

---

## 重组 DNA 微生物衍生食品安全性评估指南

---

CAC/GL 46-2003

### 第 1 节 — 范围

1. 本指南用于补充《现代生物技术衍生食品风险分析原则》，并涵盖重组 DNA 微生物衍生食品的安全性和营养方面。<sup>1</sup> 用于生产这些食品的重组 DNA 微生物通常是使用现代生物技术从在食品生产中具有安全、有意识的使用历史的菌株中提取的。但是，在受体菌株没有安全使用历史的情况下，必须确定其安全性。<sup>2</sup> 此类食品和食品成分可能含有活性或非活性重组 DNA 微生物，也可能是通过使用重组 DNA 微生物发酵生产，而重组 DNA 微生物可能已从中去除。

2. 认识到以下问题可能必须由其他机构或其他文件解决，本文件不涉及：

- 农业中使用的微生物的安全性（用于植物保护、生物肥料、动物饲料或由饲料喂养的动物衍生的食品等）；
- 与食品生产中使用的重组 DNA 微生物的环境释放相关的风险；
- 微生物产生的用作添加剂或加工助剂物质的安全性，包括用于食品生产的酶<sup>3</sup>；
- 可能归因于在食品中使用微生物的据信存在的特定健康益处或益生菌作用；或者
- 与处理重组 DNA 微生物的食品生产工人的安全有关的问题。

3. 早在科学评估之前，食品生产中使用的多种微生物在安全使用方面就有着悠久的历史。很少有微生物通过科学评估充分确定它们为食品生产带来的所有潜在风险，在某些情况下，包括食用活性微生物。食品法典风险分析原则，特别是有关风险评估的部分，主要适用于离散化学实体，例如食品添加剂和农药残留，或具有可识别危害和风险的特定化学或微生物污染物；此等原则最初并不打算应用于在食品加工或通过微生物发酵转化的食品中有意使用微生物的做法。已进行的安全性评估主要集中在这些微生物中没有与致病性相关的特性，并且没有关于摄入这些微生物的不良事件的报告，而不是评估规定研究的结果。此外，如果采用常规安全测试方法，许多食品含有被认为有害的物质。因此，在考虑全天然食品的安全性时，需要采取更有针对性的方法。

4. 在制定这种方法时考虑的信息包括：

- A) 活性微生物在食品生产中的使用；
- B) 考虑可能在这些生物体中进行的基因修饰类型；
- C) 可用于进行安全性评估的方法类型；以及
- D) 在食品生产中使用重组 DNA 微生物的具体问题，包括其遗传稳定性、基因转移的潜力、胃肠道的定植和持久性<sup>4</sup>、重组 DNA 微生物可能与胃肠道菌群或哺乳动物寄主的相互作用、以及重组 DNA 微生物对免疫系统的任何影响。

---

<sup>1</sup> 这些应用方式中包括的微生物是细菌、酵母菌和丝状真菌。（此类用途可能包括但不限于生产酸奶、奶酪、发酵香肠、纳豆、泡菜、面包、啤酒和葡萄酒。）

<sup>2</sup> 在没有安全使用历史的情况下确定用于食品生产的微生物的安全性标准不属于本文件的讨论范围。

<sup>3</sup> 粮农组织/世卫组织食品添加剂联合专家委员会 (JECFA) 正在修订食品加工中使用的酶制剂的一般规范和注意事项指南。这些指南已被用于评估源于转基因微生物的酶制剂。

<sup>4</sup> 持久性意味着微生物在胃肠道中的存活时间超过两次肠道转运时间（国际生命科学研究所，“用作食品的转基因微生物的安全性评估”，1999 年，布鲁塞尔；粮农组织/世卫组织生物技术衍生食品联合专家磋商会 — “转基因微生物衍生食品安全评估”，2001 年 9 月 24-28 日，瑞士日内瓦）。

5. 这种方法所基于的原则是：重组 DNA 微生物衍生食品的安全性是相对于具有安全使用历史的常规对应物进行评估的，不仅针对重组 DNA 微生物衍生食品，还针对微生物本身。这种方法同时考虑了预期和非预期的影响。它侧重于识别相对于常规对应物的新的或改变的危害，而不是试图识别与特定食品或微生物相关的每一种危害。

6. 如《现代生物技术衍生食品风险分析原则》第 3 节所述，这种安全性评估方法在风险评估框架之内。如果在安全性评估中发现新的或改变的危害、营养问题或其他食品安全问题，将首先评估与之相关的风险，以确定与人类健康的相关性。在进行安全性评估之后（必要时进行进一步的风险评估）和作出商业销售的决定之前，食品或食品成分（如生产中使用的微生物）将根据《现代生物技术衍生食品风险分析原则》考虑风险管理措施。

7. 风险管理措施（例如对消费者健康影响的上市后监测）可能有助于风险评估过程。《现代生物技术衍生食品风险分析原则》第 20 段对这些问题进行了讨论。

8. 该指南描述了对重组 DNA 微生物衍生食品进行安全性评估的建议方法，该方法涉及与常规对应物进行比较。安全评估将侧重于食品生产中使用的重组 DNA 微生物的安全性，在适当情况下亦侧重于通过重组 DNA 微生物对食品的作用产生的代谢物。该指南确定了通常适用于进行此类评估的数据和信息。在将重组 DNA 微生物或重组 DNA 微生物衍生食品与其各自的常规对应物进行比较时，应考虑任何已发现的差异，无论是预期还是非预期结果。应当考虑重组 DNA 微生物与食物基质或微生物群的相互作用，以及任何新表达的蛋白质和次级代谢产物的安全性。虽然本指南是为重组 DNA 微生物衍生食品或其成分设计的，但所描述的方法通常也适用于使用被其他技术改变的微生物生产的食品。

## 第 2 节 — 定义

9. 以下定义适用于本指南：

**“重组 DNA 微生物”** — 指通过体外核酸技术改变遗传材料的细菌、酵母菌或丝状真菌，此类技术包括重组脱氧核糖核酸（DNA）和将核酸直接注射到细胞或细胞器中。

**“常规对应物”**<sup>5</sup> — 指：

- 在生产和/或加工食品中具有已知安全使用历史并与重组 DNA 菌株相关的微生物/菌株。微生物可能在食品中存活，或可能在加工过程中被去除或失去活性；或者
- 使用传统食品生产中的微生物生产的食品，这种微生物在食品生产中普遍使用并确立了安全性。

## 第 3 节 — 食品安全评估简介

10. 通过有意识地让微生物生长而制作的大多数食品源于古代，并且早在评估安全性的科学方法出现之前就建立了其安全性。微生物具有生长速度快等特性，无论是采用常规技术还是现代生物技术，都可以在短时间内实施基因修饰。使用常规遗传技术衍生、并在食品生产中使用的微生物通常在上市前没有经过广泛的化学、毒理学、流行病学或医学评估。相反，微生物学家、真菌学家和食品技术专家评估了新的细菌、酵母菌和丝状真菌菌株的可用于食品生产的表型特征。

11. 重组 DNA 微生物的安全性评估应记录相关微生物在食品中的使用、重组 DNA 微生物或用于构建重组 DNA 微生物的受体菌株中已知病原体特征的缺失，以及涉及受体或相关生物体的已知不良事件。此外，当重组 DNA 微生物直接影响食品或残留在食品中时，应检查对食品安全的任何影响。

---

<sup>5</sup> 研究人员认为，在可预见的未来，源于现代生物技术的食品不会被用作常规对应物。

12. 使用动物模型评估毒理学效果是许多化合物（如农药）风险评估的一项主要内容。然而，在大多数情况下，待测物质的特征已经确定，纯度已知，没有特别的营养价值，人类的暴露风险通常很低。因此，为了确定一种物质对人类健康是否具有潜在不利影响，相对简单的做法是以比预期人类暴露风险水平高几个数量级的剂量将此类化合物饲喂动物。在大多数情况下，通过这种方式可以估计未观察到不利影响的暴露水平，并通过应用适当的安全系数来设定安全摄入水平。

13. 动物研究不能便利地用于测试与全天然食品相关的风险，全天然食品是复杂的化合物混合物，在成分和营养价值方面常常存在很大的差异。由于它们的体积和对饱腹感的影响，它们通常只能以人类膳食中可能的存在量的低倍数饲喂动物。此外，在对食品进行动物研究时要考虑的一个关键因素是所用膳食的营养价值和平衡，以避免诱发与材料本身没有直接关系的不良反应。因此，检测任何潜在的不利影响并有把握地确认这些影响与食品单项特征之间的联系可能是极其困难的。如果对食品特征的确定表明现有数据不足以进行充分的安全性评估，则可以要求对全天然食品进行适当设计的动物研究。决定是否需要进行动物研究的另一个考虑因素是，如果不太可能产生有意义的信息，将实验动物置于此类研究中是否合适。

14. 通常用于毒理学评估的动物研究也不能便利地应用于测试与摄入用于食品生产的微生物相关的潜在风险。微生物是有生命的实体，包含由许多生物物质组成的复杂结构，因此无法与纯化合物进行比较。在一些加工食品中，它们可以在加工和摄入过程中存活下来，并且具有竞争能力，在某些情况下可以在肠道环境中滞留很长时间。在供体或基因或基因产品在食品中没有安全使用历史的情况下，应使用适当的动物研究来评估重组 DNA 微生物的安全性，同时考虑有关供体以及被修饰遗传材料和基因产品的可用信息。此外，适当设计的动物研究可用于评估食物的营养价值或食物中新表达物质的生物利用度。

15. 由于难以将传统的毒理学测试和风险评估程序应用于全天然食品，需要一种更有针对性的方法来对重组 DNA 微生物衍生食品进行安全性评估。这个问题已经通过开发用于评估安全性的多学科方法得到解决，该方法使用实质等同的概念，考虑到预期的影响、修饰的性质和可检测到的可能发生在微生物中或其对食品作用中的非预期变化<sup>6</sup>。

16. 虽然安全性评估将侧重于重组 DNA 微生物，但在应用实质等同概念时应考虑有关此等微生物与食品基质相互作用的其他信息，这是安全评估过程中的一个关键步骤。然而，实质等同概念本身并不是安全性评估。相反，它代表了一个起点，用于构建重组 DNA 微生物相对于其常规对应物的安全性评估，以及重组 DNA 微生物衍生食品相对于其常规对应物的安全性评估。该概念用于确定食品加工中使用的重组 DNA 微生物以及重组 DNA 微生物衍生食品与第 9 段中定义的它们各自的常规对应物之间的相似性和差异，以进行评估。它有助于识别潜在的安全和营养问题，被认为是迄今为止对重组 DNA 微生物衍生食品进行安全性评估的最合适的策略。以这种方式进行的安全性评估并不意味着新产品将绝对安全；相反，它侧重于评估所识别的任何差异的安全性，以便确定重组 DNA 微生物和重组 DNA 微生物衍生食品相对于它们各自的常规对应物的安全性。

## 非预期效果

17. 在通过添加、替换、去除或重排定义的 DNA 序列（包括用于在受体生物中进行 DNA 转移或维持目的的序列）来赋予微生物特定目标性状（预期效果）时，在某些情况下可能会产生附加性状，现有性状也可能丢失或被修饰。发生非预期效果的可能性并不限于使用体外核酸技术的情况。相反，它是一种固有的普遍现象，也可能发生在使用传统遗传技术和程序开发菌株的过程中，或者源于微生物对有意或无意的选择性压力的暴露。在与其他微生物的竞争、微生物的生态适应性、微生物摄入后对人类的影响或使用微生物生产的食品的安全性等方面，非预期效果可能是有害的、有益的或中性的。重组 DNA 微生物中的非预期效果也可能通过有意修饰

---

<sup>6</sup> 实质等同概念见粮农组织/世卫组织生物技术衍生食品联合专家磋商会 — “转基因植物的安全方面”，2000 年 5 月 29 日至 6 月 2 日，瑞士日内瓦；粮农组织/世卫组织生物技术衍生食品联合专家磋商会 — “转基因微生物衍生食品安全性评估” 第 4.3 节，2001 年 9 月 24 日至 28 日，瑞士日内瓦。

DNA 序列而产生，或者可能源于重组或重组 DNA 微生物中的其他自然事件。

安全性评估应包括数据和信息，以减少重组 DNA 微生物衍生食品对人类健康产生意外不利影响的可能性。

18. 将微生物的新 DNA 序列插入微生物基因组可能会导致非预期效果；它们可以与在自然发生的转座基因元件的活动之后观察到的情况进行比较。DNA 的插入可能导致受体基因组中基因表达的变化。异源 DNA 插入基因也可能导致嵌合蛋白的合成，亦称为融合蛋白。此外，还需要考虑遗传不稳定性及其后果。

19. 非预期效果也可能导致新的或改变的代谢物模式。例如，酶的高水平表达或生物体新酶的表达可能会引起次级生化效果、代谢途径调节的变化或代谢物水平的改变。

20. 由基因修饰引起的非预期效果可细分为两组：“可预测的”和“意外的”。在很大程度上，许多非预期效果可以根据添加的性状及其代谢序列或插入位点来预测。与其他形式的基因操作相比，由于微生物基因组和生理学知识的不断扩展，以及通过重组 DNA 技术引入的遗传材料的特异性增加，可能更容易预测特定修饰的非预期效果。分子生物学和生化技术也可用于在基因转录和信息翻译层面分析可能导致非预期效果的变化。

21. 对重组 DNA 微生物衍生食品的安全评估涉及识别和检测此类非预期效果的方法，还涉及评估其生物学相关性和对食品安全的潜在影响的程序。评估非预期效果需要多种数据和信息，因为没有一项单独的测试可以检测所有可能的非预期效果或判定与人类健康相关的影响。对这些数据和信息的综合考虑可以保证食品不太可能对人类健康产生不利影响。非预期效果评估考虑到微生物的生化 and 生理特征，通常基于这些特征选择用于改进商业食品或饮料的菌株。这些测定对表现出非预期性状的微生物作了第一次筛选。通过这一筛选的重组 DNA 微生物将按照第 4 节描述的方法进行安全评估。

### 食品安全评估框架

22. 对重组 DNA 微生物衍生食品的安全评估基于对微生物安全性的确定，遵循一个分步骤解决相关因素的过程，包括：

- A) 对重组 DNA 微生物的描述；
- B) 对受体微生物及其在食品生产中的用途的描述；
- C) 对供体生物体的描述；
- D) 对基因修饰的描述，包括载体和构建体；
- E) 对基因修饰特征的描述；
- F) 安全性评估：
  - a) 表达物质：评估潜在毒性和其他与致病性相关的性状；
  - b) 对关键成分的分析；
  - c) 对代谢物的评估；
  - d) 食品加工的影响；
  - e) 免疫学效果评估；
  - f) 评估微生物在人体胃肠道中的生存能力和滞留时间；
  - g) 抗生素抗性和基因转移；以及
  - h) 营养修饰。

23. 在某些情况下，由于微生物和/或使用这些微生物生产/加工的食品所具有的特性，可能需要生成额外的数据和信息，以解决所审查的微生物和/或食品所特有的问题。

24. 旨在为安全评估开发数据的实验应根据合理的科学概念和原则以及必要的良好实验室规范来设计和执行。在监管机构要求时应提供原始数据。应使用合理的科学方法获取数据，并使用适当的统计方法进行分析。应记录所有分析方法的灵敏度。

25. 每项安全性评估的目标都是基于现有的最佳科学知识提供保证，即食品在根据其预期用途制备或食用时不会造成伤害，当食品中有活性有机体留存时，有机体本身也不会造成伤害。安全性评估应涵盖所有人的健康问题，包括免疫功能低下者、婴儿和老年人。此类评估的最终目标将是，考虑到营养成分或价值的任何变化对膳食的影响，确定新食品是否与常规对应食品同样安全。如果微生物在摄入后可能存活，则应将其安全性与常规对应物进行比较，同时考虑到重组 DNA 微生物在胃肠道中的驻留及其（适当情况下）与哺乳动物尤其是人类胃肠道菌群之间的相互作用，还应考虑重组 DNA 微生物对免疫系统的影响。本质上，安全性评估过程的结果是以这样一种方式定义所评估的产品：它使风险管理能够确定是否需要采取任何措施来保护消费者的健康，并在需要时作出明智和适当的决定。

#### **第 4 节 — 一般考虑因素**

##### **对重组 DNA 微生物的描述**

26. 应提供对细菌、酵母或真菌菌株以及安全性评估所涉及食品的描述。该描述应足以帮助理解提交安全性评估的生物体及其衍生食品的性质。用于食品生产或包含在食品中的重组 DNA 微生物应作为储备培养物保存，并使用分子方法进行适当的鉴定，最好保存在已建立的培养物保藏中心。这可能有助于对原始安全性评估进行审查。在监管机构要求时应提交此类原种培养物。

##### **对受体微生物及其在食品生产中的用途的描述**

27. 应提供对受体微生物或经过修饰的微生物的全面描述。受体微生物应具有被安全食用或在食品生产中安全使用的历史。产生毒素、抗生素或不应存在于食品中的其他物质的微生物，或其遗传元素可能导致遗传不稳定、抗生素抗性或可能含有致病基因（也称为致病岛或毒力因子）的微生物不应考虑用作受体。必要的数据和信息应包括但不限于：

- A) 身份：微生物的科学名称、通用名称或其他名称、菌株名称、关于菌株及其来源的信息、或提供生物体或其前体的公认培养库的登录号或其他信息，适当时亦包括作为其分类依据的信息；
- B) 使用和培养历史，关于菌株开发的已知信息（包括突变或菌株构建中使用先例菌株的分离）；特别是可能对人类健康产生不利影响的可识别性状；
- C) 受体微生物与其安全性相关的基因型和表型信息，包括任何已知的毒素、抗生素、抗生素抗性因子或其他与致病性相关的因子或免疫影响、以及有关微生物遗传稳定性的信息；
- D) 被安全食用或在食品生产中安全使用的历史；以及
- E) 用于培养受体微生物的相关生产参数的信息。

28. 不仅应提供受体微生物的相关表型和基因型信息，还应提供相关物种的表型和基因型信息以及对受体菌株功能有贡献的任何染色体外遗传元素的信息，特别是在相关物种被用于食品或涉及对人类或其他动物的致病作用的情况下。应考虑有关受体微生物遗传稳定性的信息，酌情包括是否存在移动 DNA 元素，即插入序列、转座子、质粒和原噬菌体。

29. 使用历史可能包括有关受体微生物通常如何生长、传输和储存的信息、通常采用的质量保证措施，包括核查微生物和食品的菌株身份和生产规格的措施，以及这些生物体是否在食品加工中保持活性或在处理过程中被移除或变得无法生存。

### **对供体生物体的描述**

30. 应提供有关供体生物体和任何中间生物体的信息，适当时还应提供相关生物体的信息。确定供体或中间生物体或其他密切相关的生物体是否自然表现出致病性或产生毒素的特征，或是否具有影响人类健康的其他特征。对供体或中间生物体的描述应包括：

- A) 身份：生物体的科学名称、通用名称或其他名称、菌株名称、关于菌株及其来源的信息、或提供生物体或其前体的公认培养库的登录号或其他信息，适当时亦包括作为其分类依据的信息；
- B) 有关供体生物体或其他生物体的与食品安全相关的信息；
- C) 有关生物体的与其安全性相关的基因型和表型信息，包括任何已知的毒素、抗生素、抗生素抗性因子或其他与致病性相关的因子或免疫影响；以及
- D) 关于食品供应和接触途径的过去和现在使用的信息（如有），而不是预期的食品用途（例如，可能作为污染物存在）。

### **对基因修饰的描述，包括载体和构建体**

31. 应提供有关基因修饰的足够信息，以便识别可能传递给受体微生物或在受体微生物中修饰的所有遗传材料，并为数据分析提供必要的、用于确定 DAN 特征的信息（添加、插入、修饰或从微生物基因组中删除的 DNA）。

32. 对菌株构建过程的描述应包括：

- A) 用于基因修饰的具体方法的信息；
- B) 关于用于修饰微生物的 DNA 的信息，包括来源（例如植物、微生物、病毒、合成体）、重组 DNA 微生物的身份和预期功能、以及质粒的拷贝数量；
- C) 中间受体生物体，包括在引入最终受体生物体之前用于产生或加工 DNA 的生物体（例如其他细菌或真菌）。

33. 应提供有关添加、插入、删除或修改的 DNA 的信息，包括：

- A) 所有遗传成分的特征，包括标记基因、载体基因、调节和影响 DNA 功能的其他元素；
- B) 大小和身份；
- C) 序列在最终载体/构建体中的位置和定向；以及
- D) 功能。

### **对基因修饰特征的描述**

34. 为了清楚地了解基因修饰对重组 DNA 微生物衍生食品的成分和安全性的影响，应该对基因修饰进行全面的分子和生化表征描述。为了便于安全性评估，待插入的 DNA 最好仅限于执行预期功能所需的序列。

35. 应提供有关重组 DNA 微生物中的 DNA 修饰信息，包括：

- A) 添加、插入、删除或以其他方式修饰的遗传材料的特征和描述，包括用于转移所需基因序列的质粒或其他载体 DNA 的特征和描述。这应该包括分析所使用的任何质粒或其他遗传元素的动员潜力，添加、插入、删除或以其他方式修饰的遗传材料的位置（在染色体上或染色体外的位置）；
  - B) 插入位点的数量；
  - C) 每个插入位点上被修饰遗传材料的组织，包括插入、修饰或删除的材料、质粒或载体 DNA 的拷贝数量和序列数据（用于转移所需的遗传序列），以及周围的序列。这将能够识别因插入、修饰或删除材料而表达的任何物质；
  - D) 识别插入 DNA 中的任何开放读码框架，或通过对染色体或质粒中的连续 DNA 进行修饰而产生的读码框架，包括可能导致融合蛋白的读码框架；以及
  - E) 特别指明任何已知对潜在有害功能进行编码或影响其表达的序列。
36. 应提供重组 DNA 微生物中任何表达物质的信息，包括：
- A) 基因产品（例如蛋白质或未翻译的核糖核酸（RNA））或其他信息，例如对转录物或表达产物的分析结果，以识别食品中可能存在的任何新物质；
  - B) 基因产品的功能；
  - C) 新性状的表型描述；
  - D) 表达基因产品在微生物中的表达水平和位点（细胞内蛋白、周质蛋白 — 革兰氏阴性菌为细胞器 — 在真核微生物中为分泌蛋白），以及（适用时）生物体中其代谢物的水平；
  - E) （如果表达序列/基因的功能是改变特定内源信使核糖核酸（mRNA）或蛋白质的水平）插入基因产品的量；以及
  - F) （如果适用于基因修饰的预期功能）基因产品的缺失，或与基因产品相关的代谢物的改变。
37. 此外，还应提供与下列各项有关的信息：
- A) 证明修饰遗传材料的排列是否得到保留<sup>7</sup>，或者在将重组菌株引入细胞并繁殖到在食品生产中所需要的程度后是否发生了显著的重排，包括基于当前技术可能在储存过程中发生的重排；
  - B) 证明对表达蛋白质的氨基酸序列进行的特意修饰是否会导致其翻译后修饰的变化或影响对其结构或功能至关重要的位点；
  - C) 证明修饰的预期效果是否已经达到，所有表达性状的表达和遗传都以在食品生产中所需的繁殖程度保持稳定，并且符合遗传规律。如果不能直接测量表型特征，则可能需要检查插入或修饰的 DNA 的遗传或相应 RNA 的表达<sup>8</sup>；
  - D) 证明新表达的性状是否按预期表达并靶向适当的细胞位置，或以与驱动相应基因表达的相关调控序列一致的方式和水平分泌；
  - E) 显示是否有任何证据表明受体微生物中的一个或多个基因已受到修饰或基因交换过程的影响；
  - F) 确认任何新融合蛋白的身份和表达模式。

---

<sup>7</sup> 微生物基因组比高等真核生物的基因组更具流动性；即生物体生长得更快，适应不断变化的环境，并且更容易发生变化。染色体重排很常见。微生物的一般遗传可塑性可能会影响微生物中的重组 DNA，在评估重组 DNA 微生物的稳定性时必须加以考虑。

<sup>8</sup> 应以能够核查遗传稳定性的方式保存改良的菌株。

## 安全性评估

38. 改性微生物的安全性评估应根据引入的变化的性质和程度基于个案进行。如果该物质或密切相关的物质（考虑到其功能和暴露风险）一直被安全食用，则可能不需要进行常规毒理学研究。在其他情况下，可能需要对新物质进行适当的常规毒理学研究或其他研究。还应考虑重组 DNA 微生物对食品基质的影响。如果食品特征表明现有数据不足以进行彻底的安全评估，则可以认为有必要对重组 DNA 微生物和/或其衍生食品进行适当设计的动物或体外研究。

### 表达物质：对潜在毒性和与致病性相关的其他性状的评估

39. 当一种物质对食品或食品加工工艺而言是新物质时，就需要进行常规毒理学研究或其他适用的研究。这可能需要从重组 DNA 微生物中分离新物质（分泌性物质从食品中分离），或从替代来源合成或产生该物质，在后一种情况下，应证明该材料与在重组 DNA 微生物中产生的材料相比在生化、结构和功能上等效。应提供有关消费者预期接触该物质、该物质的潜在摄入量和饮食影响的信息。

40. 表达物质的安全性评估应考虑其在食品中的功能和浓度。还应确定食品中残留的活性微生物的数量，并与常规对应物进行比较。所有定量测量都应使用适当的统计方法进行分析。还应考虑当前的膳食暴露风险和対人口亚群的可能影响。

- 就蛋白质而言，对潜在毒性的评估应考虑蛋白质的结构和功能，并侧重于蛋白质与已知蛋白质毒素和抗营养物质（例如蛋白酶抑制剂、凝集素）之间的氨基酸序列相似性、对热或加工的稳定性和对在适当的、有代表性的胃肠模型系统中降解的稳定性。如果食品中存在的蛋白质与以前安全食用的蛋白质不太相似，并且以前没有安全食用，则可能需要进行适当的口服毒性研究<sup>9</sup>，并考虑其在微生物中已知的生物学功能。
- 对于未曾通过食品安全食用的非蛋白质物质的潜在毒性，应根据物质的身份、浓度和生物学功能以及膳食暴露风险基于个案评估。要进行的研究类型可能包括对代谢、毒代动力学、慢性毒性/致癌性、对生殖功能的影响和致畸性的评估。

41. 应证明新表达或改变的特性与可能对人类健康有害的供体生物体的任何特征无关。应提供信息，以确保对存在于供体生物体中的已知毒素或抗营养物质进行编码的基因不会转移到通常不表达这些毒性或抗营养特征的重组 DNA 微生物中。

- 可能需要基于个案进行额外的体内或体外研究，以评估表达物质的毒性，同时考虑到可能由基因修饰引起的任何物质、有毒代谢物或抗生素的潜在累积。

### 对关键成分的分析

42. 重组 DNA 微生物衍生食品的关键成分的浓度分析<sup>10</sup>应与在相同条件下生产的常规对应物的等效分析进行比较。任何观察到的差异的统计显著性都应该在该参数的自然变化范围的背景下进行评估，以确定其生物学显著性。在理想情况下，该评估中使用的对比物应该是使用近等基因亲本菌株生产的食品。这种比较的目的，结合必要时的暴露风险评估，是为了确定可能影响食品安全的物质没有以对人类健康产生不利影响的方式改变。

<sup>9</sup> 国际组织已经制定口服毒性研究指南，例如经合组织（OECD）制定的《化学品测试指南》。

<sup>10</sup> 关键营养素或关键抗营养素是特定食品中可能对整体膳食产生重大影响的成分。它们可能是主要的营养成分（脂肪、蛋白质、碳水化合物）、作为抗营养物的酶抑制剂或微量化合物（矿物质、维生素）。关键毒素是已知由微生物产生的具有毒理学意义的化合物，例如其毒性效力和水平可能对健康具有重要意义的化合物。传统上用于食品加工的微生物通常不会在生产条件下产生此类化合物。



## 对代谢物的评估

43. 一些重组 DNA 微生物可能已经以某种方式进行了修饰，从而导致这些微生物的衍生食品中各种代谢物的新水平或改变的水平。如果在食品中发现代谢物水平发生变化，则应考虑使用确定此类代谢物安全性的常规程序（例如，评估食品中化学物质对人体安全影响的程序）分析对人类健康的潜在影响。

44. 重组 DNA 微生物产生的新的或改变的代谢物水平可能会改变混合培养中微生物的数量，潜在地增加有害生物体生长或有害物质累积的风险。当微生物的混合培养物用于食品加工时，例如用于生产天然奶酪、味噌、酱油等，应评估微生物的基因修饰对其他微生物的可能影响。

## 食品加工的影响

45. 还应考虑食品加工（包括家庭食品制作）对重组 DNA 微生物衍生食品的潜在影响。例如，内源性毒素的热稳定性或重要营养素的生物利用度在加工后可能会发生变化。因此，应说明食品生产中的加工条件。例如，对于酸奶，应提供有关生物体生长和培养条件的信息。

## 免疫学效应评估

46. 当由插入基因产生的蛋白质存在于食品中时，应评估其引起过敏的可能性。应该考虑有些人可能已经对蛋白质敏感的可能性以及食物供应中的新蛋白质是否会引起过敏反应。本指南附件中详细介绍了需要考虑的问题。

47. 除非另有科学证据，否则应假定源于已知过敏源的基因对过敏原进行编码并避免使用。应避免从已知会在敏感人群中引起麸质敏感性肠病的生物体中转移基因，除非有记录证明转移的基因不对过敏原或与麸质敏感性肠病有关的蛋白质进行编码。

48. 食品中仍然存活的重组 DNA 微生物可能会与胃肠道中的免疫系统相互作用。对这些相互作用的更仔细检查将取决于重组 DNA 微生物与其常规对应物之间的差异类型。

## 评估微生物在人体胃肠道中的生存能力和滞留时间

49. 在一些重组 DNA 微生物衍生食品中，这些微生物的摄入及其滞留<sup>11</sup>可能会对人體肠道产生影响。是否需要对此类微生物进行进一步测试，应基于食品中常规对应物的存在情况，以及基因修饰的预期和非预期效果的性质。如果最终食品的加工消除了活性微生物（例如通过烘烤面包中的热处理），或者如果对微生物有毒的最终产品（如酒精或酸）的累积消除了微生物的活性，则对消化系统中的微生物的生存和滞留不需要检查。

50. 对于生产中使用的重组 DNA 微生物在最终食品中仍能存活的应用方式（例如某些乳制品中的生物体），最好能够证明微生物单独存在时在和消化道中各自的食物基质中的活性（或滞留时间）以及对相关系统中肠道菌群的影响。基因修饰的预期和非预期效果的性质以及与常规对应物的差异程度将决定此类测试的范围。

## 抗生素抗性和基因转移

51. 为食品加工用途开发的传统微生物菌株通常未进行抗生素抗性评估。食品生产中使用的许多微生物对特定抗生素具有内在抗性。在构建重组 DNA 微生物时，不必因为这些特性把这些菌株排除在候选受体之外。然而，对抗生素抗性由可传播遗传元素编码的菌株而言，当最终食品中存在此类菌株或遗传元素时，则不应使用这些菌株。应特别说明是否存在含有此类抗性基因的质粒、转座子和整合子。

---

<sup>11</sup> 被摄入的微生物终身定植的情况很少见。在停止口服数周后，一些口服微生物仍出现在粪便或结肠粘膜中。无论是否在胃肠道中滞留，转基因微生物仍有可能影响微生物群或哺乳动物宿主（粮农组织/世卫组织生物技术衍生食品联合专家磋商会——“转基因微生物食品安全性评估”，2001年9月24-28日，瑞士日内瓦）。

52. 至于已证明是安全的替代技术，如果不依赖于食品中存在的活性微生物中的抗生素抗性标记基因，则应该在重组 DNA 微生物中用于选择目的。通常，如果抗生素抗性标记基因已从最终构建体中去除，则使用抗生素抗性标记构建中间菌株不应造成重大危害，乃至需要在食品生产中排除最终菌株。

53. 常驻肠道微生物群和摄入的重组 DNA 微生物之间可能发生质粒和基因的转移。还应考虑基因从重组 DNA 微生物及其衍生食品向肠道微生物或人体细胞转移的可能性和后果。在没有选择压力的情况下，转移的 DNA 不太可能保持。然而，不能完全排除此类事件发生的可能性。

54. 为了尽量减少基因转移的可能性，应考虑以下步骤：

- A) 对插入的遗传材料进行染色体整合可能比对质粒定位更可取；
- B) 在重组 DNA 微生物将在胃肠道中保持活性的情况下，如果遗传构件体可能为意外接受遗传材料转移的受体提供选择优势，则应避免在遗传构建体中使用基因；以及
- C) 在构建引入的遗传材料时，应避免介导整合到其他基因组中的序列。

### **营养修饰**

55. 应该对所有重组 DNA 衍生食品进行关键营养素成分变化评估，“对关键成分的分析”一节已经对此作了讨论。如果实施了此类营养修饰，则应对食品进行额外测试，以评估这些变化的后果以及是否可能由于此类食品进入食品供应系统而改变营养摄入量。

56. 在估算重组 DNA 微生物衍生食品的可能摄入量时，应参考该食品及其衍生物的已知使用和消费模式信息。应使用食品的预期摄入量来评估改变的营养成分在通常和最大消费水平的营养影响。基于最高可能消费量进行估算可确保检测到对营养的任何潜在不良影响。应注意特定人群的特殊生理特征和代谢需求，如婴儿、儿童、孕妇和哺乳期妇女、老年人、慢性病患者或免疫系统受损的人。基于对特定人口亚群的营养影响和膳食需求分析，可能需要进行额外的营养评估。确定基因修饰后的营养素在多大程度上具有生物可利用性并随着时间推移、加工和储存保持稳定也很重要。

57. 使用现代生物技术来改变微生物衍生食品的营养水平可能导致营养成分发生广泛变化。对微生物的预期修饰可能改变产品的整体营养状况，从而可能影响食品消费者的营养状况。应确定可能影响整体营养状况的变化。

58. 当基因修饰导致食品（例如植物油）的成分与其常规对应物显著不同时，可将额外的常规食品或食品成分（与重组 DNA 微生物衍生食品相比，其营养成分更接近的食品或食品成分）用作适当的对比物来评估对食品的营养影响。

59. 有些食品可能需要额外的测试。例如，如果预期营养素的生物利用度会发生变化，或者如果其成分与常规食品无法比较，则可能需要对重组 DNA 微生物衍生食品进行动物饲养研究。此外，基于健康原因设计的食品可能需要进行超出本指南范围的评估，例如特定的营养、毒理学或其他适当的研究。。如果对食品特征的确定表明现有数据不足以进行充分的安全性评估，则可以要求对全天然食品进行适当设计的动物研究。

### **安全性评估审查**

60. 安全性评估的目的是得出重组 DNA 微生物衍生食品是否与常规食品一样安全的结论，同时考虑到营养成分或价值的任何变化对膳食的影响。然而，如果新的科学信息对原始安全评估结论提出质疑，则应该对安全性评估进行审查。

---

## 附件：可能的致敏性评估

---

### 第 1 节 — 简介

1. 对于可能存在于最终食品中的重组 DNA 微生物产生的所有新表达蛋白质<sup>12</sup>，都应该评估其引起过敏反应的可能性。这项评估应该包括：新表达蛋白质对某些人而言是否已经是致敏蛋白质，以及食品供应中的新蛋白质是否可能诱发某些人的过敏反应。
2. 目前还没有完全可靠的试验可以用来预测人类对新表达蛋白质的过敏反应，因此建议使用如下所述的综合、分步骤、基于个案的方法评估新表达蛋白质的可能致敏性。这种方法考虑了从几种类型的信息和数据中得出的证据，因为没有单一标准具备充分的预测能力。
3. 评估的终点是关于蛋白质是食品过敏原可能性的结论。

### 第 2 节 — 评估策略

4. 评估任何新表达蛋白质的可能致敏性的初始步骤是确定：引入蛋白质的来源；蛋白质的氨基酸序列与已知过敏原的氨基酸序列之间的任何显著相似性；其结构特性，包括但不限于对酶降解的敏感性、热稳定性和/或酸和酶处理的效果。
5. 由于没有单一的测试可以预测人类对口服暴露可能产生的 IgE 反应，确定新表达蛋白质特征的第一步应该是采用证据权衡法将新表达蛋白质的氨基酸序列和某些物理化学特征与已确定的过敏原进行比较。这将需要从重组 DNA 微生物中分离任何新表达蛋白质，或从替代来源合成或产生该物质，在后一种情况下，应证明该材料与在重组 DNA 微生物中产生的材料相比在生化、结构和功能上等效。应特别注意表达寄主的选择，因为不同寄主（即真核系统相对于原核系统）允许的翻译后修饰可能会影响蛋白质的致敏潜力。
6. 确定来源是否已知会引起过敏反应很重要。除非另有科学证据，否则应假定源于已知过敏源的基因对过敏原进行编码。

### 第 3 节 — 初步评估

#### 第 3.1 节 — 蛋白质来源

7. 作为证实重组 DNA 微生物衍生食品的安全性数据的一部分，信息应描述与供体生物相关的任何致敏性报告。基因的致敏源将被定义为那些有合理证据表明引起 IgE 介导的口腔、呼吸或接触过敏的生物体。了解引入的蛋白质的来源有助于确定在致敏性评估中可以使用的工具和相关数据，其中包括：用于筛选目的的血清的可用性；对过敏反应的类型、严重程度和频率的记录；结构特征和氨基酸序列；该来源的已知致敏蛋白的理化和免疫学特性（如有）。

#### 第 3.2 节 — 氨基酸序列同源性

8. 序列同源性比较的目的是评估新表达蛋白质在结构上与已知过敏原的相似程度。该信息可能表明该蛋白质是否具有致敏性。应该进行序列同源性搜索，将所有新表达蛋白质的结构与所有已知的过敏原进行比较。搜索时应使用多种算法，如 FASTA 或 BLASTP，以预测整体结构相似性。也可以采用诸如分步骤连续相同氨基酸

---

<sup>12</sup> 该评估策略不适用于评估新表达蛋白质是否能够诱发麸质敏感或其他肠病。肠病问题已在《重组 DNA 微生物衍生食品安全性评估指南》第 47 段“免疫效应评估”中加以阐述。此外，该策略不适用于评估出于低致敏性目的而下调基因产品的食物。

片段搜索之类的策略来识别可以代表线性表位的序列。连续氨基酸搜索的规模应基于科学合理性，以尽量减少出现假阴性或假阳性结果的可能性<sup>13</sup>。应使用经过验证的搜索和评估程序，以产生具有生物学意义的结果。

9. 当 80 个或更多氨基酸片段（FAO/WHO 2001）中有超过 35% 的同一性或达到其他有科学依据的标准时，应考虑新表达蛋白质与已知过敏原之间的 IgE 交叉反应的可能性。应报告由新表达蛋白质和已知过敏原之间的序列同源性比较产生的所有信息，以便根据具体情况进行科学评估。

10. 序列同源性搜索有一定的局限性。特别是，比较仅限于公开可用数据库和科学文献中已知过敏原的序列。在检测有能力与 IgE 抗体特异结合的非连续表位方面，这种比较也存在局限性。

11. 阴性序列同源性结果表明新表达蛋白质不是已知的过敏原，并且不太可能与已知的过敏原发生交叉反应。在评估新表达蛋白质的致敏潜力时，应考虑表明不存在显著序列同源性的结果以及本策略下概述的其他数据。应酌情进行进一步研究（另见第 4 节和第 5 节）。阳性序列同源性结果表明新表达蛋白质可能具有致敏性。如果要进一步考虑该产物，则应使用对已确定的过敏源敏感的人的血清进行评估。

### 第 3.3 节 — 胃蛋白酶抗性

12. 在数种食品过敏原中观察到胃蛋白酶消化抗性；因此，胃蛋白酶消化抗性与致敏可能性之间存在相关性<sup>14</sup>。因此，如果存在胃蛋白酶，蛋白质在适当条件下对降解的抗性表明应进行进一步分析，以确定新表达蛋白质是否具有致敏性。建立稳定且经过充分验证的胃蛋白酶降解规程可能会增强这种方法的实用性。然而，应该考虑到对胃蛋白酶不具抗性并不排除新表达蛋白质是相关过敏原的可能性。

13. 尽管我们极力推荐使用胃蛋白酶抗性规程，但也认识到存在其他酶敏感性规程。在提出充分理由的情况下可以使用替代规程<sup>15</sup>。

### 第 4 节 — 特定血清筛查

14. 对于那些源于已知致敏源的蛋白质，或与已知过敏原具有序列同源性的蛋白质，应在有血清的情况下进行免疫学检测。经临床验证对蛋白质来源过敏的人的血清可用于在体外试验中测试蛋白质与 IgE 类抗体的特异结合。测试的一个关键问题是能否从足够多的个体中获得人类血清<sup>16</sup>。此外，血清的质量和检测程序需要标准化，以产生有效的检测结果。对于来自未知是否属于致敏源的蛋白质，如果蛋白质没有表现出与已知过敏原的序列同源性，在有条件时可以考虑进行第 17 段所述之靶向血清筛查。

15. 对于来自已知过敏原的新表达蛋白质，体外免疫检测的阴性结果可能不足以作出定论，但应进行进一步测试，例如皮试和体外规程<sup>17</sup>。此类测试的阳性结果表明存在潜在的过敏原。

### 第 5 节 — 其他考虑因素

16. 对新表达蛋白质的绝对暴露和相关食品加工作业的影响将有助于得出有关潜在人类健康风险的总体结论。就此而言，在确定将采用的加工类型及其对最终食品中蛋白质存在的影响时，应考虑用于消费的食物的性质。

---

<sup>13</sup> 我们认识到，2001 年粮农组织/世卫组织磋商会建议将搜索中的 8 个相同的氨基酸片段改为 6 个。分步骤比较中使用的肽序列越小，识别假阳性的可能性越大；反之，使用的肽序列越大，识别假阴性的可能性越大，从而降低比较的效用。

<sup>14</sup> 《美国药典》（1995）中概述的方法被用于建立该相关性（Astwood 等人，1996 年）。

<sup>15</sup> 参考粮农组织/世卫组织联合专家磋商会（2001 年）。

<sup>16</sup> 根据《粮农组织/世卫组织生物技术衍生食品致敏性联合专家磋商会报告》（2001 年 1 月 22 日至 25 日，意大利罗马），至少需要 8 种相关血清，才能达到 99% 的确定性，确定在存在主要过敏原的情况下新蛋白质不是主要过敏原。在确认轻微过敏原时，则至少需要 24 种相关血清才能达到相同的确定性水平。人们认识到，可能没有如此多的血清用于测试。

<sup>17</sup> 参考粮农组织/世卫组织联合专家磋商会（2001 年）对体外规程的描述。

17. 随着科学技术的发展，作为评估策略的一部分，可以考虑使用其他方法和工具来评估新表达蛋白质的潜在致敏性。这些方法应该在科学上具有合理性，可能包括靶向血清筛查（即评估经临床验证对广泛相关类别的食品有过敏反应的人的血清中与 IgE 的结合）；建立国际血清库；使用动物模型；并检查新表达蛋白质的 T 细胞表位和与过敏原相关的结构基序。