒性，不再继续其他毒理学试验，可判定该受体生物不可应用于食品。

5.2.3.2.2 3项试验均为阴性，该受体生物可继续进行下一阶段的毒性试验。

5.2.3.3 30 d 喂养试验

5.2.3.3.1 对只要求进行第一、二阶段毒理学试验的受体生物，若30 d 喂养试验的最大未观察到有害作用剂量大于或等于人的可能摄入量的100倍，综合其他各项试验结果，可初步判定该受体生物是否可应用于食品。

5.2.3.3.2 对只要求进行第一、二阶段毒理学试验，且对人的可能摄入量较大的受体生物，按最大灌胃剂量组或在饲料中的最大掺入量剂量组未发现有毒性作用，综合其他各项试验结果，可初步判定该受体生物是否可应用于食品。

5.2.3.3.3 若最小观察到有害作用剂量小于或等于人的可能摄入量的100倍，或观察到毒性反应的最小剂量组其受试物在饲料中的比例小于或等于10%，且剂量又小于或等于人的可能摄入量的100倍，可判定该受体生物不可应用于食品。

5.2.3.4 传统致畸试验

5.2.3.4.1 以LD₅₀或30 d 喂养试验的最大未观察到有害作用剂量设计的受试物各剂量组，如果在任何一个剂量组观察到受试物的致畸作用，可判定该受体生物不可应用于食品。

5.2.3.4.2 以LD₅₀或30 d 喂养试验的最大未观察到有害作用剂量设计的受试物各剂量组，如果在任何一个剂量组观察到有胚胎毒性作用，则应进行进一步的繁殖试验。

5.2.3.5 90 d 喂养和繁殖试验

5.2.3.5.1 对要求进行第一、二、三阶段的受体生物，如最大未观察到有害作用剂量大于人的可能摄入量的 100 倍者，可判定该受体生物可应用于食品。

5.2.3.5.2 对要求进行第一、二、三阶段的受体生物，如最小观察到有害作用剂量小于或等于人的可能摄入量 100 倍，或最小观察到有害作用剂量组其受试物在饲料中的比例小于或等于 10%，且剂量又小于或等于人的可能摄入量的 100 倍，可判定该受体生物不可应用于食品。

5.2.3.5.3 对要求进行第一、二、三、四阶段的受体生物，如最大未观察到有害作用剂量大于人的可能摄入量的 100 倍而小于 300 倍者，应进行慢性毒性试验；如最大未观察到有害作用剂量大于 300 倍者，不必进行慢性毒性试验，可判定该受体生物可应用于食品。

5.2.3.6 慢性毒性和致癌试验

5.2.3.6.1 如最大未观察到有害作用剂量小于或等于人的可能摄入量的 50 倍，可判定该受体生物不可应用于食品。

5.2.3.6.2 如最大未观察到有害作用剂量大于 50 倍而小于 100 倍者，综合其他各项试验结果，可判定该受体生物是否可用于食品。

5.2.3.6.3 如最大未观察到有害作用剂量大于 100 倍者，可判定该受体生物可应用于食品。

6 基因操作对受体生物毒性影响的检验

6.1 外源基因

6.1.1 资料性审查

6.1.1.1 申报资料审查

6.1.1.1.1 对待检的转基因生物的外源基因（包括目的基因、报告基因和标记基因）的序列、来源及改造的资料进行审查，分析外源基因的供体生物及食用史。

6.1.1.1.2 对待检的转基因生物的供体生物的食用毒性记录的资料进行审查，分析供体生物的毒性及可能存在的天然生物毒素的名称及分布状态。

6.1.1.1.3 对待检的转基因生物的目的基因的设计功能的资料进行审查，分析目的基因导入受体生物基因组后，对受体生物中天然生物毒素预期产生的作用。

6.1.1.2 信息检索

6.1.1.2.1 检索供体生物在国内外食用时间、范围及方法等相关信息。

6.1.1.2.2 应用国际通用的生物信息学数据库（同 5.1.2），检索供体生物的毒性及可能存在的天然生物毒素的名称、分布状态、分子量、氨基酸序列、分子特性及相关基因序列。

6.1.1.3 结果判定

6.1.1.3.1 外源基因的全序列来源于在国内或国外有长期食用史的生物，或者外源基因的全序列与国内外已批准应用于转基因生物的外源基因的序列相同，可判定供体生物为传统农业生物；外源基因的全序列来源于在国内外均无食用史，或者仅在国外少数国家有食用史，或者仅在国内少数地区有食用史的生物，可判定供体生物为非传统农业生物。

6.1.1.3.2 外源基因的序列仅部分来源于传统农业生物，或者外源基因的序列来源于对生物原有基因的改造（包括 DNA 片段的拼接、碱基置换、碱基插入或碱基删除等），或者外源基因的全序列与国内外已批准应用于转基因生物的外源基因的序列不同，可判定供体生物为非传统农业生物。

6.1.1.3.3 供体生物为相关文献资料记载的或相关数据库登录的含有天然生物毒素的生物，可判定供体生物有天然生物毒素；供体生物为相关文献资料记载的或相关数据库登录的不含天然毒素成分的生物，可判定供体生物无天然生物毒素。

6.1.1.3.4 对于供体生物为有天然生物毒素的传统农业生物的外源基因，或者对于供体生物为非传统农业生物的外源基因，需要进行同源性分析。

6.1.1.3.5 目的基因的设计功能为消除或者降低受体生物中天然生物毒素，可判定目的基因的导入预期具有消除或者降低受体生物中天然生物毒素的作用；目的基因的设计功能与受体生物中天然生物毒素的存在种类或含量无关，可判定目的基因的导入不改变受体生物中天然生物毒素的种类或含量。

6.1.2 同源性分析

6.1.2.1 搜索同源基因

根据外源基因核苷酸序列，应用 GenBank 的 Blast 功能搜索同源基因。

6.1.2.2 序列同源性分析

6.1.2.2.1 如有同源基因，获取同源基因的编号、名称及其表达产物的名称、分子量和氨基酸序列。

6.1.2.2.2 根据外源基因和同源基因表达产物的氨基酸顺序，按每 80 个氨基酸为一组，将表达产物分为若干个比较单位。

6.1.2.2.3 应用 EMBL 的氨基酸序列同源性分析软件，对外源基因和同源基因表达产物的氨基酸序列进行比对分析。

6.1.2.3 结果判定

6.1.2.3.1 未搜索到与外源基因的核苷酸序列有连续 18 个或者以上的核苷酸顺序相同的序列，可判定外源基因无同源基因；搜索到与外源基因的核苷酸序列有连续 18 个或者以上的核苷酸顺序相同的序列，可判定外源基因有同源基因。

6.1.2.3.2 外源基因与同源基因的表达产物每 80 个氨基酸中，有等于或者超过 35% 的氨基酸残基的顺序相同，或者有连续 6 个或者以上的氨基酸顺序相同，可判定外源基因与同源基因的表达产物的氨基酸序列有同源性。

6.1.2.3.3 同源基因的表达产物为天然食物蛋白，外源基因与同源基因的表达产物的氨基酸序列有同源性，可判定外源基因表达产物与天然食物蛋白的氨基酸序列有同源性。

6.1.2.3.4 同源基因的表达产物为天然生物毒素，外源基因与同源基因的表达产物的氨基酸序列有同源性，可判定外源基因表达产物与天然生物毒素的氨基酸序列有同源性。

6.1.2.3.5 外源基因的供体生物为非传统农业生物，外源基因无同源基因，或者外源基因表达产物与天然食物蛋白和天然生物毒素的氨基酸序列均无同源性，需要进行毒性试验。

6.1.3 毒性试验

6.1.3.1 试验阶段

同 5.2.1.1。

6.1.3.2 试验样品

按 DB440300/T 32.1 规定的方法制备外源基因的表达产物，并鉴定制备产物与农业转基因生物中存在的同一表达产物具有相同的结构和活性。

6.1.3.3 试验方法

参照 GB 15193.3~15193.17 和 NY/T 1102-2006 规定的方法。

6.1.3.4 结果判定

同本部分 5.2.3。

6.2 载体

6.2.1 资料性审查

6.2.1.1 审查载体在农业基因工程中应用的相关资料，确定载体被批准作为农业基因工程载体应用的时间和国家。

6.2.1.2 对待检的转基因生物的载体的供体生物的相关资料进行审查，分析供体生物食用史。

6.2.1.3 对待检的转基因生物的载体的供体生物的食用毒性记录的相关资料进行审查，分析供体生物的毒性及可能存在的天然生物毒素的名称及分布状态。

6.2.2 结果判定

6.2.2.1 在我国、其他国家或国际组织批准应用于农业转基因生物的载体，可判定为国家、国际组织批准使用的载体；未见在农业转基因生物中应用的载体，可判定为未被任何国家或者国际组织批准使用的载体。

6.2.2.2 供体生物在国内或国外有长期食用史，可判定供体生物为传统农业生物；供体生物在国内外均无食用史，或者仅在国外少数国家有食用史，或者仅在国内少数地区有食用史的生物，可判定供体生物为非传统农业生物。

6.2.2.3 供体生物为相关文献资料记载的，或相关数据库登录的含有天然生物毒素的生物，可判定供体生物有天然生物毒素；供体生物为相关文献资料记载的，或相关数据库登录的不含天然生物毒素的生物，可判定供体生物无天然生物毒素。
