

项目编号：

项目类别：

# 农业转基因生物安全评价 申报书

项目名称：转聚合 *mepsps* 基因 GA21 耐除草剂玉米进口用作加工原料

申请单位：先正达农作物保护股份公司

申请人：

地 址：

邮政编码：

电 话：

传 真：

e-mail：

填报日期：2013 年 10 月 31 日

中华人民共和国农业部制

# 填 写 说 明

1. 在填写申报书之前，应认真阅读《农业转基因生物安全管理条例》、《农业转基因生物安全评价管理办法》、《农业转基因生物进口安全管理办法》等有关法规，了解相关要求。

2. 此申报书同样适用于法规规定的报告类实验研究和中间试验的报告，名称分别改为“农业转基因生物实验研究报告书”和“农业转基因生物中间试验报告书”。

3. 申报书内容应当包括以下部分：申请表、项目内容摘要、工作目的和意义、国内外研究的相关背景资料、安全性评价、试验方案、相关附件资料、本单位农业转基因生物安全小组审查意见、本单位审查意见、所在省（市、自治区）的农业行政主管部门的审查意见。

4. 申请实验研究的，申请表按表 2 填写，项目名称应包含转基因性状、受体生物名称、实验研究所在省（市、自治区）名称和实验研究阶段等内容，如“转基因抗虫棉花在河北省的实验研究”。一份申报书只能包含同一物种的受体生物和相同的转基因性状。“安全性评价”可不填写。“试验方案”包括研究目标、外源基因的名称和来源、载体构建图谱、转化方法和规模、地点、安全控制措施等。“相关附件资料”包括法人证书和营业执照的复印件，若涉及合作项目，应提交双方合作或转让协议等。“所在省（市、自治区）的农业行政主管部门的审查意见”可不填写，申报材料报送农业部时，抄送实验研究所在省（市、自治区）的农业行政主管部门。

5. 申请中间试验的，申请表按表 2 填写。申报书中“安全性评价”、“试验方案”和“相关附件资料”依照《农业转基因生物安全评价管理办法》附录 I、II、III 要求逐条填写。“所在省（市、自治区）级农业行政主管部门的审查意见”可不填写，申报材料报送农业部时，抄送中间试验所在省（市、自治区）级农业行政主管部门。

6. 申请环境释放和生产性试验的，申请表按表 2 填写；申报书中“安全性评价”、“试验方案”和“相关附件资料”依照《农业转基因生物安全评价管理办法》附录 I、II、III 要求逐条填写。对于已批准过的环境释放或生产性试验，在试验结束后，

若同一转基因生物在原批准地点以相同规模重复试验，在申报时“安全性评价”部分可省略。

7. 申请农业转基因生物安全证书的，申请表按表 3 填写；申报书中“安全性评价”和“相关附件资料”依照《农业转基因生物安全评价管理办法》附录 I、II、III 要求逐条填写，“试验方案”不用填写。

8. 申报书应当用中文填写，一式十份，一律使用 A4 纸，正文用小四宋体打印，标准字间距和单倍行距，并提供光盘。对于不符合要求的申报书，不予受理。

9. 申请者可以注明哪些资料需要保密并说明理由。

10. 受理时间：每年 3 次，截止日期分别为 3 月 1 日、7 月 1 日和 11 月 1 日。

11. 受理单位：农业部行政审批综合办公室科教窗口。地址：北京市朝阳区农展馆南里 11 号。邮政编码：100125。收款单位：农业部科技发展中心；开户行：中信银行北京朝阳支行；帐号：7111110189800000419。

## 目录

一、申请表 .....	1
二、项目内容摘要 .....	3
三、工作目的和意义 .....	5
四、国内外研究的相关背景资料 .....	6
六、相关附件资料 .....	76
七、本单位农业转基因生物安全小组审查意见.....	141
八、本单位审查意见 .....	142
九、所在省（市、自治区）的农业行政主管部门的审查意见 .....	143

# 相关技术报告目录

(详细技术报告为商业保密资料)

1. GA21 玉米特异性定性 PCR 检测
2. GA21 玉米特异性定量 PCR 检测
3. GA21 玉米的 Southern 杂交检测
4. GA21 玉米 T-DNA 插入位点旁侧序列的 BLASTX 分析
5. GA21 玉米外源插入片段的全长 DNA 序列 (含旁侧序列)
6. GA21 玉米中的 mEPSPS 蛋白在转基因玉米组织和整株植物中的定量研究
7. mEPSPS 蛋白在多代 GA21 玉米的表达稳定性
8. 微生物表达的 (GA21-0104) 与 GA21 玉米表达的 mEPSPS 蛋白的等同性分析
9. mEPSPS 蛋白的小鼠急性口服毒性试验
10. GA21 玉米中 mEPSPS 蛋白的热稳定性研究
11. mEPSPS 蛋白在模拟哺乳动物胃液环境下的体外消化情况分析
12. mEPSPS 蛋白与已知或假定毒素蛋白的氨基酸序列同源性评估
13. mEPSPS 蛋白与已知或假定过敏原蛋白的氨基酸序列同源性评估
15. GA21 玉米的田间农艺性状调查
16. GA21 玉米籽粒及秸秆的成分分析
17. 转基因玉米 GA21 国内生态风险评估报告 (2003 年)
18. 转基因玉米 GA21 国内食用安全检测报告 (2004 年)

## 资料保密说明及其确定保密性（CBI）的依据

本申请书中标有“CBI”的资料为保密商业资料（Confidential Business Information），应该受到保护以避免泄漏出去。如下所述，保密商业资料包含了有价值的贸易机密和需要保密的商业资料。一旦泄漏出去，会对先正达在同行业的竞争中造成实质性的危害。因此，这类保密商业资料根据相关法律，应予以保护以避免泄密。

### 保密商业资料的特点

保密商业资料包括先正达公司在商业化开发 GA21 转基因玉米的过程中所获得的研究成果和数据。这些数据是由先正达公司历经多年，投入数百万美元，经过大量深入的研究、测试和分析获得的。这些数据除了提供产品的毒理学特征、化学特征和环境安全方面的信息外，还包含了最基本的产品特征信息和关键的遗传序列信息。此外，这些数据还包括了为获得转基因玉米产品商业化批准而开展的相关安全评价研究必不可少的数据与研究思路。

### 主要 CBI 在本申请中的分布：

本申请书中的商业保密资料主要在第五章和第六章，但不仅限于此，同时也散见其他相关章节。

## 关于参考文献版权的声明

The following statement applies to all publications apart from [*refer to publications not covered by the CCC license by nb or author*]:

*This Electronic Copy of Copyrighted Material Was Made and Delivered to the Government Under License from Copyright Clearance Center (CCC), Inc. - No further Reproduction is Permitted.*

The other publications must not be reproduced either, with the exception of publications [*refer to publications by nb or author*] which are Open Access Articles distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0/>)

以下申明针对所有的出版文献，但不包括不在 CCC 许可范围内的文献：

*该电子版本的受版权保护的材料是按照（美国）版权税计算中心（非盈利组织）的条款制作并递呈给政府。不得复制。*

其他的文献也不能复制，除了按照《创作共享署名授权协议》的条款进行发布的公开获得文章。

# 一、申请表

## 农业转基因生物安全证书申请表

项目概况	项目名称	转聚合 <i>mepsps</i> 基因 GA21 耐除草剂玉米进口用作加工原料						
	项目来源	Syngenta Biotechnology Inc. (SBI)						
转基因生物概况	类别	动物 <input type="checkbox"/> 植物 <input checked="" type="checkbox"/> 微生物 <input type="checkbox"/> (选 <input checked="" type="checkbox"/> )						
	转基因生物名称		玉米					
	受体生物	中文名	玉米		学名	<i>Zea mays</i> L.		
		分类学地位	禾本科、玉蜀黍属、玉米种	品种(品系)名称	AT	安全等级	I	
	目的基因 1	名称	<i>mepsps</i>		供体生物	玉米		
		生物学功能	赋予转基因玉米对草甘膦类除草剂的耐受性					
		启动子	actin		终止子	NOS		
	载体 1	质粒 pDPG434		供体生物	农杆菌			
	* 标记基因 1	名称	无		供体生物	无		
		启动子	无		终止子	无		
	* 报告基因 1	名称	无		供体生物	无		
		启动子	无		终止子	无		
	调控序列 1	名称	OTP		来源	玉米		
		功能	将 5-烯醇丙酮酸莽草酸-3-磷酸合成酶 (mEPSPS) 蛋白定位于叶绿体					
	转基因方法	基因枪法			基因操作类型		2	
转基因生物品系(株系)名称	无			转基因生物品系(株系)个数		无		
转基因生物安全等级	I			转基因生物产品安全等级		I		
试验概况	中间试验情况	转基因生物名称及编号	可以不填写					
		批准文号	可以不填写					
		试验的时间、地点和规模	可以不填写					
	环境释放情况	转基因生物名称及编号	可以不填写					
		批准文号	可以不填写					
		批准时间、地点和规模	可以不填写					



	生产性试验情况	转基因生物名称及编号	可以不填写			
		批准文号	可以不填写			
		批准时间、地点和规模	可以不填写			
拟申请使用范围（省、自治区、直辖市）		北京市				
拟申请使用年限		3 年				
申请单位概况	单位名称	先正达农作物保护股份公司			地 址	
	邮 编				电 话	
	传 真				电子邮件	
	单位性质	境内单位（事业 <input type="checkbox"/> 企业 <input type="checkbox"/> 中外合作 <input type="checkbox"/> 中外合资 <input type="checkbox"/> 外方独资 <input type="checkbox"/> ） 境外单位（企业 <input checked="" type="checkbox"/> 其它 <input type="checkbox"/> ）(选√)				
	申请人姓名				电 话	
	传 真				电子邮箱	
	联系人姓名				电 话	
	传 真				电子邮箱	
研制单位概况	单位名称	Syngenta Biotechnology Inc.			法人代表	
	联系人姓名				电 话	
	传 真				电子邮箱	
	主 要 完 成 人					
	姓名				性别	出身年月
	学历				专业技术职务	
	何时何地曾从事何 种基因工程工作					
	参 与 完 成 人					
	姓名	年龄	学历	职称	单 位	在本项目中的分工

**注：**1. 申请农业转基因生物实验研究的，“受体生物品种（品系）名称、目的基因启动子和终止子、载体、标记基因、报告基因、调控序列、转基因生物品系（株系）”栏目不用填写。

2. 如果“标记基因”或“报告基因”已删除，应在表中标注。

3. 申请人指所申请项目的安全监管具体负责人。

## 二、项目内容摘要

GA21 转基因玉米（简称 GA21 玉米）是利用基因枪法将经过修饰的 5-烯醇丙酮酸莽草酸-3-磷酸合成酶（*mepsps*）基因导入栽培玉米获得。聚合 *mepsps* 基因在植物中的表达，使之耐受草甘膦类除草剂。用这种转基因玉米可以使农民使用含草甘膦除草剂控制玉米农田杂草。

Southern 杂交分析证明，GA21 玉米插入片段单位点插入玉米基因组并能够在玉米中多代稳定遗传。对 GA21 玉米插入位点相邻的玉米基因组序列进行 BLASTX 分析表明，插入基因没有干扰任何已知的玉米内源基因。ELISA 检测结果表明 GA21 玉米表达的 mEPSPS 蛋白，在所有生长期，在测量的叶片、根和整株植物中 mEPSPS 蛋白的平均浓度范围在低于定量极限（ $<0.2 \mu\text{g/gfw}$ ）到约为  $15 \mu\text{g/gfw}$ （ $<0.4-71 \mu\text{g/gdw}$ ）；籽粒中检测的 mEPSPS 蛋白的平均浓度范围在约为  $4-7 \mu\text{g/gfw}$ （ $5-10 \mu\text{g/gdw}$ ）；花粉中平均值约为  $168 \mu\text{g/gfw}$ 。对 3 个回交世代的表达量进行分析，证明 mEPSPS 蛋白可在多代间稳定表达。通过杂草监测和除草剂耐受性试验，结果表明 GA21 不会影响田间杂草的自然发生率；GA21 玉米对草甘膦类除草剂有耐受性。

2005 年在美国进行田间试验表明转基因 GA21 玉米与非转基因对照在产量和农艺性状上均无显著差异。同时国内检测机构对 GA21 玉米进行的环境评价中也表明，GA21 玉米在荒地和栽培地条件下的生存竞争力与非转基因对照玉米无显著差异。在对生物多样性影响的研究中，由于 GA21 玉米转入的性状为抗草甘膦类除草剂，对昆虫的抗性评价并不适用。但按照农业部要求对玉米常见害虫和天敌多样性进行了评估，结果表明，GA21 亚洲玉米螟没有抗性。在天敌总量、捕食性天敌种群数量上与非转基因对照相比没有显著差异；在田间节肢动物物种丰富度和生物多样性指数上与非转基因对照玉米也没有显著差异。

通过 GA21 杂交种和非转基因近等基因系杂交种籽粒和秸秆测定 65 个成分指标，分析籽粒中的主要成分（包括灰分、脂肪、水分、蛋白质和碳水化合物、ADF、NDF 和 TDF），矿物质，氨基酸，脂肪酸，维生素，次生代谢物质和抗营养因子；同时分析了秸秆中的主要成分和矿物质。结果显示，GA21 玉米籽粒和秸秆在所检测到的数据的平均值和所有其他变量均在文献报道的范围内。对特定次生代谢物和抗营养因子进行检测发现，纤维糖、植酸、阿魏酸、 $p$ -香豆酸和所检测的其他平均值均在文献报道的范围内。总之，来源于 GA21 的籽粒和秸秆与传统育种产生的玉米杂交种在营养成分、次生代谢物和抗营养因子上具有实质等同性。

在毒理学评价上，小鼠的急性口服毒性试验结果表明，所有的雌性和雄性小鼠在临床表现、体重、摄食量、临床病理、器官重量、宏观或显微病理方面与服用  $2000 \text{ mg/kg}$  体重的 mEPSPS 蛋白无关。GA21 玉米中的 mEPSPS 蛋白在  $65^\circ\text{C}$  和更高温度下失去稳定性；在体外模拟胃液消化中，来自 GA21 品系转基因玉米和重组大肠杆菌的 mEPSPS 蛋白在 SGF 环境下都非常容易降解。这两种来源的 mEPSPS 在 SGF 环境下消化 1 分钟后，通过 SDS-PAGE 和 Western 杂交分析评价，未检测出任何完整的 mEPSPS（分子质量约为  $47.5 \text{ kDa}$ ）。而在 SGF 环境下反应 5 分钟后，未检测到任何具有免疫反应活性的 mEPSPS 蛋白质片段。利用 BLASTP 程序搜索了 NCBI Entrez<sup>®</sup>

蛋白数据库。结果显示，mEPSPS 蛋白与已知或推断的毒素蛋白无显著同源性。在致敏性评价上，通过两种方法搜索了 FARRP 过敏原数据库，也没有发现 mEPSPS 蛋白与已知或假定的过敏原蛋白质有显著的氨基酸序列同源性。

事实上 GA21 转基因玉米已商业化开发多年，到目前还没有任何证据表明 GA21 玉米对生态环境和人类健康产生了不利影响，更进一步证明了在基因安全评价过程中取得的相关安全性评价研究结果。

1996 年，GA21 玉米被美国批准用作食品和饲料，稍后被批准商业化种植。到目前为止，GA21 玉米已在美国、加拿大、日本、巴西、阿根廷和菲律宾等国批准商业化种植、食用及饲用；除以上国家外，澳大利亚、韩国和欧盟等也批准了 GA21 玉米用于食品、加工原料等用途。中国于 2004 年 2 月获得农业部批准将转基因玉米 GA21 进口用作加工原料，并分别于 2006 年，2008 年和 2011 年批准了续申请。

### 三、工作目的和意义

玉米 (*Zea mays L.*) 是世界上种植最广泛的农作物之一。大约 30% 的玉米被直接食用, 70% 作为饲料。玉米也是我国的一种重要粮食作物。近年来随着经济实力与生活水平的提高, 我国对食品 (主要是各种农产品) 的数量、种类与质量上的需求, 在迅速提高, 人们的膳食结构有了明显的改变: 对蛋白质类食品, 主要是猪肉、禽肉, 以及牛羊肉与水产品, 还有禽蛋、牛奶、植物油、水果和蔬菜的消费量每年均在增加因而玉米等谷物作为饲料或工业加工原料的需求在不断增长。但是在需求大幅增加的同时, 近年来玉米等粮食作物的生产面临着耕地与水资源匮乏等带来的困扰, 客观存在着如何满足食品需求、保障供给的巨大压力。

在大多数发达国家和部分发展中国家, 玉米田间杂草主要靠喷施除草剂来控制。因此, 耐除草剂就成为玉米的一个重要培育目标。草甘膦是控制玉米田间主要杂草的常用除草剂。GA21 玉米转入了经修饰的 *mepsps* 基因, 赋予玉米对草甘膦类除草剂的耐受性。

本申请所涉及的 GA21 聚合转基因玉米已在多个国家商业化, 其含有的耐除草剂性状较好地满足了农业生产的需求。在产品研发进程中以及为满足相关国家法规要求所进行的相关研究与检测表明, 转基因玉米 GA21 是安全的, 可以用作加工原料, 制作食品、饲料, 或应用于其它用途。

## 四、国内外研究的相关背景资料

### 4.1 简介全球转基因植物商业化的情况

2012 年是转基因作物商业化的第 17 年，全球转基因作物种植面积达到 1.703 亿公顷，比 2011 年的 1.6 亿公顷增长了 6%（ISAAA，2012 年度报告）。转基因作物种植面积从 1996 年到 2012 年增长了 100 倍，由 170 万公顷增长至 1.7 亿公顷。17 年期间，全球超过 1 亿人次的农民种植了转基因作物，且累积种植面积超过了 15 亿公顷。28 个种植转基因作物的国家中，排名前十位的国家转基因作物种植面积均超过 100 万公顷，且世界人口的 60%即约 40 亿人居住在这 28 个转基因作物种植国家中。两个国家首次开始种植转基因作物：苏丹开始种植 Bt 棉花，古巴开始种植 Bt 玉米。2012 年，发展中国家转基因作物的种植面积（占全球的 52%）超过了发达国家的转基因作物种植面积（占全球的 48%）。在 1996-2011 年间，转基因作物为发展中国家带来的经济收益累计为 490 亿美元，为发达国家带来的累计经济效益为 486 亿美元。

在全球转基因作物种植面积方面，前五位种植转基因作物的发展中国家是中国、印度、巴西、阿根廷和南非。这五个主要发展中国家共种植了 7820 万公顷的转基因作物，占全球转基因作物种植面积的 46%，且这五个国家的人口约占全球 70 亿人口的 40%。2012 年巴西达到了 3660 万公顷，仅次于美国，连续四年带动了全球转基因作物的增长，其增长率达世界第一。美国仍是全球转基因作物的领先生产者，种植面积达到 6950 万公顷，所有转基因作物的采用率约为 90%。印度和中国继续扩大 Bt 棉花种植面积，印度 Bt 棉花种植面积创历史新高，达到 1080 万公顷，采用率为 93%；而中国 720 万小农户种植了 400 万公顷的 Bt 棉花，采用率为 80%，平均每个农民种植 0.5 公顷的 Bt 棉花。非洲在转基因种植方面继续取得进展。南非将转基因作物种植面积扩大 60 万公顷，达到 290 万公顷。五个欧盟国家种植 12.91 万公顷转基因 Bt 玉米，比 2011 年增长 13%，其中西班牙的 Bt 玉米面积占欧盟总种植面积的 90%，即 11.63 万公顷，以 30%的采用率创下记录。

总之，转基因作物从1996年商业化至今，在促进粮食、饲料和纤维安全及自足，保护生物多样性，减轻贫困和饥饿，减少农业的环境影响，有助于减缓气候变化及减少温室气体等对社会经济可持续发展方面做出了重要贡献。（ISAAA，2012年度报告）

玉米（*Zea mays* L）是世界上最主要的粮食和饲料作物之一，种植面积仅次于小麦和水稻。由于玉米在粮食生产中的重要地位，其转基因研究和商业化也成为人们关注的焦点之一。2012 年全球转基因玉米的种植面积为 5510 万公顷，比 2011 年（5100 万公顷）增加了 8%。占全部转基因作物的 32%，位居大豆（47%）之后，为第二大转基因作物。在已经商业化的转基因玉米中，抗虫玉米的种植面积最大，其次是抗除草剂玉米。先正达公司推出了 GA21 和 Bt176 抗虫玉米，孟山都公司推出了 MON810、MON863 等抗虫玉米和 NK603 等抗除草剂玉米，这些转基因玉米的商业化生产对推动转基因玉米的研究和应用起到了积极作用。

此外，目前转基因作物发展的一个重要趋势是复合转基因产品的应用。例如，2009 年菲律宾种植的双性状（抗虫和耐除草剂）复合玉米达到 69%，较 2008 年增长

12%。美国将会向市场投放 Smartstax™ 玉米，该玉米具有八种不同的新型编码基因，呈现三种性状：两种为抗虫（地上地下害虫），一种为除草剂耐性。先正达公司已将 GA21 与其他转基因性状聚合，开发成复合转基因玉米并获准进行商业化应用。

## 4.2 转基因作物事件的批准情况

据 Cropnosis 公司估计，2012 年转基因作物的全球市场价值为 148.4 亿美元（高于 2011 年的 133.5 亿美元），这相当于 2012 年全球作物保护市场 646.2 亿美元市值的 23%，商业种子市场 340 亿美元市值的 35%。预计全球农场收获的“终端产品”（利用转基因技术获得的粮食及其他产品）价值是转基因种子市场价值的十倍。

在转基因作物的批准方面，从 1996 年起至今，除 28 个商业化种植转基因作物的国家外，另外有 31 个国家，共计 59 个国家和地区得到监管机构批准进口转基因作物用于食物和饲料以及释放到环境中，涉及 25 种作物、319 个事件，共计 2497 项审批。其中 1129 项审批关于转基因作物用于食品（直接使用或进行加工处理），813 项审批关于转基因作物用于饲料（直接使用或进行加工处理），555 项审批关于转基因作物种植或释放到环境中。批准转基因作物事件的 59 个国家和地区中，美国位居第一，其次为日本和加拿大。玉米是获批事件最多的作物，其次是棉花、马铃薯、油菜及大豆。在大多数国家和地区获得监管机构批准的作物品种是耐除草剂玉米 NK603，其次是耐除草剂大豆 GTS-40-3-2，抗虫玉米 MON810 等。

## 4.3 转基因作物全球市场价值

2012 年仅转基因种子的全球市场价值就达到了约 150 亿美元。2011 年开展的一项研究估计，发现、研发并授权种植一个新转基因作物/性状的成本约为 1.35 亿美元。Cropnosis 公司估计，2012 年转基因作物的全球市场价值为 148.4 亿美元(高于 2011 年的 133.5 亿美元)，这相当于 2012 年全球作物保护市场 646.2 亿美元市值的 23%，商业种子市场 340 亿美元市值的 35%。预计全球农场收获的“终端产品”(利用转基因技术获得的粮食及其他产品)价值是转基因种子市场价值的十倍。

## 4.4 可持续性的贡献

促进粮食、饲料以及纤维安全及自足，包括通过持续增加农业生产力和提高农民经济效益，提供更多实惠的粮食

- 保护生物多样性，转基因作物是一种节约耕地的技术
- 减轻贫困和饥饿
- 减少农业对环境的不利影响
- 有助于减缓气候变化及减少温室气体

总之，以上五点已经说明了转基因作物在显著促进可持续发展、减缓气候变化和全球变暖方面的能力，以及未来的巨大潜力。转基因作物可显著提高生产力及收入，因此可作为农村经济增长的引擎，帮助世界上的小型、资源贫乏农户摆脱贫困。

#### 4.5 GA21 玉米在国内外的审批情况

1996 年，GA21 玉米被美国批准用作食品和饲料，稍后被批准商业化种植。到目前为止，GA21 玉米已在美国、加拿大、日本、巴西、阿根廷和菲律宾等国批准商业化种植、食用及饲用；除以上国家外，澳大利亚、韩国和欧盟等也批准了 GA21 玉米用于食品、加工原料等用途。具体国外审批情况详见附件 9。中国于 2004 年 2 月获得农业部批准将转基因玉米 GA21 进口用作加工原料，并分别于 2006 年，2008 年和 2011 年批准了续申请。

## 五、转基因植物的安全性评价

### 5.1 受体植物的安全性评价

#### 5.1.1 受体植物的背景资料

##### 5.1.1.1 学名，俗名和其他名称

受体植物的学名为栽培玉米，拉丁名称为 *Zea mays* L., 俗称玉米、苞谷、苞米等。

##### 5.1.1.2 分类学地位

栽培玉米在分类上属于单子叶植物纲禾本科（*Gramineae*），玉蜀黍族（*Maydeae*），玉蜀黍属（*Zea* L.）。在早期的分类系统中，玉蜀黍属仅有栽培玉米（*Zea mays* L.）一个种。Wilkes (1967)将类蜀黍属（大刍草“*Teosinte*”）归入玉蜀黍属，成为其中的一个亚属，包括两个种：一年生的墨西哥玉米（*Zea mexicana*）和多年生玉米（*Zea perennis*）。根据新的研究结果，Doebley 领导的研究小组对玉蜀黍属内各分类单位的地位进行重新划分，制定了新的分类系统（Iltis and Doebley, 1980; Doebley and Iltis, 1980）：

Genus（属）*Zea*（玉蜀黍属）

Section（亚属）*Luxuriantise*（繁茂亚属）

*Zea luxurians*（繁茂玉米种）

*Zea perennis*（多年生玉米种）

*Zea diploperennis*（二倍体多年生玉米种）

Section（亚属）*Zea*（玉蜀黍亚属）

*Zea mays*（玉米种）

*ssp. mays*（栽培玉米亚种）

*ssp. mexicana*（墨西哥玉米亚种）

*ssp. parviglumis*（小颖玉米亚种）

##### 5.1.1.3 试验用受体植物品种（或品系）名称

GA21 转基因玉米受体为自交系 AT。

##### 5.1.1.4 是野生种还是栽培种

受体玉米为栽培种。

##### 5.1.1.5 原产地及引进中国时间

大刍草（*Teosinte*）是一种古老的野生杂草，起源于墨西哥和危地马拉，一般被认为是玉米的一个祖先种（Galinat, 1988）。Doebley and Iltis (1980) 和 Iltis and



Doebley (1980)认为一年生大刍草包括两个种，即墨西哥玉米亚种（*Z. mays* ssp. *mexicana*，包括 Chalco, Central Plateau 和 Nobogame 种）和小颖玉米亚种（*Z. mays* ssp. *parviglumis*-var. *parviglumis*，包括 Balsas 种）。根据倍性，来自墨西哥 Jalisco 的多年生大刍草分为另外两个种，即多年生玉米种（*Z. perennis*）和二倍体多年生玉米种（*Z. diploperennis*）。位于墨西哥中南部和中美洲的 Meso-American 地区是农业起源和发展的一个主要中心，也是许多作物的起源和多样性中心（Vavilov, 1951; Smith, 1995; Harlan, 1992）。玉米驯化的确切地点还不能确定。根据在美国和墨西哥对玉米植株（花粉、穗轴、苞叶和其它遗迹）的考古发现，Randolph (1959)认为玉米是在美国中西部、墨西哥和中美洲独立驯化的。玉米也可能具有多起源中心，位于墨西哥和南美洲，这一结论是根据中美洲和南美洲（安第斯地区）玉米群体的形态特征得出的（Mangelsdorf, 1974）。

玉米何时被引入中国尚无定论。公元 1511 年安徽省《颍州志》物产中所列珍珠秫被认为是我国玉米的最早记载（万国鼎 1962，中国作物遗传资源 1994）。山东农科院主编的《中国玉米栽培学》（1986 年）中认为《颍州志》中的珍珠秫应属高粱的一个品种。我国最早记载玉米的古籍有 1555 年河南《巩县志》、1551 年（明嘉靖 30 年）河南《襄城县志》、1555 年河南《巩县志》、1560 年甘肃《平凉府志》、1563 年《大理府志》和 1574 年的《云南通志》等。一般认为玉米是由阿拉伯人从西班牙带到麦加，由麦加经中亚西亚传入我国的西北部，再传到内陆各省；或从麦加传入印度和我国西南部，尔后向其它地区传播。但是由于当时沿海地区商业发展迅速和航海事业十分发达，玉米经由海路传入东南沿海地区也是可能的。早期引进的玉米是硬粒型的，马齿型玉米是在 20 世纪 20 年代以后引入的。在 1760 年以前由云南广西一带的硬粒型地方品种经突变和选择形成了糯质玉米品种（详见《中国农业发展史》，1992，《中国农业科学技术史稿》，1989，《中国作物栽培史稿》，1980）。

#### 5.1.1.6 玉米的用途

黄粒马齿型是中国主要的栽培玉米类型，籽粒可作为粮食和饲料，茎秆可作青贮饲料。很多人以玉米作为日常食物。一部分玉米出口或作为工业原料加工淀粉、玉米油、玉米糝和玉米粉。玉米淀粉可用作食品加工原料或作其它工业原料。从 2000 年开始，在河南省和中国西北地区的 3 个省玉米被用来提炼燃料酒精。

#### 5.1.1.7 在国内的应用情况

历史上，玉米由西半球的土著居民栽培。全世界很多环境都有玉米栽培，北至北纬 50 度左右。目前，全世界玉米栽培面积约为 13.8 亿公顷，中国约为 2-2.5 亿公顷，玉米产量约为 10-13 亿吨（FAO 数据，1992-2001）。玉米籽粒被用作食物或饲料，新鲜的甜玉米可直接食用或加工后食用。

中国是世界上最重要的玉米生产国之一，2003 年播种面积约为 2400 万公顷，总产 1.2 亿吨（2003 年中国农业年鉴）。玉米的播种面积和总产量位列水稻和小麦之后，是第三大作物。玉米分布在北纬 50°-20° 间由东北至西南一个狭长的地带，包括 14 个省、市、自治区。玉米主要生产省份有河北、山东、黑龙江、吉林、四川和河南。历史上，玉米单独或与其它谷类粮食一起制作各种中国人喜食的食品（如面包、蛋糕等）。鲜玉米（包括普通玉米和甜玉米）可直接食用。在过去的 20 年间，玉米

成为最重要的饲料作物之一。玉米作为原材料可生产 300 多种工业产品，或作为制药的原料。

中国玉米带可分为 6 个产区：I．北方春播玉米区；II．黄淮海平原夏播玉米区；III．西南山地玉米区；IV．南方丘陵玉米区；V．西北灌溉玉米区；VI．青藏高原玉米区（详见 1.3.1 节）。其中，前 3 个产区占玉米播种总面积的 90%。

#### **5.1.1.8 对人类健康和生态环境是否发生过不利影响**

迄今为止，种植玉米、食用玉米（包括食用含有玉米成分的食品）、作为饲料或用于工业用途，都未见对人类或动物的健康及生态环境产生过不利影响的报道。

#### **5.1.1.9 从历史上看，受体植物变成有害植物的可能性**

玉米是经过数千年逐步驯化而成的作物，已不适于在野外生存。虽然玉米可以产生大量的种子，但是需要借助人力来散布。前茬玉米的种子虽然可以越冬并在来年发芽，但不具杂草性质，这些种子可以在大豆和小麦田发芽，但形成的植株一般可用除草剂杀死或人工拔除，剩余的少数植株所产生的种子来年不能存活。玉米无法在栽培环境之外繁殖。而且，在自然界中玉米植株不具侵害性（Gould, 1968）。虽然在中美洲存在某些玉蜀黍属的野生种，但是它们均不具有成为杂草的倾向（Galinat, 1988）。与杂草植物不同，玉米具有一个只有雌蕊的雌穗包藏在苞叶内。因此，种子不能自然落粒，只有个别籽粒可能散落田间或运输途中（Hallauer, 2000）。

#### **5.1.1.10 是否有长期安全应用的记录**

栽培玉米作为人类食物和饲料应用已有相当长的历史。从目前的记载和研究资料看，玉米的应用是安全的。只有极少数人群在食用玉米后有不良反应。玉米在世界上长期的栽培历史也证明玉米是安全的。

### **5.1.2 受体植物的生物学特性**

#### **5.1.2.1 一年生还是多年生**

栽培玉米为一年生植物。在我国大部分地区春季或夏季播种，秋季收获。在气候条件适合的地区，一年可种植两季。在我国的海南岛等极少数地区，栽培玉米可越冬繁殖。

#### **5.1.2.2 对人类和其他生物是否有毒，如有毒，应说明毒性存在的部位及其毒性性质**

根据我们现有的知识，栽培玉米的籽粒及其相关产品对人或动物无毒害作用。

#### **5.1.2.3 是否有致敏原，如有，应说明致敏源存在的部位及其致敏的特性**

1996 年 Hefle 等人已将玉米列为“较少致敏的食物”。但作者已声明：此列表只证明此类食物有较少的致敏记录，并不能说明它是否具有成为过敏食物的特性或潜力（Hefle et al. 1996）。最新的科学研究报道没有证明玉米是一种致敏原。只有极少数个例表明食用玉米后产生过敏反应。没有证据表明过敏性与玉米有必然的联系。

#### 5.1.2.4 繁殖方式是有性繁殖还是无性繁殖，如为有性繁殖，是自花授粉还是异花授粉或常异花授粉；是虫媒传粉还是风媒传粉

栽培玉米是有性繁殖作物，雌雄同株异花。除以下几点之外，玉米的授粉、受精和颖果发育与其它风媒传粉的杂草相似：

- 花粉只在雄花序中产生，卵子只在雌花序中产生；
- 自花、异花授粉和受精均可能发生，其频率取决于花粉传递的物理距离和其它环境条件。有些复杂的因素（如遗传因素导致的不育和花粉管发育速度等）对自花和异花受精也有决定作用；
- 玉米花丝和花粉管的研究在植物界历史最长；
- 散粉后花粉一般存活 10—30 分钟，但在低温下可存活更长时间（Coe et al. 1988）；
- 由于玉米花粉是圆形的且直径较大（0.1 mm），花粉的散布受到限制。大量研究表明，98%的花粉落在 60 米范围内（Raynor et al. 1972; Luna et al. 2001; Burris, 2002）。
- 雌雄花序不是同时发育。雌花序一般早熟，但由于雌花序上的花丝从苞叶中伸出可能被延迟大约 7 天的时间，因此表面上雄蕊略微早熟，而迟发育的雄花序是完全暴露在外的。花丝伸出后 10 天内都可接受花粉，只是接受花粉的能力很快下降（Walden and Everett, 1961）。
- 玉米主要是风媒传粉，昆虫传粉较少（Russell and Hallauer, 1980）。研究表明，在雌雄相距 50 米时，玉米的结实率为 34%；100 米时为 25.2%；150 米时为 16.0%（Raynor et al., 1972）。

#### 5.1.2.5 在自然条件下与同种或近缘种的异交率

根据胚乳和种皮类型，玉米可分为 9 个亚种：

硬粒型（*Zea mays indurata*）

粉质型（*Zea mays amylacea*）

马齿型（*Zea mays indentata*）

爆裂型（*Zea mays everta*）

甜质型（*Zea mays saccharata*）

有稃型（*Zea mays tunicata*）

半马齿型（*Zea mays semindentata*）

糯质型（*Zea mays sinensis*）

甜粉型（*Zea mays amylacea-saccharata*）

玉米各亚种间可以自由杂交。玉米和大刍草具有可交配性，能够产生可育杂种（Wilkes, 1977）。玉蜀黍属（*Zea*）中的亲缘种只分布于墨西哥和危地马拉。摩擦禾属（*Tripsacum*）与玉蜀黍属亲缘关系较近，摩擦禾属已鉴别出 11 个种，分布于北纬 42°至南纬 24°之间（de Wet et al. 1981）。在自然条件下，栽培玉米与大刍草和摩擦禾很难杂交。大刍草与摩擦禾起源于北美，在我国没有自然分布。

#### **5.1.2.6 育性（可育还是不育，育性高低，如果不育，应说明属何种不育类型）**

本研究所用自交系都是正常可育的。但在自然条件下有许多因素可以引起玉米的雄花不育，如高温、干旱、辐射、化学药物处理，以及营养元素缺乏等。在玉米材料中也存在受遗传控制的不育类型，如受细胞质基因控制的 T 型不育系、C 型不育系、S 型不育系等，还有受细胞核基因控制的不育系。

#### **5.1.2.7 全生育期**

在我国春玉米的生长期一般是 4 月至 9 月，夏玉米的生长期一般是 6 月中旬至 9 月中旬。本研究所用的受体自交系生育期也在此范围内。

#### **5.1.2.8 在自然界中生存繁殖的能力，包括越冬性、越夏性及抗逆性等**

玉米是一年生植物，在我国大部分地区可正常开花结实。但在玉米开花期遇持续高温（38℃以上）会影响花粉的生活力，进而降低玉米的结实率。在长期的进化过程中，玉米已经不能在野外存活。玉米种子的散布必须要借助人力。在自然条件下，玉米种子越冬后发芽率明显下降。

在夏季，玉米可以在全国各地种植，但在冬季，除了海南省部分地区之外，玉米都不能生长。玉米是比较耐旱的作物，比其它粮食作物（如小麦和水稻）消耗水分要少。玉米每生产 1 千克干物质约消耗 184 千克水，稍高于谷子和高粱，但比小麦、大麦和水稻少得多。玉米的抗旱性主要表现在苗期，拔节以后抗旱性明显降低。玉米的耐盐性不高，玉米幼苗在土壤耕作层含盐量低于 0.18%可正常生长；含盐量 0.18—0.30%生长明显受阻；含盐量高于 0.30%时，就停止生长。

#### **5.1.3 受体植物的生态环境**

##### **5.1.3.1 受体植物的地理分布和自然生境**

玉米虽然在全国都有种植，但主要分布在由东北至西南一个狭长的地带（北纬 50°—20°），包括 14 个省、市和自治区。玉米主产区有河北、黑龙江、山东、四川和河南省。根据地理位置和生态环境，可分为 6 个玉米产区（图 1）。



图 1 中国的玉米生产区

**北方春播玉米区：**玉米主产区，占播种总面积的 39.2%，占总产的 43.8%。该区包括黑龙江、吉林、辽宁、宁夏，内蒙古、山西大部，河北、陕西和甘肃北部，生态条件和生产条件都适合玉米生长，地势平坦，土壤肥沃，光照充足，无霜期 130—170 天，年降雨量 400—800mm（60%降雨在 6—9 月间）。一年一熟。

**黄淮海平原夏播玉米区：**玉米主产区，占播种总面积的 32.7%，占总产的 35.5%。该区包括山东和河南、河北大部、山西中南部、陕西关中地区和江苏徐淮地区，是玉米的集中产区。水资源丰富，黄河、淮河和海河横穿该区，年降雨量为 170—220mm（70%降雨在夏季），水浇地面积达 50%。一年两熟。

**西南山地玉米区：**玉米主产区，占播种总面积的 18.4%，占总产的 13.4%。该区包括四川、云南和贵州省、陕西南部、广西西部高原地区、湖南、湖北和甘肃部分地区。山地占该区的 90%，地形复杂。无霜期为 240—330 天，降雨量为 800—1200mm。该区种植的玉米易受生物和非生物因素（如干旱和病虫害）的危害。一年一熟或一年多熟。

**南方丘陵玉米区：**该区面积广大，包括广东、海南、浙江、江苏和安徽南部、广西东部、湖南和湖北省。该区主要种植水稻，玉米面积较小，只占 3.2%，产量只占总产的 2.2%。该区位于热带和亚热带地区，无霜期 220—360 天，降雨量 1000—1800mm，适合玉米生长。一年三熟或一年四熟。

**西北灌溉玉米区：**该区为干旱地区，降雨量低于 200mm，包括新疆、河西甘肃走廊、宁夏河套地区。这一地区的作物主要靠灌溉。无霜期 130—180 天。玉米播种面积占 3%。一年一熟。

**青藏高原玉米区：**该区位于高纬度地区，包括青海省和西藏自治区、四川西部和云南北部地区。玉米栽培历史较短，播种面积很小。

#### **5.1.3.2 生长发育所要求的生态环境条件，包括自然条件和栽培条件的改变对其地理分布区域和范围影响的可能性**

玉米是喜温喜光植物。种子发芽的最低温度为 6—7℃，在 10—12℃时种子才可整齐发芽，生产上常把这个温度作为开始播种的最低温度指标。最适宜玉米种子发芽的温度为 25℃—28℃。玉米苗期生长速度与温度的高低有密切关系，在一定范围内温度越高生长越快。一般 10℃以上的温度有利于玉米的生长发育，出苗后玉米能够抵抗短时间的低温（-2℃—-3℃）。玉米从抽雄到开花时温度以 25—28℃为宜。如果温度过高（35℃以上），空气湿度又低（30%左右），花粉生活力会很快丧失。因此，玉米开花期若遇长时间的高温干燥会造成结实不良。玉米的灌浆和乳熟前期的适宜温度为 22—24℃，成熟后期要求的温度为 6—25℃。

不同的玉米品种对温度的要求不同。春播早熟品种全生育期积温要求 1800—2000℃；中熟品种为 2200—2400℃；晚熟品种为 2500—2800℃；夏玉米早熟品种需要的全生育期积温为 1200—1350℃；中熟品种为 1400—1500℃。玉米高度适应农田，不能在野外繁育。栽培条件的改变可能影响其地理分布区域和范围。

#### **5.1.3.3 是否为生态环境中的组成部分**

玉米不是自然生态系统的一部分，但在我国许多地区，玉米是农业生态环境的一部分。

#### **5.1.3.4 与生态系统中其他植物的生态关系，包括生态环境的改变对这种（些）关系的影响以及是否会因此而产生或增加对人类健康和生态环境的不利影响**

玉米田构成相对独立的生态环境，属于农田生态环境。在生产上，玉米常和小麦或水稻轮作。在北方春播玉米区和黄淮海平原夏播玉米区，玉米也常常和大豆、甘薯等低秆作物间作。玉米对其它植物无明显依赖性。农田生态环境是相对稳定的、严格人为控制的生态环境，通常不会发生显著改变，因此玉米对人类健康和生态环境不会产生或增加不利影响。

#### **5.1.3.5 与生态系统中其他生物（动物和微生物）的生态关系，包括生态环境的改变对这种（些）关系的影响以及是否会因此而产生或增加对人类健康或生态环境的不利影响**

由于玉米是风媒花，昆虫的种群对玉米传粉影响不大，有些昆虫危害玉米根、茎、叶和果穗。玉米本身（转基因玉米除外）不能直接杀死昆虫。在玉米根际微生物中固氮菌可与玉米根系互作，进行固氮。但是，不大可能出现玉米与其它植物和动物之间的相互作用并对人体健康产生负面影响。

#### 5.1.3.6 对生态环境的影响及其潜在危险程度

玉米是栽培作物，人类耕种玉米对自然生态环境没有显著影响。玉米不同品种具有不同的种植方式，可能会对农田生态环境产生一些影响，但不存在潜在的危害。

#### 5.1.3.7 涉及到国内非通常种植的植物物种时，应描述该植物的自然生境和有关其天然捕食者、寄生物、竞争物和共生生物的资料

玉米在我国是常见农作物。

#### 5.1.4 受体植物的遗传变异

##### 5.1.4.1 遗传稳定性

由于玉米是异花授粉作物，不同材料种在一起会通过异花授粉产生各种遗传变异，从而导致玉米的遗传不稳定性。但是，如果不同的玉米材料隔离种植将会保持遗传稳定性。

##### 5.1.4.2 是否有发生遗传变异而对人类健康或生态环境产生不利影响的资料

目前未见玉米自然变异对人类或环境产生不利影响的资料。培育玉米杂交种是一种常规的育种方法，玉米育种家创造新的遗传变异，用来选育新品种。玉米在自然条件下偶尔会产生一些遗传变异，育种家也经常利用这些自然变异进行品种改良。一些优良的变异会被保留下来，而一些不良变异（包括那些对人类健康或对生态环境产生不利影响的变异）则会被淘汰。目前未见玉米自然变异对人类或环境产生不利影响的资料。

##### 5.1.4.3 在自然条件下与其他植物种属进行遗传物质交换的可能性

根据 1980 年以前的研究结果，认为玉米很容易与大刍草发生基因交流，大刍草的墨西哥玉米亚种（*Z. mays ssp. mexicana*）是两个亚种间杂交形成的，可作为基因转移的桥梁（de Wet and Harlan, 1972; Galinat, 1973）。然而，利用现代技术重新研究，没有发现玉米与大刍草发生遗传物质交换的证据（Smith et al. 1985）。墨西哥玉米亚种（*Z. mays ssp. mexicana*）可能不是野生种与栽培玉米的杂交种，因而不能作为基因转移的桥梁，它们之间的相似性可能是由于都平行适应于相同的生态环境（Doebley, 1984）。有证据表明，由大刍草向玉米转移基因受到严格的限制（Doebley et al. 1987）。摩擦禾（*Tripsacum*, n=9）和玉蜀黍（*Zea*, n=10）植物具有不同的染色体数目。借助现代幼胚拯救技术，栽培玉米可以与摩擦禾（*T. dactyloides*）杂交，但得到的后代通常是不育的，遗传也不稳定，从摩擦禾向栽培玉米转移基因是十分困难的（Manglesdorf, 1974）。附加到栽培玉米基因组的单个摩擦禾染色体传递率极低，玉米与摩擦禾染色体交叉频率也极低，因而无法在玉米改良中利用摩擦禾的基因（Galinat, 1988）。从其它植物种很难向玉米转移基因。玉米花粉与小麦授粉可产生小麦单倍体，但玉米染色体在杂种胚发育的早期就消失了，玉米与小麦的遗传交换也不可能发生（Laurie and Bennett, 1989）。

#### **5.1.4.4 在自然条件下与其他生物（动物和微生物）进行遗传物质交换的可能性**

自然条件下从未发现玉米与动物和微生物交换遗传特征（Bertolla and Simonet, 1999, Nielsen et al. 2000）。

#### **5.1.5 受体植物的监测方法和监控的可能性**

玉米很容易肉眼鉴定。另外也可以用遗传标记进行监测。

#### **5.1.6 受体植物的其他资料**

无。

#### **5.1.7 根据上述评价，参照本办法第十一条有关标准划分受体植物的安全等级**

综上所述，玉米种子和秸秆对人畜无毒，玉米不可能变为杂草，在自然界生存竞争能力差，不能形成群落，无生态危险性；玉米虽可与其近缘野生植物大刍草或摩擦禾属的一些种杂交，但由于我国野外没有这些野生种，所以玉米的基因不可能通过渐渗杂交的方式传递给杂草。参照《农业转基因生物安全管理办法》第十一条有关标准，GA21 玉米的受体属于安全等级 I 级的植物。



## 5.2 基因操作的安全性评价

### 5.2.1 转基因植物中引入或修饰的性状和特性的叙述

GA21 转基因玉米导入了一个经过修饰的玉米基因 *mepsps*，该基因编码经过修饰的 5-烯醇丙酮酸莽草酸-3-磷酸合成酶（mEPSPS）。与玉米内源 EPSPS 蛋白不同，经过修饰的 mEPSPS 蛋白能够产生芳香族氨基酸，对草甘膦类除草剂具有耐受性，而这类除草剂常被用来控制玉米田的主要杂草。经过大量的实验研究已表明转抗除草剂 *mepsps* 基因玉米与普通商业玉米品种没有本质上的区别。

### 5.2.2 实际插入或删除序列的材料

#### 5.2.2.1 插入序列的大小和结构，确定其特性的分析方法

用于 GA21 玉米的转化载体为 pDPG434，该载体经 pUC-19 改造而来。GA21 玉米的整个插入片段的核苷酸序列包含在一个 *EcoRV* 酶切片段上，这个片段大小为 20.5kb，其序列来自转化载体 pDPG434 的 *NotI* 酶切片段（图 2）。序列分析表明，GA21 玉米插入片段包括 6 个相邻的区域（copy 1-6；图 3）。其中，片段 1 包括水稻肌动蛋白启动子（该启动子包含 5'端 696 bp 缺失）、肌动蛋白第一外显子和内含子、优化转移肽、*mepsps* 基因和 NOS 终止子；片段 2、3 和 4 是来源于质粒 pDPG434 完整的 *NotI* 酶切片段（3.49 kb）（如图 2）；片段 5 包括完整的水稻肌动蛋白启动子、肌动蛋白第一外显子和内含子、优化转移肽、*mepsps* 基因的前 288 bp 序列（该片段终止于一个密码子，不含终止子）；片段 6 包括水稻肌动蛋白启动子和一个截断的肌动蛋白第一外显子，不含其它任何 pDPG434 质粒的元素。

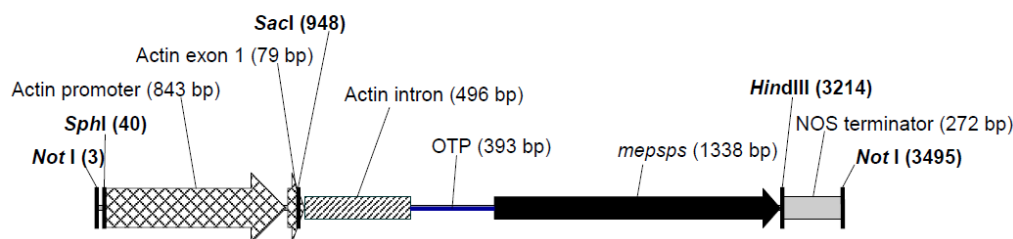


图 2 用于转化 GA21 玉米的 pDPG434 载体 *NotI* 限制性酶切片段

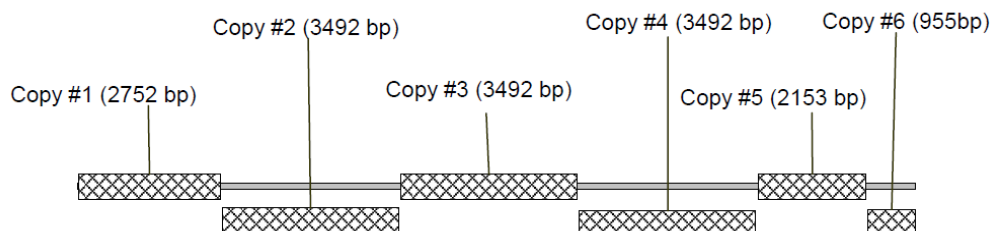


图 3 GA21 玉米 *EcoRV* 插入片段内的各元件示意图

使用两个 *NotI* 转化片段上功能元件的探针：actin 特异性探针和 *mepsps* 特异性探针（图 4），通过 Southern 杂交分析检测 GA21 玉米上 *EcoRV* 片段的插入情况。结果

表明，以 *actin* 特异性探针和 *mepsps* 特异性探针可分别得到一条>12kb 和<23kb 的杂交带（图 5）。随后对 GA21 玉米插入片段的核苷酸序列分析表明 *EcoRV* 片段大小为 20.5 kb。表明整个 GA21 玉米插入片段为单位点插入，并在 20.5 kb 大小的杂交带之内。此外，还有一些 4.4、5.5 和 9.0 kb 大小的杂交带，这些条带是 *mepsps* 特异探针与玉米内源 *epsps* 基因杂交所得，在含有 GA21 玉米和非转基因玉米 DNA 的泳道中都能够检测到这些条带。阳性对照样品中检测到了预期的 2.0 kb *mepsps* 和 1.4 kb *actin* 特异片段。

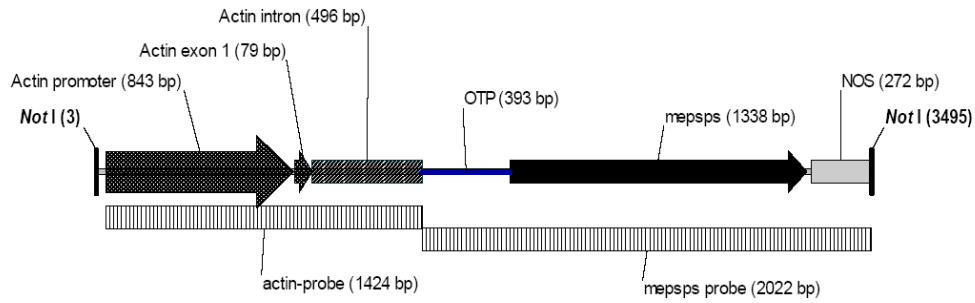


图 4 检测 GA21 插入片段的 *actin* 特异性探针和 OTP-*mepsps*-NOS 特异性探针位置

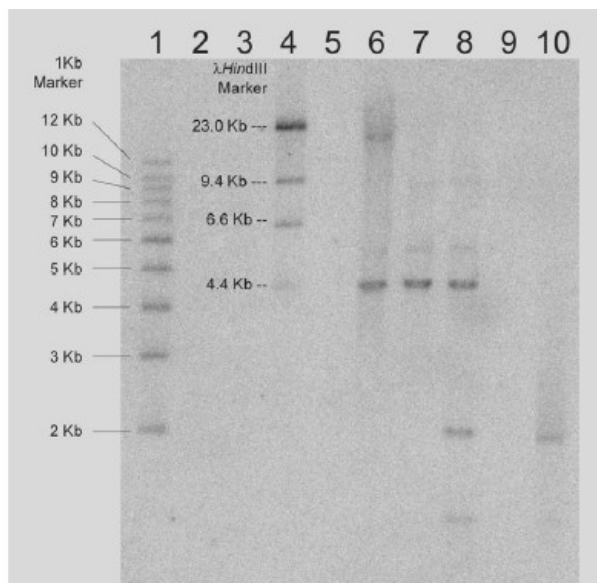


图 5 GA21 插入片段数目的 Southern 杂交分析结果

玉米基因组 DNA (7.5  $\mu$ g) 用 *EcoRV* 限制性内切酶消化, 电泳后转移到 Nytran 膜上, 与 *actin*-和 *mepsps*-特异性探针杂交。

泳道 1: 250pg 1 Kb 分子量标准(Stratagene, Cat. No. 201115);

泳道 2:空白;

泳道 3:空白;

泳道 4:500pg Lambda *HindIII* 分子量标准 (New England Biolabs, Cat.No.N3012S) ;

泳道 5:空白;

泳道 6:GA21 回交 3 代 BC3;

泳道 7:非转基因对照;

泳道 8:加入 2.0pg *actin*-, 2.8 pg *mepsps*-,和 3.8 pg pUC19-特异探针 (见图 12) 的非转基因对照;

泳道 9:空白;

泳道 10: 2.0pg *actin*-, 2.8 pg *mepsps*-,和 3.8 pg pUC19-特异探针

### 5. 2. 2. 2 删除区的大小与功能。

通常在确定玉米基因组在外源 DNA 插入过程中是否发生了缺失, 需要在插入序列 5'和 3'端的基因组侧翼序列中分别设计引物进行 PCR 分析, 并且扩增非转基因近等基因玉米株系 (或转化株系) 中的同一区域, 然后将转基因 PCR 产物序列与非转基因 PCR 产物序列进行比对分析。虽然我们已尝试过使用 PCR 分析, 但由于 GA21 玉米外源 DNA 插入在玉米一号染色体的区域含有重复 DNA 序列, 因此无法得到有意义的的数据。鉴于 PCR 方法不成功, 我们便采用了生物信息学方法来评估 GA21 玉米中外源插入序列对受体玉米基因组可能产生的影响。

将已知的 GA21 玉米 5'和 3'端基因组旁侧序列与美国生物技术信息中心 (NCBI) 中的 Entreznr 核酸数据库 (NCBI 2009) 进行 BLASTN 比对分析。结果表明, GA21 玉米插入位点 5'端的旁侧玉米基因组序列与玉米叶绿体基因组有很高同源性。在核基因组中出现细胞器序列这种现象并非没有先例, 比如之前就在多种传统

(非转基因)植物中发现过类似现象, 其中就包括玉米 (Figuroa *et al.* 1999a and 1999b, Fukuchi *et al.* 1991, Goff *et al.* 2002, Kemble *et al.*,1983)。GA21 玉米的插入位点显示出破坏了一个与编码细胞色素 C 生物合成蛋白同源的预测蛋白。从表型和组成成分检测来看都未发现 GA21 玉米细胞色素 C 的活性受到破坏, 很有可能是在 GA21 玉米叶绿体基因组中存在一个有效的细胞色素 C 生物合成基因, 并弥补了核基因组中被破坏了的基因功能。GA21 玉米插入位点 3'端旁侧玉米基因组序列由高度重复序列组成。通过对旁侧序列的 BLASTN 分析没有与任何已知基因片段序列同源。

涉及商业保密资料, 在本公开版本中已删除

图 6. GA21 插入位点 5'端旁侧序列

涉及商业保密资料, 在本公开版本中已删除

图 7. GA21 插入位点 3'端旁侧序列

#### 5.2.2.3 目标基因的核苷酸序列和推导的氨基酸序列

*mepsps* 基因的核苷酸序列 (1338bp)

涉及商业保密资料, 在本公开版本中已删除

*mepsps* 基因推导的氨基酸序列 (446aa)

涉及商业保密资料, 在本公开版本中已删除

根据 DNA 序列推导出 mEPSPS 蛋白序列, 并且与内源 EPSPS 蛋白进行了比对, 结果表明序列一致性至少为 99.3%。

#### 5.2.2.4 插入序列在植物细胞中的定位(是否整合到染色体、叶绿体、线粒体, 或以非整合形式存在)及其确定方法;

通过 SSR 标记基因型和遗传图谱分析得出 GA21 玉米的转基因插入片段位于 1 号染色体长臂上, 并在 SSR 分子标记的 NM0406 (*bnlg1502*)和 NM0194 (*phi120*)之间。

#### 5.2.2.5 插入序列的拷贝数

5.2.2.1 节中已证明 GA21 玉米插入片段以单位点形式插入。本节中通过 Southern 杂交, 使用两个探针 (OTP-*mepsps*-NOS-探针和 *actin*-探针) 分别用 5 种限制酶酶切, 验证 GA21 插入片段包含多拷贝来源于 pDPG434 质粒的 *NotI* 转化片段。此外也证明 GA21 玉米不包含任何来源于载体骨架的序列。试验中的阴性对照为近等基因系的非转基因玉米提取的基因组 DNA, 阳性对照是纯合的非转基因玉米提取的基因组 DNA 和特异性探针的混合物。

### 功能元件 Southern 杂交分析: OTP-*mepsps*-NOS-特异性探针

OTP-*mepsps*-NOS-特异性探针包含 OTP 序列, *mepsps* 基因, 和 NOS 终止子序列。特异性探针位置和 5 个限制酶的酶切位点如图 8。分析结果见表 1 和图 9。GA21 基因组 DNA (简称 GA21 DNA) 用 *Sph*I 酶 (泳道 2) 切后分别产生大约 18, 3.5 和 2.1kb 的条带。在 GA21 DNA (泳道 2) 和阴性对照 (泳道 3) 中可以看到大约 6.5kb 内源杂交条带。用 *Sac*I 酶切的 GA21 基因组 DNA (泳道 4) 产生大约 3.5 和 2.1kb 杂交条带。用 *Acc*I 酶切后的 GA21 基因组 DNA (泳道 6) 中观察到大约 3.5kb 和 2.1kb 的杂交条带。在 GA21 DNA (泳道 6) 和阴性对照 (泳道 7) 中能观察到约为 10 和 1.7kb 的内源杂交条带。用 *Dra*I 酶切的 GA21 基因组 DNA (泳道 8) 产生约为 2.6 和 1.3kb 杂交条带。在 GA21 DNA (泳道 8) 和阴性对照 (泳道 9) 中能观察到约为 4.5kb 的内源杂交条带。用 *Bst*EII 酶切的 GA21 基因组 DNA (泳道 10) 产生约为 4.3 和 3.5kb 杂交条带。在 GA21 DNA (泳道 10) 和阴性对照 (泳道 11) 中能观察到约为 25 kb 的内源杂交条带。阳性对照 (含非转基因 DNA) 显示了预期的 2.0 kb 条带和约为 25 kb 的内源杂交条带 (泳道 12)。

本结果是对前述(5.2.2.1 节)已证明的 GA21 插入片段结构完整性的进一步验证。未检测到非预期条带, 表明 GA21 插入片段并不包含已证明的 GA21 转基因插入片段以外的多余的 OTP, *mepsps* 基因或 NOS 终止子序列。

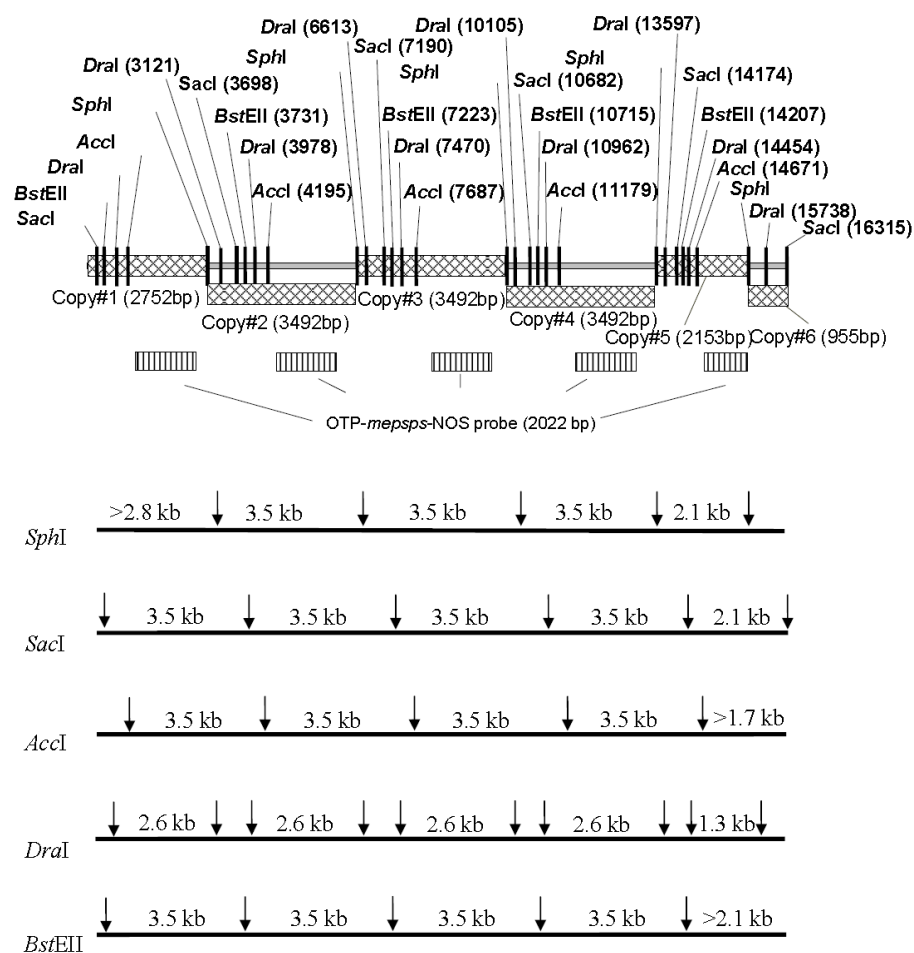


图 8 限制性酶切位点的位置及 OTP-mepsps-NOS 特异性探针的位置

此图代表 GA21 玉米插入片段。使用 OTP-mepsps-NOS 特异性探针的用于 Southern 杂交分析的限制性内切酶识别序列的位置已注明。竖箭头表示限制性酶切位点的位置。预期限制性酶切片段的大小已注明。

表 1 利用 OTP-*mepsps*-NOS 特异性探针的 Southern 杂交分析中，预期及实际测得的杂交条带大小

泳道	DNA	限制性内切酶	探针	预期条带数量	预期条带大小	观察到的条带大小
基因组 DNA						
泳道 2	GA21	<i>Sph</i> I	OTP- <i>mepsps</i> -NOS	3+ 内源条带	3.5 (3X) >2.8 2.1 内源条带未知	3.5 * 18 2.1 内源条带 6.5
泳道 3	阴性对照	<i>Sph</i> I	OTP- <i>mepsps</i> -NOS	内源条带未知	内源条带未知	内源条带 6.5
泳道 4	GA21	<i>Sac</i> I	OTP- <i>mepsps</i> -NOS	2+ 内源条带	3.5 (4X) 2.1 内源条带未知	3.5 * 2.1 内源条带 4.5
泳道 5	阴性对照	<i>Sac</i> I	<i>mepsps</i>	内源条带未知	内源条带未知	内源条带 4.5
泳道 6	GA21	<i>Acc</i> I	OTP- <i>mepsps</i> -NOS	2+ 内源条带	3.5 (4X) >1.7 内源条带未知	3.5 * 2.1 内源条带 10 内源条带 1.7
泳道 7	阴性对照	<i>Acc</i> I	OTP- <i>mepsps</i> -NOS	内源条带未知	内源条带未知	内源条带 10 内源条带 1.7
泳道 8	GA21	<i>Dra</i> I	OTP- <i>mepsps</i> -NOS	2+ 内源条带	2.6 (4X) 1.3 内源条带未知	2.6 * 1.3 内源条带 4.5
泳道 9	阴性对照	<i>Acc</i> I	OTP- <i>mepsps</i> -NOS	内源条带未知	内源条带未知	内源条带 4.5
泳道 10	GA21	<i>Bst</i> EII	OTP- <i>mepsps</i> -NOS	2+ 内源条带	3.5 (4X) >2.1 内源条带未知	3.5 * 4.3 内源条带 25
泳道 11	阴性对照	<i>Bst</i> EII	OTP- <i>mepsps</i> -NOS	内源条带未知	内源条带未知	内源条带 25
阳性对照						
泳道 12	阴性对照 + OTP- <i>mepsps</i> -NOS 探针	N/A	OTP- <i>mepsps</i> -NOS	1+内源条带	2	2
					内源条带未知	内源条带 25

\*由于预期片段多拷贝数使这些条带显示较高的浓度

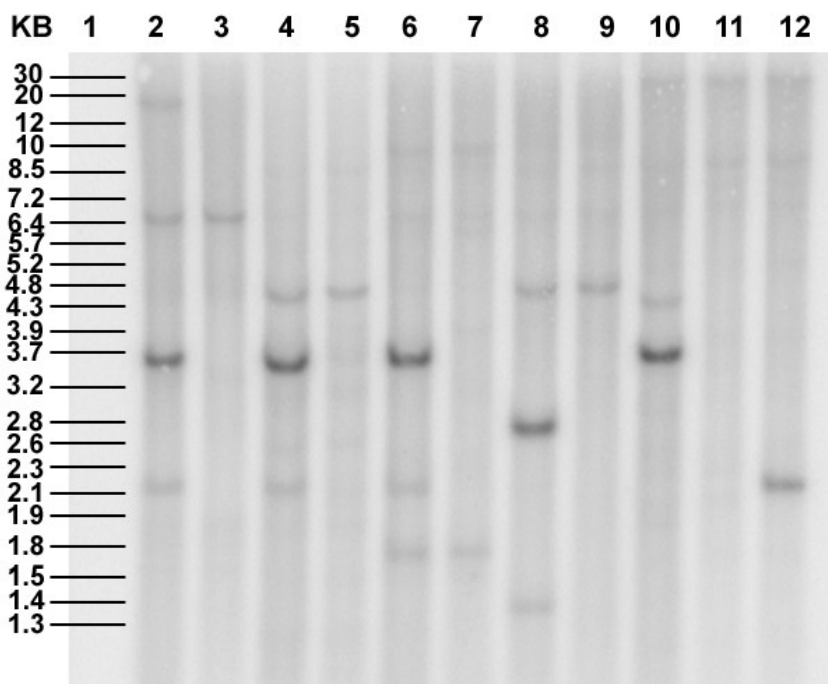


图 9. 利用 OTP-mepsps-NOS 特异性探针的 GA21 玉米 Southern 杂交分析

玉米基因组 DNA (7.5 µg) 分别用 *SphI*, *SacI*, *AccI*, *DraI*, 和 *BstEII* 限制性内切酶酶切, 电泳后转移到 Zeta-Probe® GT 膜上, 与 OTP-mepsps-NOS 特异性探针 (2022bp) 杂交。

泳道 1: 分子量标记 (Analytical Marker DNA Wide Range, Promega Corporation Cat. No. DG1931) ;

泳道 2: 用 *SphI* 酶切的 GA21 DNA;

泳道 3: 用 *SphI* 酶切的阴性对照;

泳道 4: 用 *SacI* 酶切的 GA21 DNA;

泳道 5: 用 *SacI* 酶切的阴性对照;

泳道 6: 用 *AccI* 酶切的 GA21 DNA;

泳道 7: 用 *AccI* 酶切的阴性对照;

泳道 8: 用 *DraI* 酶切的 GA21 DNA;

泳道 9: 用 *DraI* 酶切的阴性对照;

泳道 10: 用 *BstEII* 酶切的 GA21 DNA;

泳道 11: 用 *BstEII* 酶切的阴性对照;

泳道 12: 用 *BstEII* 酶切的阴性对照+2.8 pg 的 OTP-mepsps-NOS 特异性探针

### 功能元件 Southern 杂交分析: actin -特异性探针

actin-特异性探针 (包含内含子和外显子) 用于 Southern 杂交分析。actin-特异性探针位置和 5 个限制性酶的酶切位点, 见图 10。分析结果见和表 2 和图 11。结果显示, 用 *XmnI* 酶切的 GA21 基因组 DNA (泳道 2) 产生约为 8.4, 4.4 和 3.5kb 的杂交条带。用 *XbaI* 酶切的 GA21 基因组 DNA (泳道 4) 产生约为 20, 12, 3.2 和 2.1kb 的杂交条带。用 *SphI* 酶切的 GA21 基因组 DNA (泳道 6) 产生约为 18, 3.5, 2.1 和 1.8kb 的杂交条带。用 *BglI* 酶切的 GA21 基因组 DNA (泳道 8) 产生约为 11, 3.5 和 2.3kb 的杂交条带。用 *NcoI* 酶切的 GA21 基因组 DNA (泳道 10) 产生约为 3.5, 2.6 和 0.95kb 的杂交条带。在阴性对照泳道 3, 5, 7, 9, 11 中未发现杂交条带。并且在阳性对照 actin-特异性探针显示了预期的 1.4 kb 条带 (泳道 12)。



本结果是对前述(5.2.2.1 节)已证明的 GA21 插入片段结构完整性的进一步验证。未检测到非预期条带，表明 GA21 插入片段并不包含已证明的 GA21 转基因插入片段以外的多余的水稻 *actin* 序列。

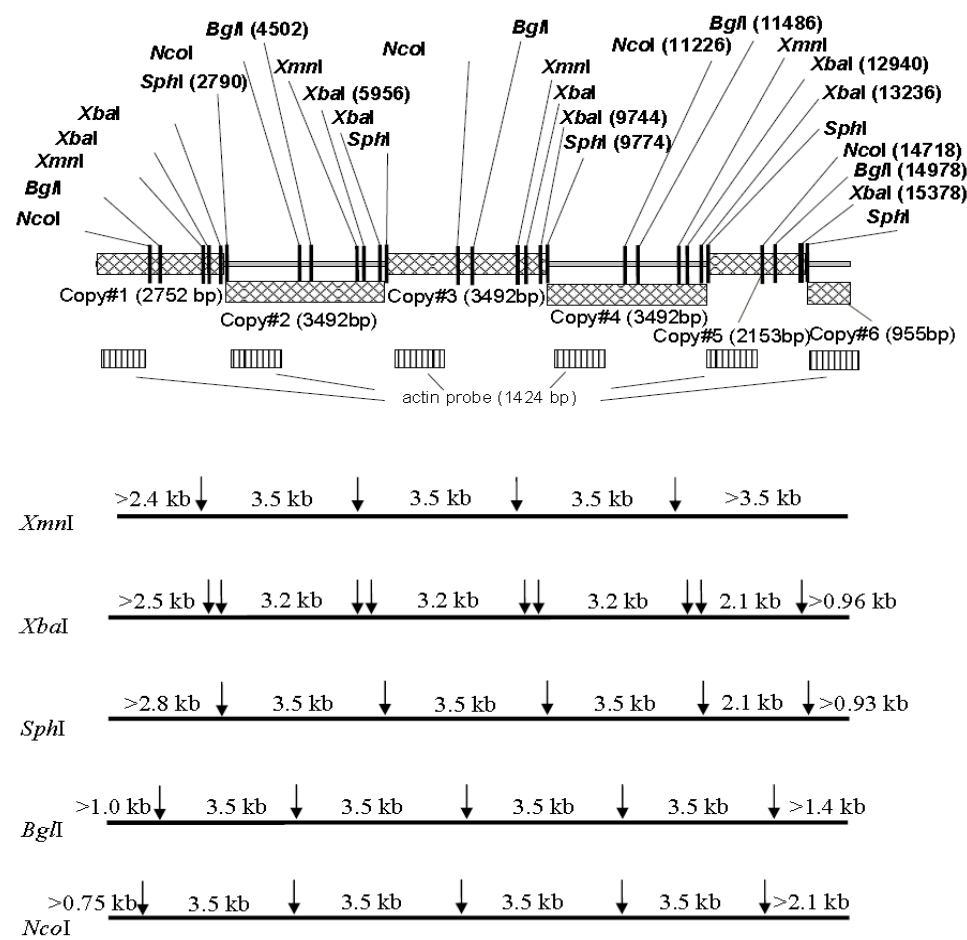


图 10. 限制性酶切位点的位置及 *actin*-特异性探针的位置

此图代表显示的 GA21 插入片段。使用 *actin*-特异性探针的用于 Southern 杂交分析的限制性内切酶识别序列的位置已注明。竖箭头表示限制性酶切位点的位置。预期限制性酶切片段的大小已注明。

表 2 利用 actin-特异性探针的 Southern 杂交分析中，预期及实际测得的杂交条带大

泳道	DNA	限制性内切酶	探针	预期条带数量	预期条带大小	观察到的条带大小
基因组 DNA						
泳道 2	GA21	<i>XmnI</i>	actin	3	3.5 (3X) >3.5 >2.4	3.5 * 8.4 4.4
泳道 3	阴性对照	<i>XmnI</i>	actin	无	0	0
泳道 4	GA21	<i>XbaI</i>	actin	4	3.2 (3X) >2.5 2.1 >0.96	3.2 * 20 2.1 12
泳道 5	阴性对照	<i>XbaI</i>	actin	无	0	0
泳道 6	GA21	<i>SphI</i>	actin	4	3.5 (3X) >2.8 2.1 >0.93	3.5 * 18 2.1 .8
泳道 7	阴性对照	<i>SphI</i>	actin	无	0	0
泳道 8	GA21	<i>BglI</i>	actin	3	3.5 (4X) >1.4 >1.0	3.5 * 11 2.3
泳道 9	阴性对照	<i>BglI</i>	actin	无	0	0
泳道 10	GA21	<i>NcoI</i>	actin	3	3.5 (4X) >2.1 >0.75	3.5 * 2.6 0.95
泳道 11	阴性对照	<i>NcoI</i>	actin	无	0	0
阳性对照						
泳道 12	阴性对照 +actin探针	N/A	actin	1	1.4	1.4

\*由于预期片段多拷贝数使这些条带显示较高的浓度

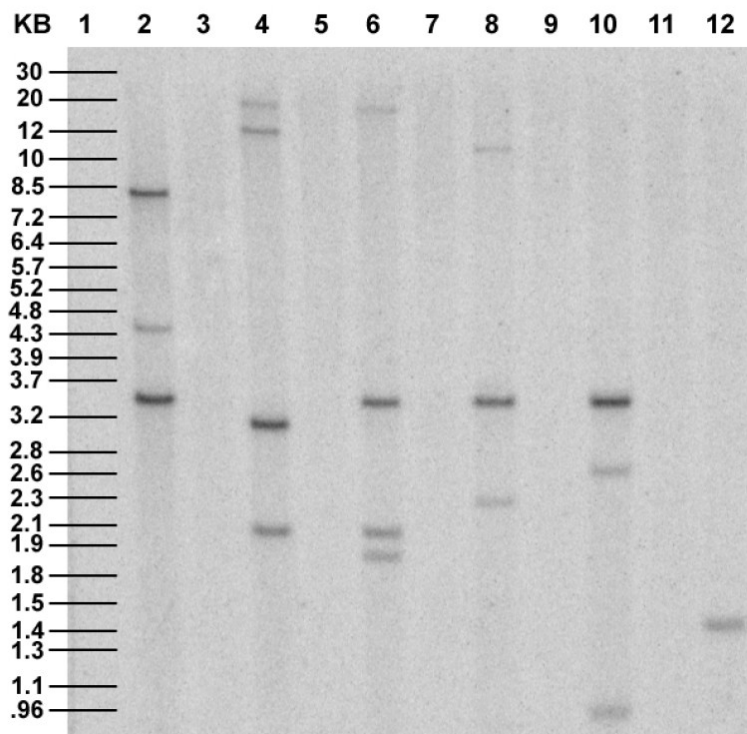


图 11 利用 actin-特异性探针的 GA21 玉米 Southern 杂交分析

玉米基因组 DNA (7.5  $\mu$ g) 分别用 *Xmn*I, *Xba*I, *Sph*I, *Bgl*II, 和 *Nco*I 限制性内切酶酶切, 电泳后转移到 Zeta-Probe<sup>®</sup> GT 膜上, 与 actin-特异性探针 (1424bp) 杂交。

泳道 1: 分子量标记 (Analytical Marker DNA Wide Range, Promega Corporation Cat. No. DG1931) ;

泳道 2: 用 *Xmn*I 酶切的 GA21 DNA;

泳道 3: 用 *Xmn*I 酶切的阴性对照;

泳道 4: 用 *Xba*I 酶切的 GA21 DNA;

泳道 5: 用 *Xba*I 酶切的阴性对照;

泳道 6: 用 *Sph*I 酶切的 GA21 DNA;

泳道 7: 用 *Sph*I 酶切的阴性对照;

泳道 8: 用 *Bgl*II 酶切的 GA21 DNA;

泳道 9: 用 *Bgl*II 酶切的阴性对照;

泳道 10: 用 *Nco*I 酶切的 GA21 DNA;

泳道 11: 用 *Nco*I 酶切的阴性对照;

泳道 12: 用 *Nco*I 酶切的阴性对照+2.0 pg 的 actin-特异性探针

### GA21 玉米中是否存在载体骨架的分析

质粒 pDPG434 来自 pUC19 载体, 含有 *Not*I 转化片段。用 pUC19 载体骨架特异探针检测 GA21 玉米中是否存在 pDPG434 载体骨架的其他元件 (图 12)。Southern 杂交结果显示 GA21 转化体中不含有载体骨架序列 (图 13)。在检测的玉米样品中没有检测到任何杂交条带。在阳性对照泳道检测到了预期的 2.7 kb 大小 pUC19 载体特异探针的阳性对照。

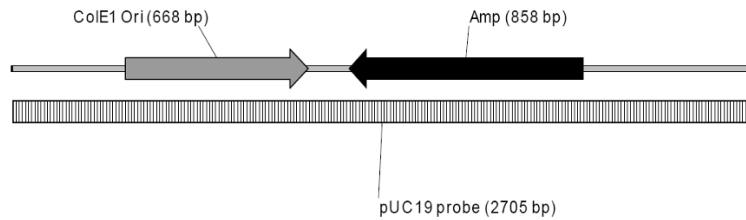


图 12 Southern 杂交中使用的 pUC19-特异探针

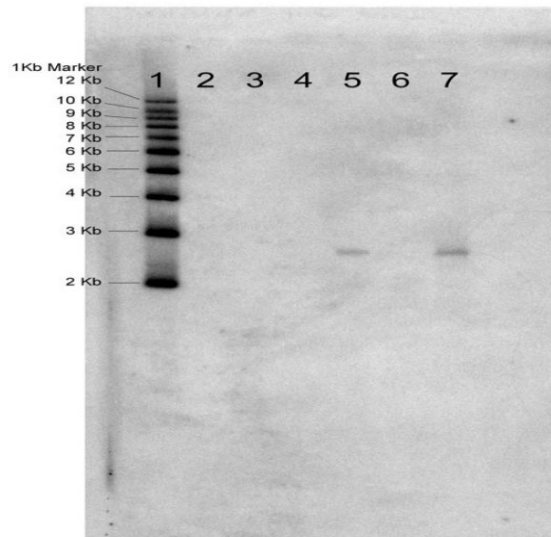


图 13 GA21 转化体中载体骨架序列的 Southern 杂交分析结果

玉米基因组 DNA (7.5  $\mu$ g) 用 *EcoRV* 限制性内切酶消化, 电泳后转移到 Nytran 膜上, 与 pUC19-特异性探针杂交。

泳道 1: 250pg 1 Kb 分子量标准(Stratagene, Cat. No. 201115);

泳道 2:空白;

泳道 3: GA21 回交 3 代 BC3;

泳道 4:非转基因对照;

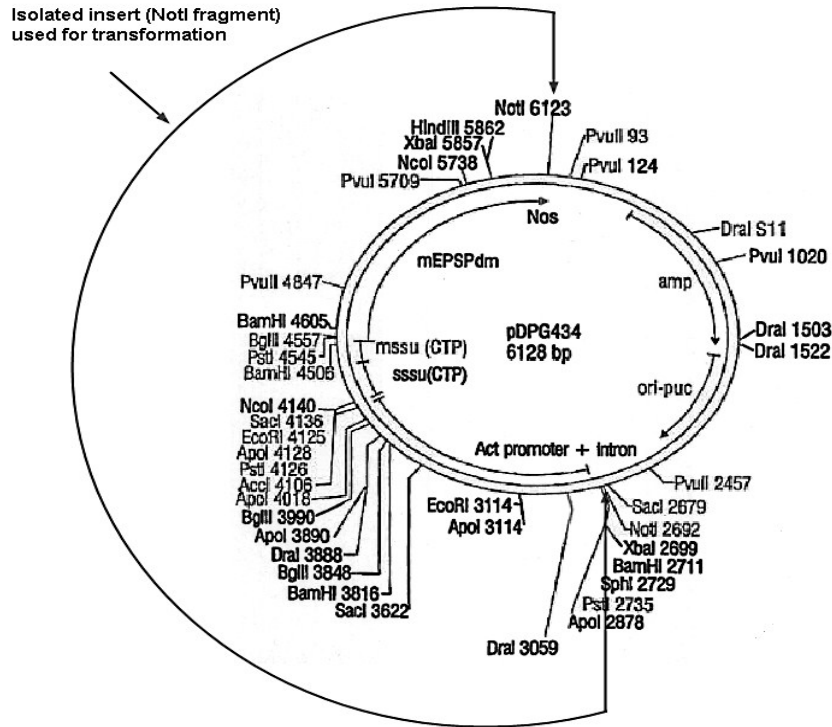
泳道 5:加入 2.0pg actin-, 2.8 pg *mepsps*-, 和 3.8 pg pUC19-特异探针的非转基因对照;

泳道 6:空白;

泳道 7: 2.0pg actin-, 2.8 pg *mepsps*-, 和 3.8 pg pUC19-特异探针

**5.2.3 目的基因与载体构建的图谱，载体的名称、来源、结构、特性和安全性，包括载体是否有致病性以及是否可能演变为有致病性。**

GA21 转化体所用的载体是 pDPG434，来源于农杆菌 Ti 质粒，大小为 6128 bp，目的基因与载体构建的物理图谱如下图 14，载体是安全的，不具有致病能力。



**图 14 pDPG434 质粒图谱以及用于 Southern 分析的限制酶酶切位点**

pDPG434 质粒包括肌动蛋白（actin）、OTP、mEPSPS 和 NOS。AMP 和 ColEI 是载体 pDPG434 质粒骨架的构成部分。各种元素简述如下：

表 3 GA21 中的 *NotI* 限制性内切酶功能元件

遗传元件	来源和功能
actin	水稻肌动蛋白 1 基因的 5' 端区域, 包含启动子、第一个外显子和第一个内含子 (McElroy <i>et al.</i> 1990)
OTP	N-端叶绿体转移肽 (CTP) 序列基于玉米和向日葵中 CTP 序列, 将改良的 5-烯醇丙酮酸莽草酸-3-磷酸合成酶 (mEPSPS) 蛋白定位于叶绿体 (LeBrun <i>et al.</i> , 1996)
mepsps	序列编码修饰过的玉米 mEPSPS 蛋白, 对草甘膦抗性 (Leburn <i>et al.</i> , 2003)
NOS	来自土壤农杆菌 T-DNA 的胭脂碱合成酶基因 3'端非翻译区, 终止转录并引导 mRNA 的多腺苷酸化 (Depicker <i>et al.</i> , 1982)

表 4 质粒 pDPG434 的骨架的主要功能元件

遗传元件	来源和功能
AMP	是来自大肠杆菌的抗氨苄基因 ( <i>bla</i> ), 含有该基因的细菌抗青霉素, 可用作细菌的选择标记 (Sutcliffe, 1978)
ColEI ori	来源于大肠杆菌质粒的复制 DNA 的起源复制起点 (Itoh and Tomizawa, 1978)

#### 5.2.4 载体中插入各片段的资料

##### 5.2.4.1 启动子和终止子的大小、功能及其供体生物的名称

**actin:** 是一个启动子, 来自水稻肌动蛋白 1 基因, 大小为 1.37 kb, 包括启动子、第一外显子和第一内含子。

**NOS:** 为终止子, 大小为 0.3 kb, 来自土壤农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) T-DNA 的胭脂碱合成酶基因 3'端非编码区, 该基因的出现导致转录的终止并指令 mRNA 多腺苷酸化。

##### 5.2.4.2 标记基因和报告基因的大小、功能及其供体生物的名称

无。

##### 5.2.4.3 其他表达调控序列的名称及其来源 (如人工合成或供体生物名称)

**OTP:** N-端叶绿体转移肽 (CTP) 序列基于玉米和向日葵中 CTP 序列, 将改良的 5-烯醇丙酮酸莽草酸-3-磷酸合成酶 (mEPSPS) 蛋白定位于叶绿体 (LeBrun *et al.*, 1996)

5.2.5 转基因方法

GA21 玉米是采用基因枪法转化方法获得的。用于转化 GA21 玉米的质粒是 pDPG434，其中含有经过修饰的 *mepsps* 基因、优化叶绿体转移肽和启动子。

5.2.6 插入序列表达的资料

5.2.6.1 插入序列表达的器官和组织，例如根、茎、叶、花、果实、种子等

用 ELISA 方法 (Tijssen, 1985) 检测了美国 2004 年田间试验 4 个杂交种 (两个转基因 GA21 杂交种, 115TT-189 和 47TT-593, 及其相应近等基因系非转基因对照, 115-083 和 47-673) 中各个发育时期的中 mEPSPS 蛋白的表达水平。

结果显示, 在所有生长期内, 测定的叶片、根和整株植物中 mEPSPS 蛋白的平均浓度范围在低于定量极限 (<0.2 µg/gfw) 到约为 15 µg/gfw (<0.4-71 µg/gdw)。籽粒中检测的 mEPSPS 蛋白的平均浓度范围在约为 4-7µg/gfw (5-10 µg/gdw), 花粉中平均值约为 168 µg/gfw。在两个杂交种间每种组织类型每个时间点上的 mEPSPS 蛋白浓度大体相同。

5.2.6.2 插入序列表达量及其分析方法

材料和方法

用于测定蛋白含量的植株来源

用于本研究的植株来源于 4 个玉米杂交种 (两个转基因 GA21 杂交种, 115TT-189 和 47TT-593, 及其相应近等基因系非转基因对照, 115-083 和 47-673), 这些杂交种由美国伊利诺伊州布鲁明顿市的先正达种子研究站于 2005 年根据当地常规田间管理措施种植。两个转基因杂交种在 V3-V4 生长期喷施 Touchdown®草甘膦除草剂 (按照标记的比例喷施), 近等基因系非转基因对照杂交种仅喷施传统除草剂。每个 GA21 杂交种的 10 个植株 (将 5 株植物按每个基因型分成各个部分, 剩余的 5 株植物保留整株样品。), 加上相应对照 2 个植株 (将一个对照植物按基因型分成各个部分, 另一个保留整株样品。), 分别在以下四个时期收获。

苗期	约播种后 6 周
花期 (含花粉)	约播种后 10-11 周
种子成熟期	约播种后 18-20 周
衰老期	约播种后 23-24 周

每个生育期样品 (包括叶片, 根, 籽粒和整个植株), 称重并储藏于 -80±10°C 条件下备用。

花粉来源

花期收集并整合来源同一基因型 (包括同一时间点收获的) 的多种植株的花粉, 经设备筛选、干燥过夜并冷冻贮藏于约 -80 °C 条件备用。分析前, 花粉再次通过 250 µm 分析筛筛选。

## 植物组织处理

根据标准操作流程 SOP 2.10, 将整株植物和各个组织（除去花粉）磨成粉末。样品充分混匀, 确保均质性。处理后的样品保存在约-80 °C 条件下, 直至冻干。每份样品干重百分比按照标准操作流程 SOP 2.11 确定。

## 组织提取

利用冻干后的玉米组织样品（除花粉外）根据标准操作流程 SOP 2.77 提取。在对各组织样品进行分析前, 先称取样品粉末约 0.25 g 放入 15 ml 的聚丙烯管, 加入 3 ml 的提取缓冲液 [50 mM HEPES 包含 10%的甘油、1%PVP-40、1 mM DTT、1m M EDTA、pH7.5 和纯蛋白酶抑制剂混合物（Roche Diagnostics Corp., Indianapolis, IN, USA）], 使样品悬浮其中。接着在约 4°C 10,000 x g 下离心 15 分钟, 将上层清液用于 mEPSPS 蛋白的 ELISA 分析。

花粉提取物按照 1: 30 (W/V) 比例悬浮于提取缓冲液中。将花粉悬浮液打散——以约 15,000 psi 的压强四次通过法式压力受感装置, 然后将悬浮液在约 4°C 10,000 x g 下离心 15 分钟, 上清液用于 mEPSPS 蛋白的 ELISA 分析。

## mEPSPS 蛋白定量方法

利用抗双突变水稻 EPSPS（Rice EPSPS Rb10 and Rice EPSPS Mab38, respectively）的多克隆兔抗体和单克隆鼠抗体（抗体均对 mEPSPS 蛋白和玉米内源 mEPSPS 蛋白产生免疫反应），根据 SOP2.76（涉及商业保密资料, 未予提供）运用 ELISA 方法定量分析按上述方法制备的提取物中的 mEPSPS 蛋白。近等基因系非转基因对照样品作为阴性对照。ELISA 的最低检测极限（LOD）基于 OD 值+2 标准偏差, 即标准曲线上纯 mEPSPS 蛋白的最低浓度。

## mEPSPS 蛋白提取效率

测定提取效率, 估计出利用常规方法提取 mEPSPS 蛋白相对含量。叶片, 根, 籽粒, 整株植物和花粉的冻干样品按照“植物提取”的方法提取。收集不溶物重新提取, 同时保留悬浮液。百分比提取效率计算如下,

$$\text{ng mEPSPS 蛋白/ml 第一次提取} \div (\text{ng mEPSPS 蛋白/ml 第一次提取} + \text{第二次提取} + \text{第三次提取}) \times 100$$

## 结果

GA21 玉米中, 玉米内源蛋白 EPSPS 表达的含量显著低于转基因蛋白 mEPSPS 的浓度（Graser, 2005）。虽然在 ELISA 中所使用的抗体可以检测出内源蛋白 EPSPS, 但在与定量相应的转基因样品中 mEPSPS 相同的分析稀释液中, 所有非转基因样品中 EPSPS 浓度<LOQ 或<LOD。因此, 研究中记录的 ELISA 值实际上是 mEPSPS 的浓度。



### 各个玉米生长时期的 mEPSPS 蛋白的浓度

所有检测的 GA21 玉米植物组织的 mEPSPS 蛋白定量浓度见表 5（鲜重）和表 6（干重）。对于花粉，每个基因型只有一个整合后的样品用于分析，因此不能计算平均值。各个组织类型中 mEPSPS 蛋白的 LODs 和 LOQs 值见表 7。

在 GA21 杂交种所有生育期中，叶片、根和整株植物测定的平均 mEPSPS 蛋白浓度范围分别为约  $<0.2 \mu\text{g/gfw}$ - $15 \mu\text{g/gfw}$  ( $<0.3$ - $70 \mu\text{g/gdw}$ )，约  $<2$ - $7 \mu\text{g/gfw}$  ( $<14$ - $44 \mu\text{g/gdw}$ )，和约  $3$ - $10 \mu\text{g/gfw}$  ( $8$ - $68 \mu\text{g/gdw}$ )。在种子成熟和衰老期测定的平均 mEPSPS 蛋白浓度范围分别为约  $4$ - $7 \mu\text{g/gfw}$  ( $5$ - $10 \mu\text{g/gdw}$ )。两个 GA21 杂交种的花粉的 mEPSPS 蛋白浓度（风干过夜）平均约  $168 \mu\text{g/gfw}$ 。在两个杂交种间每种组织类型每个时间点上的 mEPSPS 蛋白浓度大体相同。

表 5 GA21 植株鲜重的 mEPSPS 蛋白浓度

		发育阶段			
组织	种质 <sup>1</sup>	苗期	开花期	种子成熟期	衰老期
		平均每克鲜重中 mEPSPS 含量 μg/g ± S.D. <sup>2</sup> (范围)			
叶片	115TT-189	11.98±1.70 (10.44-14.53)	14.94±2.42 (12.36-17.57)	<0.46 (<LOQ-0.87)	<0.24 <sup>N=4</sup> (<LOQ)
	47TT-593	10.44±1.75 (8.63-13.22)	12.73±2.07 (9.92-15.47)	<0.29 (<LOQ-0.41)	<0.24 (<LOQ)
根	115TT-189	6.71±1.11 (5.57-8.44)	6.72±0.65 (6.07-7.71)	3.05±1.22 (2.20-5.15)	2.21±1.99 (0.81-5.66)
	47TT-593	5.98±1.01 (5.33-7.76)	5.73±1.63 (3.71-7.16)	3.61±1.66 (1.50-5.11)	<2.36 (<LOQ-4.04)
籽粒	115TT-189	N/A <sup>3</sup>	N/A	6.61±1.35 (4.93-8.60)	7.40±1.09 (5.86-8.65)
	47TT-593	N/A	N/A	7.01±1.43 (5.37-8.54)	3.87±1.09 (2.53-5.39)
花粉 <sup>4</sup>	115TT-189	N/A	158.37	N/A	N/A
	47TT-593	N/A	177.91	N/A	N/A
整株	115TT-189	7.20±1.12 (6.19-9.03)	9.60±0.89 (8.51-10.48)	5.31±0.71 (4.34-6.33)	5.17±1.89 (3.49-7.48)
	47TT-593	7.07±0.77 (6.12-8.08)	7.70±1.06 (6.52-8.77)	3.36±0.44 (2.94-4.09)	4.96±0.98 (3.21-5.47)

1. 与定量相应的转基因样品中 mEPSPS 相同的分析稀释液中，所有非转基因样品中 EPSPS 浓度<LOQ 或<LOD 未包括在本表。
2. 除非有特殊说明，否则 N=5。由 ELISA 确定的值没有按照提取效率进行修正。计算平均值时，平均值前面的“<”表明估计的 LOQ 用于代表一个或多个样品。
3. N/A=不适用（不分析此生长阶段的组织类型）。
4. 收到的一份混合过的样品（风干过夜）。

表 6 GA21 植株干重的 mEPSPS 蛋白浓度

组织*	种质 <sup>1</sup>	发育阶段			
		苗期	开花期	种子成熟期	衰老期
		平均值: $\mu\text{g mEPSPS/g 干重} \pm \text{S.D.}^2$ (范围)			
叶片	115TT-189	70.41 $\pm$ 10.01 (58.03-80.53)	70.94 $\pm$ 11.22 (58.37-81.93)	<1.02 (<LOQ-2.29)	<0.30 N=4 (<LOQ)
	47TT-593	57.48 $\pm$ 9.71 (47.89-72.42)	56.96 $\pm$ 9.91 (43.68-69.95)	<0.56 (<LOQ-0.72)	<0.30 (<LOQ)
根	115TT-189	43.83 $\pm$ 4.56 (39.22-50.30)	43.00 $\pm$ 4.50 (35.65-46.50)	17.19 $\pm$ 7.19 (11.72-28.93)	12.44 $\pm$ 10.40 (4.47-30.44)
	47TT-593	35.89 $\pm$ 3.69 (30.54-40.16)	36.30 $\pm$ 6.46 (30.65-44.16)	18.26 $\pm$ 8.41 (8.60-26.27)	<13.95 (<LOQ-22.54)
籽粒	115TT-189	N/A <sup>3</sup>	N/A	9.54 $\pm$ 2.05 (7.25-12.39)	9.50 $\pm$ 1.41 (7.36-10.92)
	47TT-593	N/A	N/A	10.23 $\pm$ 1.89 (7.82-12.25)	4.80 $\pm$ 1.33 (3.25-6.65)
整株	115TT-189	67.71 $\pm$ 14.66 (52.66-92.26)	63.23 $\pm$ 7.69 (54.47-75.39)	13.38 $\pm$ 2.32 (10.49-16.39)	9.50 $\pm$ 1.41 (7.36-10.92)
	47TT-593	62.33 $\pm$ 6.38 (54.18-71.63)	47.74 $\pm$ 6.79 (39.23-55.10)	8.08 $\pm$ 2.60 (5.48-12.24)	9.17 $\pm$ 2.40 (7.07-13.12)

1. 与定量相应的转基因样品中 mEPSPS 相同的分析稀释液中, 所有非转基因样品中 EPSPS 浓度<LOQ 或<LOD 未包括在本表。
  2. 除非有特殊说明, 否则 N=5。由 ELISA 确定的值没有按照提取效率进行修正。计算平均值时, 平均值前面的“<”表明估计的 LOQ 用于代表一个或多个样品。
  3. N/A=不适用 (不分析此生长阶段的组织类型)。
- \* 分析收到的花粉, 如, 不是基于干重分析 (见表 5 数据)。

表 7 GA21 中各个组织类型 mEPSPS 蛋白的定量极限 (LOQ) 和检测极限 (LOD)

组织	发育阶段			
	苗期	开花期	种子成熟期	衰老期
	定量限 μg mEPSPS/g 鲜重 (μg mEPSPS/g 干重)			
叶片	2.37 (13.09)	2.37 (10.97)	0.24 (0.47)	0.24 (0.30)
根	3.19 (20.73)	1.20 (7.43)	1.34 (7.66)	0.62 (3.91)
籽粒	N/A <sup>1</sup>	N/A	N/A	N/A
花粉	N/A	4.26 (ND <sup>2</sup> )	N/A	N/A
整株	3.01 (28.58)	3.17 (19.75)	2.17 (6.65)	1.46 (3.72)
	检测限 μg mEPSPS/g 鲜重 (μg mEPSPS/g 干重)			
叶片	0.55 (3.05)	0.51 (2.38)	0.05 (0.10)	0.05 (0.07)
根	0.50 (3.24)	0.26 (1.62)	0.25 (1.43)	0.14 (0.88)
籽粒	N/A <sup>1</sup>	N/A	0.37 (0.53)	0.54 (0.69)
花粉	N/A	0.81 (ND <sup>2</sup> )	N/A	N/A
整株	0.52 (5.06)	0.59 (3.64)	0.50 (1.54)	0.28 (0.69)

1. N/A=不适用 (不分析此生长阶段的组织类型)。

2. ND=不检测。分析收到的花粉 (风干过夜)。不检测干重值。

### 5.2.6.3 插入序列表达的稳定性的稳定性

按照 5.2.6.2 节描述的 ELISA 方法，检测全部 3 个 GA21 回交世代在 V7-V8 时期叶片组织 mEPSPS 蛋白。结果为 5 个重复组织样品的平均值。在所有回交世代和基因型中，平均 mEPSPS 蛋白浓度为约 13-14  $\mu\text{g/gfw}$  (82-96  $\mu\text{g/gdw}$ ) (表 8)。总之，所分析的 3 个世代间浓度没有显著性差异，结果表明 mEPSPS 蛋白在 GA21 玉米多代间能稳定表达。

表 8 GA21 转基因玉米三个回交世代叶片 mEPSPS 蛋白含量

回交世代*	平均值 $\mu\text{g mEPSPS/gdw} \pm \text{S.D.}$ (范围)	平均值 $\mu\text{g mEPSPS/gfw} \pm \text{S.D.}$ (范围)
BC1	$12.61 \pm 1.86$ (9.61—13.92)	$82.25 \pm 11.34$ (71.91—95.37)
BC2	$13.60 \pm 2.84$ (10.49—17.15)	$95.71 \pm 20.65$ (71.66—120.76)
BC3	$13.10 \pm 1.19$ (11.76—14.46)	$83.93 \pm 6.67$ (76.64—92.91)

注：N=5. mEPSPS 蛋白含量值由 ELISA 确定，未用提取系数校正 (76.64—92.91)。

\*在相同的测定条件下，负对照的 EPSPS 含量小于 LOD (0.73  $\mu\text{g/gfw}$ ; 4.94  $\mu\text{g/gdw}$ )。

### 5.2.7 根据上述评价，参照本办法第十二条有关标准划分基因操作的安全类型。

综上所述，通过一系列的插入序列及其表达的分析，导入 GA21 玉米的 *mepsps* 基因并没有增加受体植物的危险性，因此这种基因操作属于类型 2。

## 5.3 转基因植物安全性评价

### 5.3.1 转基因植物的遗传稳定性

#### 插入片段稳定性的 Southern 杂交分析

利用 Southern 杂交检测了 GA21 玉米插入片段的遗传稳定性。DNA 实验材料取自 GA21 的 3 个回交世代（BC1、BC2 和 BC3），每个世代取 10 个单株的叶片混合，提取 DNA，用限制性内切酶 *Hind*III 酶切，然后与 *mepsps* 特异探针杂交。结果显示 *mepsps* 基因在 GA21 的 3 个回交世代均有表达，表明插入序列在各世代间是稳定遗传的（图 15）。

3.4 kb、4.7 kb 和 6.7 kb 的杂交条带出现在对 GA21 各世代 DNA 的杂交结果中（泳道 3-5）。其余的 5.9 kb 和大于 12.0 kb 的条带来自玉米内源 *epsps* 基因，因为该内源杂交条带在 GA21 玉米和非转基因对照中都存在（泳道 6 和泳道 7）。

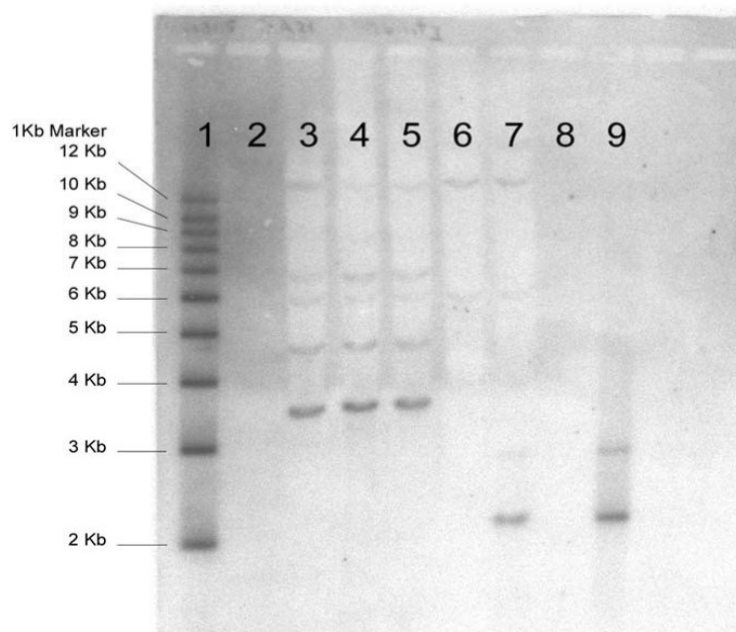


图 15 GA21 玉米世代遗传稳定性的 Southern 杂交结果

玉米基因组 DNA（7.5μg）采用限制性内切酶 *Hind*III 酶切，并用 *mepsps* 特异性探针 Southern 杂交分析。

泳道 1: 分子量标准（1Kb MW marker; Stratagene, catalog number 201115);

泳道 2: 空白对照;

泳道 3: BC1 GA21;

泳道 4: BC2 GA21;

泳道 5: BC3 GA21;

泳道 6: 非转基因对照;

泳道 7: 非转基因对照加入 2.0 pg actin, 2.8 pg *mepsps* 和 3.8 pg pUC19 特异性探针;

泳道 8: 空白对照;

泳道 9: 2.0 pg actin、2.8 pg *mepsps* 和 3.8 pg pUC19 特异性探针。

### 插入片段在不同世代分离比

对不同世代 GA21 玉米的抗除草剂表型数据与预期基因型分离比（1：1）进行了  $\chi^2$  测验，评价所观察到的基因型比率与预期基因型比率间的符合程度（Strickberger, 1976）。

$$\chi^2 = \sum \frac{[\text{观察值} - \text{期望值} - 0.5]^2}{\text{期望值}}$$

假设除草剂抗性性状是按孟德尔方式分离。如果  $\chi^2$  值在 5%水平下  $\geq 3.84$  则假设不成立（Strickberger, 1976）。由于所有的检测世代  $\chi^2$  值都小于 3.84，说明除草剂耐受性以孟德尔方式分离，且分离比为 1:1。

结果表明，所有检测世代的 GA21 玉米除草剂抗性的分离符合预期的 1：1 孟德尔分离比，进一步证明 GA21 玉米中插入序列是稳定遗传的（表 9）。

表 9 不同世代 GA21 转基因玉米对除草剂表型反应的观察值（O）与期望值（E）

	BC1		BC2		BC3	
	O*	E*	O*	E*	O*	E*
抗草甘膦	105	105	361	345.5	34	32
不抗草甘膦	105	105	330	345.5	30	32
总计	210	210	691	691	64	64
$\chi^2$ 值	0.005		1.302		0.141	

### 5.3.2 转基因植物与受体或亲本植物在环境安全性方面的差异

2005 年先正达公司在美国 10 个玉米种植带进行了产量和农艺性状的田间试验。对其中 4 个种植带的早熟 GA21 杂交种（P2672GT21/NP2171）及其近等基因系对照（NP2672/NP2171）；6 个地点中熟 GA21 杂交种（NP2673GT21/NP2391）及其近等基因系对照（NP2673/NP2391）进行了评估。分别测定了 20 种农艺性状和 3 个病害（见表 10）。对部分数据进行了方差分析，结果见表 11，结果表明，GA21 玉米在产量和检测到的农艺性状上与对照没有显著差异。部分数据不适于进行方差分析列于表 13，结果表明，虽然 GA21 玉米在有些农艺性状上的平均值与对照有差异，但这些差异是不连续的，不能说明 GA21 玉米和非转基因对照存在农艺性状差异。总之，GA21 玉米表现出的转基因性状不会改变杂交种所固有的农艺性状。

表 10 田间试验被评估品系的定义和列表

性状缩写		农艺性状
性状缩写		描述
不孕株率	BRRNP	每个小区中不能产生玉米穗的蜘蛛百分率。
玉米穗降低率	DROPP	收获前每小区发育的玉米穗降低的植株百分率。
出苗数	EMRGN	种植后 14 天每小区记录的出苗数
早期生长	ERGRR	在 V6 期记录的早期生长速率。
穗位高度	ERHTN	在玉米发育的 R2 至 R6 阶段，从植物基部到穗位结节处的高度（cm）。
早期根倒伏	ERTLP	开花前，每小区中与垂直相比根部倾斜大于 30 度的植株百分率
籽粒含水量	GMSTP	收获时玉米籽粒含水量（%）。
茎倒伏率	GRSNP	开花前，因为不良的环境条件如强风而导致折断的植株百分率。
50%植株抽丝所需的热量单位	HU5SN	50%植株抽丝所需的热量单位
50%植株散粉所需的热量单位	HUPSN	50%植株散粉所需的热量单位
晚期完整性	INTLR	晚期玉米穗位以上植株完整性的分级。1 表示收获时所有植株完整，9 表示收获前 100%的植株在穗节处折断
叶色分级	LFCLR	对 R4 到 R6 阶段的叶片颜色进行分级。5 表示与对照相同，1 表示叶色更暗，9 表示严重枯黄。
后期根倒伏	LRTLTP	开花后，每小区中与垂直相比根部倾斜大于 30 度的植株百分率
株高	PLHTN	玉米发育的 R2 至 R6 阶段，从植株基部到旗叶顶部的植株高度（cm）。
推拉测试	PSTSN	将植株推至 45 度倾斜后，10 株植物中秸秆折断或根部脱离的植株数。
保绿百分率	STGRP	收获时保持绿色植株的百分比
秸秆折断百分率	STKLP	收获时每个小区中玉米穗位以下折断的植株百分率
测试重量	TWSMN	在 15.5%的含水量标准基础上折算的玉米粒测试重量（磅/蒲式尔）
籽粒产量	YGSMN	在 15.5%的含水量标准基础上折算的玉米粒产量（蒲式尔/英亩）。
灰斑病	GRLSR	在两行小区内植株抗灰斑病的情况分级，为 1-9 级（1 表示无发病，9 表示植株完全发病）
玉米大斑病	NCLMR	在两行小区内植株抗玉米大斑病的情况分级，为 1-9 级（1 表示无发病，9 表示植株完全发病）
玉米小斑病	SCLBR	在两行小区内植株抗玉米大斑病的情况分级，为 1-9 级（1 表示无发病，9 表示植株完全发病）



表 11 杂交种×基因型各性状的平均数方差分析

试验	基因型	性状						
		籽粒产量	籽粒含水量	测试重量	出苗率	收获植株总数	穗位高度	株高
MG857	GA21	173.63	18.99	54.14	64.50	31581.69	105.50	238.25
	对照	177.63	18.78	53.72	65.63	32484.02	101.42	232.25
	差异	-4.00	0.22	0.42	-1.13	-902.33	4.08	6.00
概率>F 值		24.90%	6.62%	48.81%	57.00%	30.14%	42.00%	10.00%
试验地点数量		4	4	4	4	4	3	3

试验	基因型	性状						
		籽粒产量	籽粒含水量	测试重量	出苗率	收获植株总数	穗位高度	株高
MG877	GA21	159.95	17.43	55.82	62.92	30409.69	89.61	211.01
	对照	161.68	17.85	56.75	62.67	30658.61	84.51	207.35
	差异	-1.73	-0.42	-0.92	0.25	-248.92	5.10	3.67
概率>F 值		72.94%	15.28%	1.01%	83.98%	57.39%	29.78%	28.58%
试验地点数量		6	6	6	6	6	6	6

表 12 杂交种×基因型产量平均产量（蒲式尔/英亩，15%水分）

Site (City,State)	MG857			MG877		
	GA21	对照	差异	GA21	对照	差异
Brookings, SD	199.2	207.8	-8.6			
Faribault, MN	201.2	198.1	3.2			
Northfield, MN	165.8	168.0	-2.2			
Janesville, WI	128.3	136.6	-8.3			
Alleman, IA				150.9	135.8	15.0
Seward, NE				156.4	151.6	4.9
Hudson, IL				155.0	169.3	-14.2
Bloomington, IL				159.9	169.6	-9.7
Wapella, IL				183.7	179.1	4.6
Mackinaw, IL				153.8	164.8	-11.0
基因型平均值	173.6	177.6	-4.0	159.9	161.7	-1.7

表 13 基因型×杂交种未参与方差分析的性状的平均值

性状	MG857				MG877			
	试验地点数量	GA21	对照	差异	试验地点数量	GA21	对照	差异
不孕株率	3	1	0	1	6	0	0	0
玉米穗降低百分率	1	0	0	0	2	0	0	0
早期生长	2	5.9	5.5	0.4	5	5.2	5.1	0.1
早期根倒伏	1	3	3	0	ND*	ND	ND	ND
茎倒伏率	ND	ND	ND	ND	1	0	0	0
50%植株抽丝所需的热量单位	4	1316	1320	-4	6	1444	1428	16
50%植株散粉所需的热量单位	4	1307	1302	5	6	1391	1376	15
晚期完整性	4	2.4	2.7	-0.3	4	5.1	4.5	0.6
叶色分级	3	5.3	5.3	0	5	5	5	0
晚期根倒伏	1	0	0	0	6	2	1	1
推拉测试	1	2	4	-2	ND	ND	ND	ND
秸秆折断率	4	2.3	1.6	0.7	6	2.3	1.8	0.5
灰色叶斑病	2	1.2	1.4	-0.2	4	4.2	5.6	-1.4
玉米大斑病	1	1.3	1	0.3	ND	ND	ND	ND
玉米小斑病	1	1	1	0	ND	ND	ND	ND

\*ND=不收集数据

### 5.3.2.1 生殖方式和生殖率

通过 2005 年美国 10 个地点的田间农艺性状调查分析表明，在籽粒产量（YGSMN）、出苗率（EMRGN）、收获植株数（HAVPN）等方面 GA21 玉米与对照无显著差异。由此说明 GA21 玉米表现出的转基因性状不会改变杂交种所固有的农艺性状，即两者在生殖方式和生殖率上没有差异。

### 5.3.2.2 传播方式和传播能力

通过 2005 年美国 10 个地点的田间农艺性状调查分析表明，GA21 玉米与非转基因对照在产量和农艺性状上无显著差异，由此说明 GA21 玉米表现出的转基因性状不会改变杂交种所固有的农艺性状，由此推测两者在传播方式和传播能力方面没有差异。

### 5.3.2.3 休眠期

GA21 玉米基因转化的目的是加强玉米的除草剂耐受性，而不是改变其休眠特性。通过对 2005 年美国 10 个地点的农艺性状的数据观察，在出苗率（EMRGN）等

农艺性状指标上均与非转基因对照无显著差异，由此可判断 GA21 玉米与非转基因对照在玉米休眠性上没有差别。

#### **5.3.2.4 适应性**

GA21 玉米基因转化的目的是加强玉米对除草剂耐受性，没证据表明转基因后改变其适应性。农艺性状观察试验表明 GA21 玉米与非转基因对照导入在玉米适应性上没有差别。

#### **5.3.2.5 生存竞争能力**

美国 2005 年田间试验得到的数据显示，GA21 玉米及其非转基因对照在产量和农艺性状上均无显著差异，由此说明 GA21 玉米表现出的转基因性状不会改变杂交种所固有的农艺性状。

另外，按照农业部要求，分别在 2002-2003 年山东省农科院和吉林省农科院进行了 GA21 玉米生存竞争能力检测。主要结果如下，

##### **荒地条件下生存竞争能力比较**

在荒地进行表面撒播的播种方式下，GA21 及其非转基因对照玉米均未出苗，或出苗率均很低（10%以下）。表明转基因玉米 GA21 同普通玉米一样，即使籽粒由于各种原因撒落在地表面，由于出苗率很低甚至不出苗，所以难同杂草一样发育成正常个体。在 5cm 深播情况下，GA21 及其非转基因对照种子均具有 85%以上的出苗率，GA21 及其非转基因对照玉米在长势、株型、生育期等方面无差异。对荒地所生杂草地面覆盖率研究表明，GA21 和非转基因对照区的杂草和玉米的总覆盖率不存在显著差异，表明二者与杂草之间的相互作用是相同的，并没有因基因的插入而改变。

##### **栽培地条件下的生存竞争能力检测**

GA21 与非转基因对照，在心叶初期、抽雄期和吐丝期两者的株高、及后期产量和籽粒发芽率上不存在显著差异。比较 GA21 与非转基因对照的田间杂草株高表明，两者在杂草的株高上没有显著差异。

##### **自生苗检测**

山东省农科院植保所在 2003 年 5 月、6 月对 2002 年的荒地试验区进行了越冬后自生苗调查，结果表明在 GA21 和非转基因玉米对照区越冬后的自生苗数没有差异。

上述国内外试验结果均论证了 GA21 玉米与对照在生存竞争能力上等同。

#### **5.3.2.6 转基因植物的遗传物质向其他植物、动物和微生物发生转移的可能性**

玉米花粉直径较大（0.1 mm），传播距离很近，绝大多数花粉散落在周围 60 米范围内（Raynor et al. 1972; Luna et al. 2001; Burris, 2002）。在自然条件下，玉米花粉存活时间较短（一般小于 60 分钟）。这两个原因排除了花粉长途传播导致杂交授粉的可能性。目前还没有证据表明玉米的遗传物质能够与动物和微生物交换。因此，转基因玉米的遗传物质向其他植物、动物和微生物发生转移的可能性极小。另一方面，由于我国不存在与玉米亲缘关系很近的植物，因此转基因玉米目的基因向也不大可能

向其它植物转移。因此，GA21 玉米的外源基因向其他植物、动物和微生物发生转移的可能性极低。

#### 5.3.2.7 转变成杂草的可能性

栽培玉米是人类高度驯化的作物，不能作为一种杂草存活，也不能在未垦的地上繁育。从玉米穗结构来看，与杂草植物相反，玉米穗被苞叶所包裹，这种结构导致玉米在自然界很难发生单个籽粒的扩散现象。然而，即使有玉米籽粒在田间或路上撒落，也不能在栏杆、水沟和路边找到玉米自生苗(Hallauer，1997)。因此，GA21 玉米引入的抗除草剂性状不会增加其转变为杂草的危险性。

国内对 GA21 玉米的生存竞争力检测结果表明，转基因玉米品种 GA21 与其对照非转基因品种在荒地杂草的生存竞争中及在栽培地株高、产量和发芽率等方面的表现均没有显著差异，因此抗除草剂基因的转入并没有增强受体原来的生存竞争能力，也不会增加其杂草化趋势。

#### 5.3.2.8 抗病虫转基因植物对靶标生物及非靶标生物的影响，包括对环境有益和有害生物的影响

GA21 玉米转入的性状为抗草甘膦类除草剂，对昆虫的抗性评价并不适用。但按照农业部的统一要求，分别对 GA21 的生物多样性进行了研究，其中也包含了对玉米常见害虫和天敌多样性的评估，结果表明，由于 GA21 为耐除草剂性状，因此对亚洲玉米螟没有抗性，同非转基因对照品种在蛀孔数量、幼虫存活数量和越冬幼虫数量上没有显著差异。对天敌种群数量检测表明，GA21 对天敌总量、捕食性天敌（如瓢虫、小花蜡、蜘蛛和草蛉）的种群数量的影响同非转基因对照相比没有显著差异。与非转基因对照玉米相比，没有影响田间害虫玉米蚜的田间种群变化动态。与对照相比在田间节肢动物物种丰富度和生物多样性指数上没有显著差别，说明转基因玉米对玉米田间节肢动物多样性无明显影响。

#### 5.3.2.9 对生态环境的其他有益或有害作用

根据上述国内外实验数据证明，GA21 玉米在农艺性状、生存竞争能力、对生物多样性的影响等均与非转基因对照玉米无显著差异，可以推断 GA21 玉米不会对生态环境造成不利影响。同时，GA21 玉米引入了抗除草剂的性状，节约了劳动力，并为大规模机械化生产带来了便利条件。

### 5.3.3 转基因植物与受体或亲本植物在对人类健康影响方面的差异。

#### 5.3.3.1 毒性

GA21 中导入了 *mepsps* 基因，在转基因玉米中产生新的表达蛋白 mEPSPS 蛋白。本节提供 GA21 中 mEPSPS 蛋白的毒理学评价的相关数据和信息，主要包括体外表达蛋白质与植物中表达蛋白质的等同性分析、急性口服毒性试验、热稳定性试验、体外模拟胃液消化稳定性试验、与已知毒素蛋白氨基酸序列相似性比较、国内检测机构进行的 90 天大鼠喂养试验。

## 体外表达和植物中表达蛋白的等同性分析

重组大肠杆菌中（测试物编号 GA21-0104）表达的双突变 5-烯醇丙酮酸莽草酸-3-磷酸合成酶（mEPSPS）与转基因 GA21 玉米产生的 mEPSPS 蛋白（测试物编号 LPGA21-0105, LPGA21-0205 和 IAPGA21-0105）在生化参数方面（酶活性、分子量的确定和免疫反应活性、N-端氨基酸序列和糖基化分析）进行了比较。

结果表明，微生物和植物来源的 mEPSPS 蛋白测试物预期分子量约为 47.4kDa，与抗-mEPSPS 蛋白抗体均能产生免疫交互作用；拥有同样的 N-端氨基酸序列。并且，两种来源的 mEPSPS 蛋白均有特异性酶活性，均未发现糖基化现象。基于以上研究的生化参数证据，表明来源于大肠杆菌和 GA21 产生的 mEPSPS 蛋白具有实质等同性。具体结果详见附件 10.1 节报告原文。

## 急性口服毒性试验

分别给两组小鼠（5 雄 5 雌）口服 0（对照）或 2000 mg mEPSPS 蛋白/kg 体重（来源于 GA21-0104 测试物），以 0.5% w/v 水溶性羧甲基纤维素作为对照物和溶剂。研究过程中进行临床观察、称重和摄食量记录，并在第 15 天进行病理学分析后尸检。

试验结果表明，未发现有疾病或感染的症状。所有的雌性和雄性小鼠在临床表现、体重、摄食量、临床病理、器官重量、宏观或显微病理方面不存在和服用 2000 mg mEPSPS 蛋白/kg 体重有关的效应。具体结果详见附件 10.2 节报告原文。

## 热稳定性

将试验物质 GA21-0104 在各种温度条件（25、37、65 和 95℃）下分别保持 30 分钟，之后测定特异性酶活性，研究温度对 mEPSPS 蛋白的影响。

结果表明，试验物质 GA21-0104 所含的 mEPSPS 蛋白在 25 和 37℃下处理 30 分钟后，酶活性有少量或未受到影响。在 65℃和更高温度下处理 30 分钟后，mEPSPS 酶活性完全丧失。虽然 mEPSPS 蛋白在 37℃下（包含 37℃）培养 30 分钟是稳定的，但在 65℃和更高温度下会失去稳定性（表 14）。具体结果详见附件 10.3 节报告原文。

表 14 温度对 mEPSPS 酶活性的影响

温度（℃）	特异性酶活（U/mg mEPSPS）	活性（%）
对照	3928.71	100
25	4680.65	118.8
37	4538.71	115.2
65	0.00	0.0
95	0.00	0.0

一个单位[U]mEPSPS 蛋白活性定义为，一分钟内生成 1 nmol 磷酸盐所需要的 mEPSPS 蛋白的量。

## 体外模拟胃液消化稳定性试验

应用 SDS-PAGE 和 Western 蛋白印迹的方法对来自 GA21 玉米（被测物质 IAPGA21-0105）和微生物的（GA21-0104 测试物）的 mEPSPS 蛋白在含胃蛋白酶的模拟哺乳动物胃液（SGF）的降解情况进行了评估。

结果表明，来自 GA21 玉米和重组大肠杆菌（*E.coli*）的 mEPSPS 蛋白在 SGF 环境下都非常容易降解。这两种来源的 mEPSPS 蛋白在 SGF 环境下消化 1 分钟后，通过 SDS-PAGE 和 Western 杂交分析评价，未检测出任何完整的 mEPSPS（分子质量约为 47.5 kDa）。在 SGF 环境下反应 5 分钟后，未检测到任何具有免疫反应活性的 mEPSPS 蛋白质片段（图 16-19）。结果表明，在 GA21 玉米中表达的 mEPSPS 蛋白在一般的哺乳动物胃环境下非常容易消化。具体结果参见附件 10.4 节报告原文。

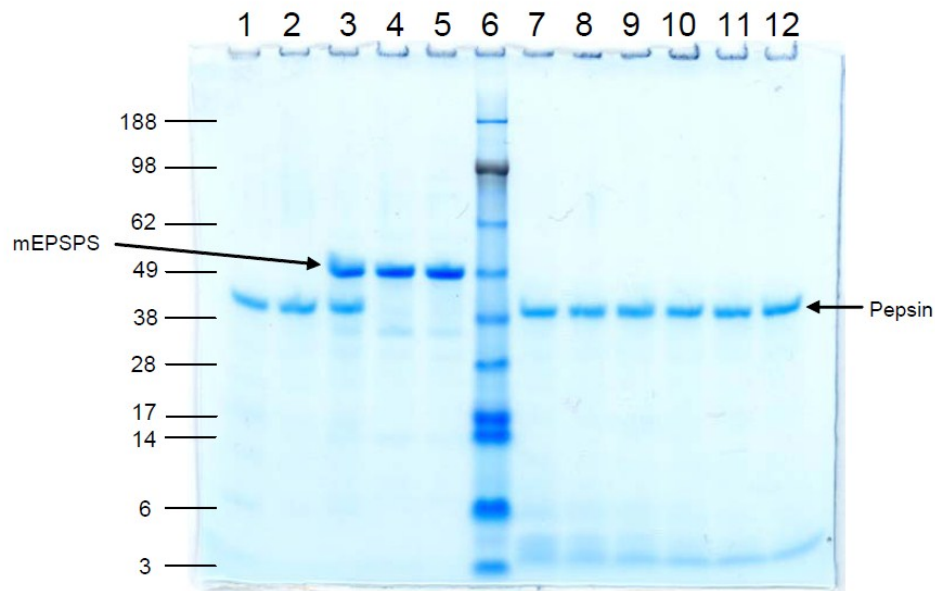


图 16 SDS-PAGE 分析大肠杆菌源 mEPSPS（被测物质 GA21-0104）的体外消化能力

采用 GelCode Blue 染色的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶，

第 1 和第 2 泳道：分别在 0 和 60 分钟时采集的在 37°C 条件下反应的 SGF 样品；

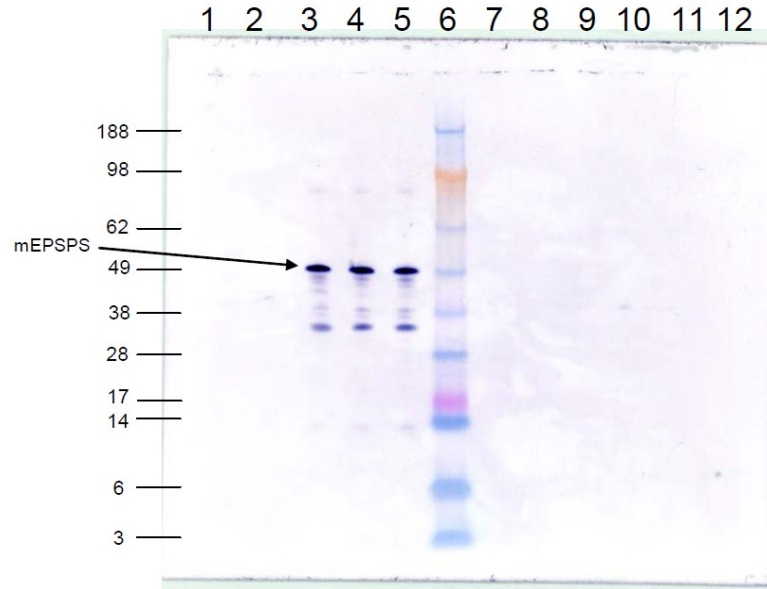
第 3、7、8、9、10、11 和第 12 泳道：分别在 0、1、2、5、10、30 和 60 分钟时采集的在 SGF 中（37°C 条件下）反应的 mEPSPS 样品；

第 4 和第 5 泳道：分别在 0 和 60 分钟时采集的在 G-con 中（37°C 条件下）反应的 mEPSPS 样品；

第 6 泳道：分子质量标准（SeeBlue®Plus2, Invitrogen），分子质量的单位是 kDa。

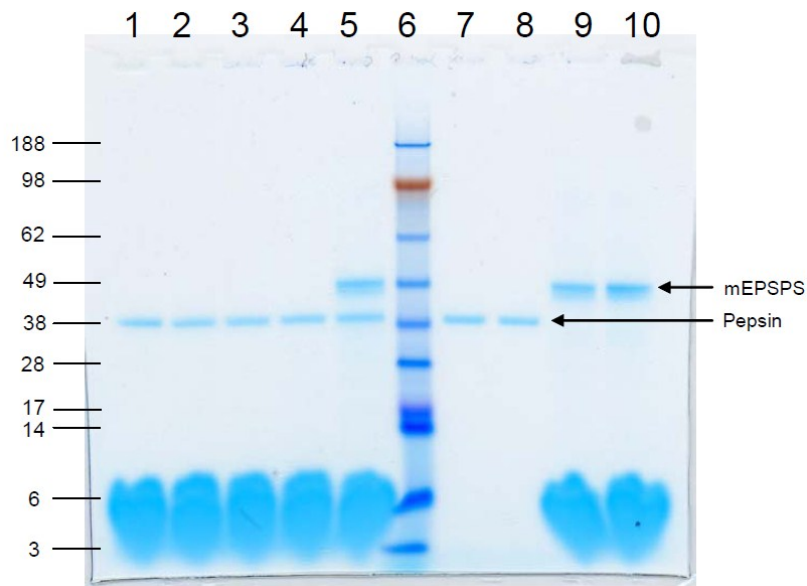
SGF 代表模拟的胃液环境；G-con 代表不含胃蛋白酶的 SGF。

mEPSPS 的分子质量约为 47.4 kDa。



**图 17 Western Blot 分析大肠杆菌源 mEPSPS（被测物质 GA21-0104）的体外消化能力**

第 1 和第 2 泳道：分别在 0 和 60 分钟时采集的在 37°C 条件下反应的 SGF 样品；  
 第 3、7、8、9、10、11 和第 12 泳道：分别在 0、1、2、5、10、30 和 60 分钟时采集的在 SGF 中（37°C 条件下）反应的 mEPSPS 样品；  
 第 4 和第 5 泳道：分别在 0 和 60 分钟时采集的在 G-con 中（37°C 条件下）反应的 mEPSPS 样品；  
 第 6 泳道：分子质量标准（SeeBlue®Plus2, Invitrogen），分子质量的单位是 kDa。  
 SGF 代表模拟的胃液环境；G-con 代表不含胃蛋白酶的 SGF。  
 mEPSPS 的分子质量约为 47.4 kDa。



**图 18 SDS-PAGE 分析玉米源 mEPSPS（被测物质 IAPGA21-0105）的体外消化能力**

采用 GelCode Blue 染色的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶。

第 1 至第 5 泳道：分别在 0、1、5、10、和 30 分钟时采集的在 SGF 中（37°C 条件下）反应的 mEPSPS 样品；

第 6 泳道：分子质量标准（SeeBlue®Plus2, Invitrogen），分子质量的单位是 kDa；

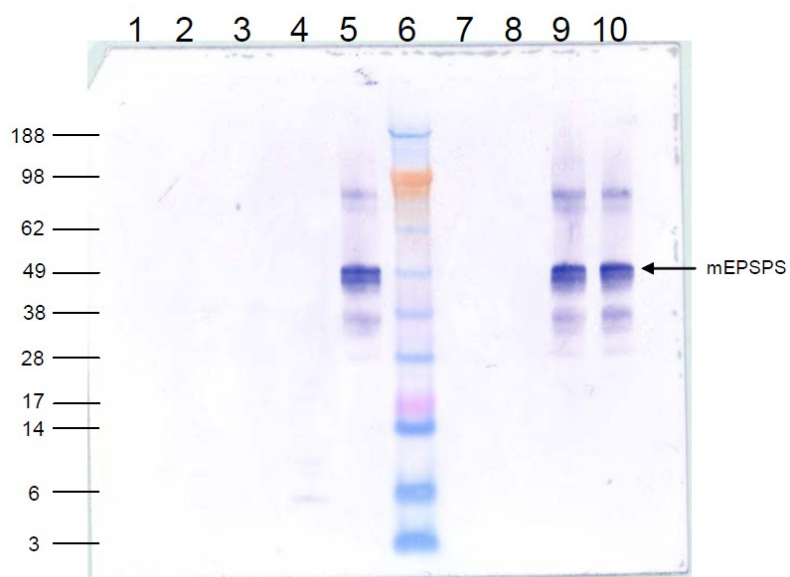
第 7 和第 8 泳道：分别在 0 和 60 分钟时采集的在 37°C 条件下反应的 SGF 样品；

第 9 和第 10 泳道：分别在 0 和 60 分钟时采集的在 G-con 中（37°C 条件下）反应的 mEPSPS 样品。

SGF 代表模拟的胃液环境；G-con 代表不含胃蛋白酶的 SGF。

mEPSPS 的分子质量约为 47.4 kDa。





**图 19 Western Blot 分析玉米源 mEPSPS（被测物质 IAPGA21-0105）的体外消化能力**

第 1 至第 5 泳道：分别在 0、1、5、10、和 30 分钟时采集的在 SGF 中（37°C 条件下）反应的 mEPSPS 样品；

第 6 泳道：分子质量标准（SeeBlue®Plus2, Invitrogen），分子质量的单位是 kDa；

第 7 和第 8 泳道：分别在 0 和 60 分钟时采集的在 37°C 条件下反应的 SGF 样品；

第 9 和第 10 泳道：分别在 0 和 60 分钟时采集的在 G-con 中（37°C 条件下）反应的 mEPSPS 样品。

SGF 代表模拟的胃液环境；G-con 代表不含胃蛋白酶的 SGF。

mEPSPS 的分子质量约为 47.4 kDa。

### 与已知毒素蛋白氨基酸序列相似性比较

为确定 mEPSPS 蛋白和已知的毒素蛋白是否存在任何显著的氨基酸序列同源性，利用 BLASTP 程序搜索了 NCBI Entrez<sup>®</sup> 蛋白数据库（NCBI）。

结果显示，搜索显示的 5042 条与 mEPSPS 蛋白具有显著同源性的蛋白序列中，没有已知或推断的毒素蛋白。具体结果详见附件 10.5 节报告原文。

### 国内指定机构进行的大鼠 90 天喂养

2003 年在农业部指定的检测机构，即中国疾病预防控制中心营养与食品安全所对 GA21 玉米及其对照进行大鼠 90 天喂养试验。将选择的 120 只大鼠随机分 3 组，雌雄各半，分别饲喂 GA21 玉米饲料、GA21 亲本玉米饲料和普通对照饲料。每周称体重并计算进食量。于试验中期（45 天）测血常规和血生化指标于试验末期（90 天）断头取血测血生化指标，解剖取脏器做病理组织学检查。

结果显示大鼠活动、生长未见异常，体重和食物利用率与亲本玉米组和普通对照组均无显著差异。试验中期（45 天）和末期（90 天）测定的血液学指标（白细胞计数及其分类、红细胞计数、血小板计数、血红蛋白）、血液生化指标（血清丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、尿素氮、胆固醇、甘油三酯、血糖、乳酸脱氢酶、总蛋白、白蛋白、肌酐、碱性磷酸酶）均在该检测机构的历史检测范围内。GA21 玉米组各脏器与亲本玉米组无显著性差异；病理学检查也均未见 GA21 玉米对被检脏器产生有意义的病理学组织学改变。

因此 GA21 玉米组与亲本和普通对照组比较，未发现 GA21 玉米对试验大鼠有生物学意义的改变。具体结果详见附件 10.10 节报告原文。

### 5.3.3.2 过敏性

mEPSPS 蛋白不为食物过敏原的理由包括：（1）mEPSPS 蛋白非衍生自任何已知的过敏性蛋白；（2）mEPSPS 蛋白不含任何已知过敏性蛋白氨基酸序列；（3）mEPSPS 蛋白在 65℃ 以上温度作用后会失去稳定；（4）mEPSPS 蛋白在一般的哺乳动物胃环境下非常容易消化。

支持以上结论的部分试验结果已在第 5.3.3.1 节毒理学评价部分陈述，本节下文总结 mEPSPS 蛋白与已知过敏原蛋白序列的相似性分析。

#### mEPSPS 蛋白与已知过敏原蛋白序列相似性分析

为确定 mEPSPS 蛋白氨基酸序列是否与任何已知或假定的过敏原蛋白存在序列同源性，通过两种方法搜索了 FARRP 过敏原数据库（The Food Allergy Research and Resource Program Protein Allergen Online Database（13.0 版）），该数据库中包括 1603 条已知或假定的过敏原记录。

用 FASTA 方法搜索全长序列和搜索具有 8 个或以上相邻氨基酸序列完全匹配的方法来对比每个已知或潜在过敏原。第一个方法中没有搜索到任何与过敏原蛋白存在 35% 以上序列的同源性；第二个搜索结果中，在 FARRP 过敏原数据库中搜索到任何与 mEPSPS 蛋白具有 8 个或以上相邻氨基酸序列的同源性。研究结果证明，

mEPSPS 蛋白与已知或假定的过敏原蛋白质没有显著的氨基酸序列同源性。具体结果详见附件 10.6 节报告原文。

#### **5.3.3.3 抗营养因子**

GA21 玉米遗传转化的目的是为了提高玉米对草甘膦类除草剂的抗性，而不是为了改变其营养价值。根据 OECD 要求，先正达公司在 2005 年对美国 8 个地点收获的 GA21 杂交种玉米（杂交种编码：E1(+)）和非转基因近等基因系杂交种（杂交种编码：E2(-)）籽粒的次生代谢物和抗营养因子进行检测。

结果显示，其中纤维糖，植酸，阿魏酸， $\rho$ -香豆酸和所检测的其他平均值均在文献报道的范围内。两种杂交种籽粒估算出的胰蛋白酶抑制剂整体平均水平均在文献报道的范围内。糠醛水平在所有籽粒样品中<LOQ；除去 GA21 一个样品外，棉子糖水平在其余所有样品中<LOQ（表 15，16）。具体结果详见附件 10.8 节报告原文。

表 15 来源于 GA21 杂交种 (E1) 和非转基因近等基因系杂交种 (E2) 籽粒次生代谢物质<sup>1</sup>和抗营养因子<sup>2</sup>的成分

	肌醇 (ug/g DW)	植酸 (% DW)	胰蛋白酶抑制剂 <sup>3</sup> (TIU/mg DW)	阿魏酸 (ppm DW)	对-香豆酸 (ppm DW)
位置1 E1 (+)	2537	0.881	2.03	2087	163
位置1 E2 (-)	2757	0.938	1.97	2160	170
位置3 E1 (+)	2913	0.803	2.37	2253	179
位置3 E2 (-)	3000	0.828	2.21	2357	177
位置5 E1 (+)	3080	0.860	<1.93	2050	171
位置5 E2 (-)	2990	0.774	1.46	2133	170
位置6 E1 (+)	2697	0.815	1.54	2297	206
位置6 E2 (-)	2673	0.750	1.78	2367	203
位置7 E1 (+)	3207	0.831	1.93	2130	175
位置7 E2 (-)	3837	0.784	1.83	2257	189
位置8 E1 (+)	2970	0.696	2.20	2047	167
位置8 E2 (-)	2953	0.739	<1.38	2150	185
E1 (+) 平均值	2901	0.814	<2.00	2144	177
E2 (-) 平均值	3035	0.802	<1.77	2237	182
标准偏差	279	0.066		143	16
变异系数	9.4%	8.2%		6.5%	8.7%
E1 对比 E2的F检验概率	17.3%	59.4%		7.4%	29.6%
不同位置E1、E2交互作用F检验概率	30.4%	33.4%		99.9%	76.7%

1.糠醛值均 <LOQ.

2.棉籽糖值 <LOQ, 除去 E1 数据点定量在 0.12%.

3.此表中, 3 值 <LOQ ; 1 TIU/mg FW (1.12 TIU/mg DW). 表中显示的平均值为定量值的估计平均值和 LOQ 值。统计学分析不适用包含<LOQ 值在内的估计平均值。

表 16 文献报道的玉米籽粒籽粒次生代谢物质和抗营养因子成分<sup>1</sup>

来源		肌醇 (DW)	植酸 (DW)	胰蛋白酶抑制剂 (DW)	阿魏酸 (DW)	<i>p</i> -Coumaric Acid (DW)	糠醛 (DW)	棉子糖 (DW)
OECD (2002)	范围		0.45 - 1.0%		0.02 - 0.3%	0.003 - 0.03%	<0.01 ppm	0.21 - 0.31%
ILSI <sup>2</sup> (2006)	平均值 范围 N	1331.5 ppm 89.0 - 3765.4 504	0.745% 0.111 - 1.570 1196	2.73 TIU/mg 1.09 - 7.18 696	2201.1 mg/kg 291.9 - 3885.8 817	218.4 mg/kg 53.4 - 576.2 817	3.697 mg/kg 3.000 - 6.340 14	0.132% 0.020 - 0.320 701
EuropaBio (2003)	平均值		0.89%	1.9 TIU/mg				
Reynolds 等 (2005)	范围		0.36 - 1.00%					
Souci 等 (2000)	平均值 范围		940 mg/100 g 890 - 990					230 mg/100 g 190 - 270

1. ppm= mg/kg=μg/g

2. LOQ 以下值不包含在内。

#### 5.3.3.4 营养成分

营养成分的“实质等同性”是转基因作物及其产品的安全性评价的一个重要方面。实质等同性的概念是除了导入的性状之外，转基因作物的其它性状应与常规种相当，这个概念是由 WHO 和 OECD 为从现代生物技术生产的食品提供参考而引入的（OECD, 1993, 2000）。OECD 定义的“实质等同性”的概念是：在评估人类消耗一种经改造的或新的食物或食物成分的安全性时，现有的食物或食物来源可以作为比较的基准。根据准确的数据分析，性状的表现和变异必须在该性状的自然变异范围内（Food Standards Agency, 2001）。实质同等性（或不具实质同等性）可以证明一个特定转基因作物或其产品的安全性（或不安全性）。如果发现一种新的食物或食物成分基本与现有食物或食物成分相等，那么，它们在安全性方面可与现有食物相同。实质等同性本身不是一个安全评估标准，而是新食物与对应传统食物比较的一种方法。

为评估 GA21 玉米的营养成分，对 2005 年在美国 8 个地点收获的 GA21 杂交种玉米（杂交种编码：E1(+)）的籽粒和秸秆的关键营养成分进行分析，并与非转基因近等基因系杂交玉米（杂交种编码：E2(-)）的籽粒和秸秆进行比较。对所有地点的成分数据进行方差分析，将籽粒和秸秆成分分析与 OECD（2002），国际生命科学研究所（ILSI）数据库和其他文献上发表的数据进行比较。具体结果可参见附件 10.8 节报告原文。

表 17 籽粒中的分析参数

表17a.谷粒中检测到的分析物

酸性洗涤纤维（ADF）
氨基酸成分
B-胡萝卜素
脂肪酸 <sup>1</sup>
阿魏酸和对香豆酸
叶酸
糠醛
肌醇
中性洗涤纤维（NDF）
矿物质：
钙
铜
铁
镁
锰
磷
钾
钠
锌
植酸
主要成分：
灰分
脂肪
水分
蛋白质
碳水化合物
棉子糖
硒
淀粉
总膳食纤维（TDF）
胰蛋白酶抑制剂
维生素B <sub>1</sub> （硫胺素）
维生素B <sub>2</sub> （核黄素）
维生素B <sub>3</sub> （烟酸）
维生素B <sub>6</sub> （吡哆醇）
维生素E（ $\alpha$ -生育酚）

表17b. 秸秆中检测到的分析物

酸性洗涤纤维（ADF）
中性洗涤纤维（NDF）
矿物质：
钙
磷
主要成分：
灰分
脂肪
水分
蛋白质
碳水化合物

1.玉米籽粒中 5 种含量最多的脂肪酸：棕榈酸，硬脂酸，油酸，亚麻油酸，亚麻酸

## 主要成分

来源于 GA21 杂交种和非转基因近等基因系杂交种的籽粒的主要成分成分见表 18。所有被测变量均未发现统计学上的显著性差异。籽粒中检测的所有主要成分的平均值均在文献报道的范围内（表 19）。

来源于 GA21 杂交种和非转基因近等基因系杂交种的秸秆的类似物成分见表 20。在 7 个被测变量中的 5 个（水分，蛋白，灰分，ADF，NDF）中均未发现统计学上的显著性差异。

玉米秸秆的脂肪水平较籽粒中低，可能低于定量极限（<LOQ）。研究中，秸秆中脂肪水平数据不适宜做统计分析，其中一个来源于 GA21 杂交种的值 <LOQ。基于独立样品脂肪水平 <LOQ 的水分含量，对 GA21 秸秆的脂肪含量整体均值的估算是通过将脂肪（FW 单位）分析法得到 LOQ 转化成 DW 单位。由分析方法得到的 LOQ 估算的 DW 值为 <LOQ 数据点，并适用于深入分析估算对 GA21 秸秆脂肪含量整体平均值。GA21 秸秆估算出的脂肪水平平均值和非转基因秸秆估算出的脂肪平均值均在文献报道的范围内。

在秸秆中主要成分检测，仅观察到了 GA21 杂交种糖类含量在统计学上显著较高。秸秆中全部主要成分平均值均在文献报道的范围内（表 21）。

## 矿物质

来源于 GA21 杂交种和非转基因近等基因系杂交种籽粒和秸秆的矿物质含量分别见表 22 和表 24。在籽粒和秸秆中未发现有任何矿物质水平统计学上有显著性差异。对所有矿物质进行统计分析，平均值均在文献对籽粒（表 23）和秸秆（表 25）报道的范围内。

籽粒中，所有样品的钠和硒的水平均 <LOQ，因此数据不适用统计分析。<LOQ 的钠的含量平均分布在 GA21 杂交种和非转基因杂交种间；每个杂交种中 18 个检查值中有 15 个 <LOQ。在 GA21 样品中可量化的钠的含量（在 163-192 ppm DW）和非转基因杂交种可量化的钠的含量（114-186 ppm DW）均在文献报道的范围内。在 GA21 样品中可量化的硒的含量（在 83-337 ppm DW）和非转基因杂交种可量化的钠的含量（40-415 ppm DW）均在文献报道的范围内。

## 维生素

来源于 GA21 杂交种和非转基因近等基因系杂交种籽粒的维生素分析结果见表 26。在维生素 B<sub>1</sub>，B<sub>2</sub>，B<sub>3</sub>，B<sub>6</sub> 和维生素 E 水平上均未发现统计学上有显著差异，所有平均值水平均在文献报道的范围内（表 27）。统计学上，β-胡萝卜素和叶酸水平在 GA21 杂交种和非转基因杂交种间有显著性差异。所有地点的 β-胡萝卜素水平，GA21 转基因杂交种显著高于非转基因杂交种。不同地点每个基因型叶酸水平具有一致性，平均值基本统一（0.029 vs 0.030 mg/100 g DW）。β-胡萝卜素和叶酸平均值在文献报道的范围内。



## 氨基酸

来源于 GA21 和非转基因近等基因系杂交种籽粒的氨基酸成分见表 28。检测的 18 种氨基酸中未发现任何显著性差异。所有氨基酸的平均值均在文献报道的范围内（表 29）。

## 脂肪酸

来源于 GA21 杂交种和非转基因近等基因系杂交种籽粒的 5 种含量最多的脂肪酸水平见表 30。亚麻油酸（18：2）发现了统计学上有显著差异，其余 4 种脂肪酸并未观察到显著性差异。所测定的 5 中脂肪酸平均水平，包括亚麻油酸（18：2）均在文献报道的范围内（表 31）。

分析籽粒中的主要成分（包括淀粉，TDF，ADF 和 NDF），矿物质，氨基酸，脂肪酸，维生素。对于大多数变量，在 GA21 杂交种和非转基因杂交种中没有发现统计学上的显著差异。籽粒中的  $\beta$ -胡萝卜素，叶酸和亚麻油酸（18：2）发现统计学上有显著差异。然而，GA21 籽粒和非转基因籽粒的以上数据的平均值和所有其他变量均在文献报道的范围内。

来源于 GA21 和相应非转基因玉米的秸秆，对主要成分（包括 ADF 和 NDF）、钙和磷进行分析。对于大多数变量，没有观察到统计学上显著性差异。但在糖类水平上发现微小显著性差异。然而，秸秆中所有检测到的变量的平均值，包括糖类，均在文献报道的变异范围内。

根据上述数据，来源于 GA21 的籽粒和秸秆与传统育种产生的玉米杂交种在营养成分上具有实质等同性。

表 18 来源于 GA21 杂交种 (E1) 和非转基因近等基因系杂交种 (E2) 籽粒主要成分

	水分 <sup>1</sup> (% FW)	蛋白质 (% DW)	脂肪 (% DW)	灰分 (% DW)	碳水化合物 (% DW)	ADF (% DW)	NDF (% DW)	TDF (% DW)	淀粉 (% DW)
位置1 E1 (+)	13.13	10.57	4.07	1.40	84.00	3.27	11.90	14.50	64.2
位置1 E2 (-)	13.07	10.73	3.90	1.37	84.03	3.03	11.00	15.43	64.8
位置3 E1 (+)	12.13	8.57	4.03	1.43	86.00	2.83	11.00	15.27	68.7
位置3 E2 (-)	12.33	7.87	3.90	1.50	86.77	3.33	12.70	14.00	67.2
位置5 E1 (+)	11.77	10.17	3.83	1.33	84.67	3.70	12.57	14.80	66.2
位置5 E2 (-)	10.43	10.10	3.63	1.37	84.93	3.67	12.07	14.37	67.2
位置6 E1 (+)	10.53	9.97	3.07	1.37	85.53	3.80	11.37	16.10	67.9
位置6 E2 (-)	10.70	9.73	3.07	1.43	85.80	3.70	12.50	16.10	65.6
位置7 E1 (+)	10.27	13.20	3.00	1.67	82.13	3.53	12.37	18.03	62.2
位置7 E2 (-)	10.40	13.03	3.10	1.43	82.40	3.53	11.60	18.43	62.6
位置8 E1 (+)	10.33	10.50	3.20	1.77	84.53	3.70	12.83	16.57	66.4
位置8 E2 (-)	10.33	10.17	3.00	1.73	85.10	3.67	13.20	17.47	62.4
E1 (+) 平均值	11.36	10.49	3.53	1.49	84.48	3.47	12.01	15.88	65.9
E2 (-) 平均值	11.21	10.27	3.43	1.47	84.84	3.49	12.18	15.97	65.0
标准偏差		0.68	0.19	0.11	0.64	0.35	0.87	0.79	1.9
变异系数		6.6%	5.5%	7.5%	0.8%	10.0%	7.2%	4.9%	2.8%
E1 对比 E2的F检验概率		34.7%	14.2%	56.2%	11.4%	88.8%	56.2%	74.0%	14.1%
不同位置E1、E2交互作用F检验 概率		92.1%	68.6%	25.3%	93.0%	58.5%	10.9%	20.0%	20.6%

1.籽粒中水分含量不进行方差分析，由于对干燥后的籽粒进行分析，并变更和原始水分含量。

表 19 文献报道的玉米籽粒主要成分

来源		水分 (FW)	蛋白质 (DW)	脂肪 (DW)	灰分 (DW)	碳水化合物 (DW)	ADF (DW)	NDF (DW)	TDF (DW)	淀粉 (DW)
OECD (2002)	范围	7.0 - 23%	6 - 12.7%	3.1 - 5.8%	1.1 - 3.9%	82.2 - 82.9%	3.0 - 4.3%	8.3 - 11.9%	11.1%	
ILSI (2006)	平均值	11.3%	10.30%	3.555%	1.439%	84.6%	4.05%	11.23%	16.43%	57.7%
	范围	6.1 - 40.5	6.15 - 17.26	1.742 - 5.823	0.616 - 6.282	77.4 - 89.5	1.82 - 11.34	5.59 - 22.64	8.85 - 35.31	26.5 - 73.8
	N	1434	1434	1174	1410	1410	1350	1349	397	168
Reynolds 等 (2005)	范围	7.53 - 10.7%	8.03 - 15.6%	2.40 - 5.14%	1.05- 2.05%	79.3 - 88.0%	2.20 - 5.50%	8.03 - 17.4%		
Watson (1987)	平均值	16%	9.5%	4.3%	1.4%		3.3%	9.5%		71.7%
	范围	7 - 23	6 - 12	3.1 - 5.7	1.1 - 3.9		3.3 - 4.3	8.3 - 11.9		61 - 78
Souci 等 (2000)	平均值	12.5%	8.54%	3.80%						61.5%
	范围	12.0 - 13.2	7.61 - 9.84	3.20 - 4.30						61.0 - 63.8

表 20 来源于 GA21 杂交种 (E1) 和非转基因近等基因系杂交种 (E2) 秸秆主要成分

	水分 (% FW)	蛋白质 (% DW)	脂肪 <sup>1</sup> (% DW)	灰分 (% DW)	碳水化合物 (% DW)	ADF (% DW)	NDF (% DW)
位置1 E1 (+)	72.2	8.63	1.93	4.10	85.4	28.3	41.8
位置1 E2 (-)	73.6	9.20	2.00	4.40	84.3	29.0	44.2
位置3 E1 (+)	73.2	5.07	1.47	4.23	89.3	32.4	50.0
位置3 E2 (-)	73.4	5.77	1.17	4.53	88.6	30.1	46.7
位置5 E1 (+)	76.0	8.77	0.70	5.17	85.4	35.3	48.2
位置5 E2 (-)	76.3	9.83	1.27	5.73	83.2	35.2	52.8
位置6 E1 (+)	73.7	7.83	<0.90	4.53	86.9	27.6	42.7
位置6 E2 (-)	73.7	7.70	1.53	4.93	85.8	29.9	43.4
位置7 E1 (+)	73.4	9.63	1.27	5.00	84.1	25.3	40.6
位置7 E2 (-)	73.1	9.40	1.60	4.80	84.2	25.7	42.7
位置8 E1 (+)	69.6	8.27	1.43	4.27	86.0	30.0	46.1
位置8 E2 (-)	68.8	7.90	1.40	4.27	86.4	29.7	45.1
E1 (+) 平均值	73.0	8.03	<1.28	4.55	86.2	29.8	44.9
E2 (-) 平均值	73.1	8.30	1.49	4.78	85.4	29.9	45.8
标准偏差	1.2	0.66		0.39	1.0	2.4	5.7
变异系数	1.6%	8.1%		8.4%	1.2%	7.9%	12.5%
E1 对比 E2的F检验概率	75.6%	24.9%		10.9%	<b>4.6%</b>	91.2%	63.8%
不同位置E1、E2交互作用F检验概率	74.2%	37.1%		60.0%	34.2%	70.7%	87.0%

1.在此数据设置中，(E1) 值<0.1% FW (0.4% DW)的 LOQ。(E1) 平均值为一个可量化值的估计值。统计分析不适用于包括 LOQ 值在内的估计平均值。

表 21 文献报道的玉米秸秆主要成分

来源	水分 (% FW)	蛋白质 (% DW)	脂肪 (% DW)	灰分 (% DW)	碳水化合物 (% DW)	ADF (% DW)	NDF (% DW)
OECD (2002) 范围	62 - 78	4.7 - 9.2	1.5 - 3.2	2.9 - 5.7		25.6 - 34	40 - 48.2
ILSI <sup>1</sup> (2006) 平均值	70.2	7.78	2.039	4.628	85.6	27.00	41.51
ILSI <sup>1</sup> (2006) 范围	49.1 - 81.3	3.14 - 11.57	0.296 - 4.570	1.527 - 9.638	76.4 - 92.1	16.13 - 47.39	20.29 - 63.71
N	945	945	921	945	945	945	945

LOQ 以下的值不包含在内。

表 22 来源于 GA21 杂交种 (E1) 和非转基因近等基因系杂交种 (E2) 籽粒矿物质成分

	钙 (ppm DW)	铜 (ppm DW)	铁 (ppm DW)	镁 (ppm DW)	锰 (ppm DW)
位置1 E1 (+)	45.7	1.48	22.1	1287	6.40
位置1 E2 (-)	48.9	1.40	21.9	1290	6.46
位置3 E1 (+)	55.2	1.35	18.4	1197	4.94
位置3 E2 (-)	57.8	1.45	18.4	1100	4.59
位置5 E1 (+)	50.7	1.51	21.2	1167	5.51
位置5 E2 (-)	49.3	1.49	20.3	1150	5.24
位置6 E1 (+)	56.2	1.47	18.6	1153	5.28
位置6 E2 (-)	58.0	1.52	18.3	1143	5.17
位置7 E1 (+)	71.8	1.06	20.1	1280	7.02
位置7 E2 (-)	78.7	1.20	20.5	1307	6.97
位置8 E1 (+)	52.7	1.43	20.4	1237	6.25
位置8 E2 (-)	53.4	1.37	19.5	1140	5.67
E1 (+) 平均值	55.4	1.38	20.1	1220	5.90
E2 (-) 平均值	57.7	1.41	19.8	1188	5.68
标准偏差	3.4	0.11	0.8	58	0.44
变异系数	6.0%	8.1%	4.1%	4.8%	7.7%
E1 对比 E2的F检验概率	6.5%	59.3%	28.7%	12.9%	16.9%
不同位置E1、E2交互作用F检验 概率	45.0%	47.6%	70.7%	35.9%	83.6%

表 22 来源于 GA21 杂交种 (E1) 和非转基因近等基因系杂交种 (E2) 籽粒矿物质成分 (接上)

	磷 (ppm DW)	钾 (ppm DW)	硒 <sup>1,2</sup> (ppm DW)	钠 <sup>1,3</sup> (ppm DW)	锌 (ppm DW)
位置1 E1 (+)	3167	3153	<LOQ	<LOQ - 192	21.5
位置1 E2 (-)	3220	3310	<LOQ	<LOQ - 134	21.3
位置3 E1 (+)	3223	3533	297	<LOQ - 163	19.9
位置3 E2 (-)	3070	3613	285	<LOQ - 186	19.4
位置5 E1 (+)	3357	3973	159	<LOQ - 174	22.3
位置5 E2 (-)	3267	4000	173	<LOQ	20.9
位置6 E1 (+)	3297	3863	<LOQ - 83	<LOQ	20.5
位置6 E2 (-)	3250	3947	<LOQ - 63	<LOQ	19.2
位置7 E1 (+)	3420	3410	<LOQ	<LOQ	22.0
位置7 E2 (-)	3547	3437	<LOQ - 69	<LOQ	21.8
位置8 E1 (+)	3227	3637	287	<LOQ	20.4
位置8 E2 (-)	3080	3527	370	<LOQ	20.0
E1 (+) 平均值	3282	3595			21.1
E2 (-) 平均值	3239	3639			20.4
标准偏差	134	141			0.9
变异系数	4.1%	3.9%			4.5%
E1 对比 E2的F检验概率	35.7%	36.8%			5.3%
不同位置E1、E2交互作用F检验概率	43.0%	69.9%			75.5%

1. 很多样品值<LOQ，数据不适宜统计分析；所以只显示范围。

2. 硒的 LOQ = 50 ppb FW

3. 钠的 LOQ= 100 ppb FW

表 23 文献报道的玉米秸秆矿物质成分<sup>1</sup>

来源		钙 (DW)	铜 (DW)	铁 (DW)	镁 (DW)	锰 (DW)
OECD (2002)	范围	3 - 100 mg/100 g	0.09 - 1.0 mg/100 g	0.1 - 10 mg/100 g	82 - 1000 mg/100 g	
ILSI <sup>2</sup> (2006)	平均值	46.4 mg/kg	1.75 mg/kg	21.81 mg/kg	1193.8 mg/kg	6.18 mg/kg
	范围	12.7 - 208.4	0.73 - 18.5	10.42 - 49.07	594.0 - 1940.0	1.69 - 14.30
	N	1344	1249	1255	1257	1256
Reynolds 等 (2005)	范围	0.0011 - 0.0059%	1.09 - 3.75 mg/kg	15.6 - 31.5 mg/kg	0.09 - 0.14%	3.65 - 8.80 mg/kg
	平均值	0.03%	4.0 mg/kg	30 mg/kg	0.14%	5.0 mg/kg
Watson (1987)	范围	0.01 - 0.1	0.9 - 10	1 - 100	0.09 - 1.0	0.7 - 54
	平均值	8.3 mg/100 g	240 µg/100 g	1.5 mg/100 g	91 mg/100 g	415 µg/100 g
Souci 等 (2000)	范围	3.9 - 19			72 - 120	150 - 800

来源		磷 (DW)	钾 (DW)	硒 (DW)	钠 (DW)	锌 (DW)
OECD (2002)	范围	234 - 750 mg/100 g	320 - 720 mg/100 g	0.001 - 0.1 mg/100 g	0 - 150 mg/100 g	1.2 - 3.0 mg/100 g
ILSI <sup>2</sup> (2006)	平均值	3273.5 mg/kg	3842 mg/kg	0.2 mg/kg	31.75 mg/kg	21.6 mg/kg
	范围	1470.0 - 5330.0	1810.0 - 6030.0	0.05 - 0.75	0.17 - 731.54	6.5 - 37.2
	N	1349	1257	89	223	1257
Reynolds等 (2005)	范围	0.21 - 0.42%	0.28 - 0.48%			12.5 - 28.7 mg/kg
	平均值	0.29%	0.37%	0.08 mg/kg	0.03%	14.0 mg/kg
Watson (1987)	范围	0.26 - 0.75	0.32 - 0.72	0.01 - 1.00	0.0 - 0.15	12 - 30
	平均值	213 mg/100 g	294 mg/100 g	12 µg/100 g	6.0 mg/100 g	1.7 mg/100 g
Souci 等 (2000)	范围	170 - 256	270 - 350	4 - 16	1.0 - 10.0	1.4 - 2.5

1.ppm = mg/kg = µg/g; ppb = µg/kg = 0.001 mg/kg

2. LOQ 以下值没有包含在内。



表 24 来源于 GA21 杂交种 (E1) 和非转基因近等基因系杂交种 (E2) 玉米  
秸秆钙和磷的成分

	钙 (ppm DW)	磷 (ppm DW)
位置1 E1 (+)	2430	2110
位置1 E2 (-)	2627	2197
位置3 E1 (+)	2073	2080
位置3 E2 (-)	1960	2457
位置5 E1 (+)	2300	2210
位置5 E2 (-)	2677	2123
位置6 E1 (+)	2243	2547
位置6 E2 (-)	2537	2507
位置7 E1 (+)	2783	3353
位置7 E2 (-)	3237	3203
位置8 E1 (+)	2110	2537
位置8 E2 (-)	2147	2430
E1 (+) 平均值	2323	2473
E2 (-) 平均值	2531	2486
标准偏差	310	192
变异系数	12.8%	7.7%
E1 对比 E2的F检验概率	6.8%	83.8%
不同位置E1、E2交互作用F检验概率	62.5%	24.4%

表 25 文献报道的玉米秸秆钙和磷成分<sup>1</sup>

来源	钙 (DW)	磷 (DW)
OECD (2002) 范围	0.15 - 0.31%	0.20 - 0.27%
ILSI (2006) 平均值	2028.6 mg/kg	2066.1 mg/kg
范围	713.9 - 5767.9	936.2 - 3704.1
N	481	481

1. ppm = mg/kg

表 26 来源于 GA21 杂交种 (E1) 和非转基因近等基因系杂交种 (E2) 籽粒维生素的成分

	维生素 A β-胡萝卜素 <sup>1</sup> (RE/g DW)	维生素 B <sub>9</sub> 叶酸 (mg/100 g DW)	维生素 E α-生育酚 (mg/100 g DW)	维生素 B <sub>1</sub> 硫胺素 (mg/100 g DW)	维生素 B <sub>2</sub> 核黄素 (mg/100 g DW)	维生素 B <sub>3</sub> 烟酸 (mg/100 g DW)	维生素 B <sub>6</sub> 吡哆醇 (mg/100 g DW)
位置1 E1 (+)	0.336	0.032	0.519	0.320	0.166	3.00	0.600
位置1 E2 (-)	0.288	0.036	0.526	0.333	0.171	3.02	0.601
位置3 E1 (+)	0.264	0.028	0.702	0.280	0.176	3.73	0.560
位置3 E2 (-)	0.198	0.028	0.614	0.267	0.173	3.95	0.565
位置5 E1 (+)	0.253	0.035	0.640	0.337	0.169	3.73	0.798
位置5 E2 (-)	0.193	0.035	0.590	0.327	0.177	3.24	0.728
位置6 E1 (+)	0.228	0.024	0.585	0.307	0.159	3.07	0.679
位置6 E2 (-)	0.200	0.024	0.756	0.283	0.168	3.13	0.729
位置7 E1 (+)	0.258	0.029	0.799	0.287	0.195	2.57	0.675
位置7 E2 (-)	0.222	0.031	0.783	0.283	0.183	2.65	0.695
位置8 E1 (+)	0.277	0.023	0.800	0.280	0.142	3.45	0.721
位置8 E2 (-)	0.208	0.024	0.842	0.290	0.155	3.99	0.718
E1 (+) 平均值	0.269	0.029	0.674	0.302	0.168	3.26	0.672
E2 (-) 平均值	0.218	0.030	0.685	0.297	0.171	3.33	0.673
标准偏差	0.023	0.001	0.071	0.016	0.009	0.31	0.034
变异系数	9.3%	4.8%	10.5%	5.2%	5.5%	9.3%	5.0%
E1 对比 E2的F检验概率	<0.1%	4.4%	64.4%	41.1%	36.4%	49.5%	95.4%
不同位置E1、E2交互作用F检验概率	57.9%	23.2%	9.8%	35.9%	28.9%	18.9%	13.5%

1. RE = 6 μg β-carotene (例如, 计算 E1: 0.269 RE/g x 6 μg/g = 1.614 μg/g = 0.1614 mg/100 g; 机算 E2: 0.218 RE/g x 6 μg/g = 1.308 μg/g = 0.1308 mg/100 g)

表 27 文献报道的玉米籽粒维生素成分

来源		维生素 A β-胡萝卜素 (DW)	维生素 B <sub>9</sub> 叶酸 (DW)	维生素 E (DW)
ILSI (2006)	平均值	0.684 mg/100 g	0.0651 mg/100 g	0.0103 mg/g
	范围	0.019 - 4.681	0.0147 - 0.1464	0.0015 - 0.0687
	N	276	895	863
Watson 等 (1987)	平均值	2.5 mg/kg	0.3 mg/kg	30 IU/kg <sup>1</sup>
	范围			17 - 47
Souci 等 (2000)	平均值	923 µg/100 g	26 µg/100 g	2.0 mg/100 g
	范围	74 - 960	20 - 40	0.4 - 2.7

来源		维生素 B <sub>1</sub> 硫胺素 (DW)	维生素 B <sub>2</sub> 核黄素 (DW)	维生素 B <sub>3</sub> 烟酸 (DW)	维生素 B <sub>6</sub> 吡哆醇 (DW)
OECD (2002)	范围	2.3 - 8.6 mg/kg	0.25 - 5.6 mg/kg	9.3 - 70 mg/kg	4.6 - 9.6 mg/kg
ILSI (2006)	平均值	0.530 mg/100 g	0.125 mg/100 g	2.376 mg/100 g	0.644 mg/100 g
	范围	0.126 - 4.000	0.050 - 0.236	1.037 - 4.694	0.368 - 1.132
	N	894	704	415	415
Reynolds 等 (2005)	范围	0.35 - 0.50 mg/100 g	0.84 - 1.39 µg/g		
	平均值	3.8 mg/kg	1.4 mg/kg	28 mg/kg	5.3 mg/kg
Watson 等 (1987)	范围	3.0 - 8.6	0.25 - 5.6	9.3 - 70	
Souci 等 (2000)	平均值	360 µg/100 g	200 µg/100 g	1.5 mg/100 g	400 µg/100 g
	范围	200 - 600	100 - 240	1.0 - 2.0	

1. 1 IU = 1 mg 的标准 DL-α-tocopherol

表 28 来源于 GA21 杂交种（E1）和非转基因近等基因系杂交种（E2）籽粒氨基酸的成分

	Asp (mg/g DW)	Thr (mg/g DW)	Ser (mg/g DW)	Glu (mg/g DW)	Pro (mg/g DW)	Gly (mg/g DW)	Ala (mg/g DW)	Cys (mg/g DW)	Val (mg/g DW)
位置1 E1 (+)	6.76	3.63	5.32	20.93	9.68	3.83	8.27	2.38	5.09
位置1 E2 (-)	6.84	3.65	5.49	21.17	9.54	3.81	8.35	2.37	5.02
位置3 E1 (+)	5.63	3.08	4.32	15.97	7.61	3.51	6.38	2.07	4.20
位置3 E2 (-)	5.23	2.86	3.94	13.97	6.82	3.32	5.62	1.90	3.75
位置5 E1 (+)	6.72	3.58	5.21	19.07	8.97	3.95	7.57	2.27	4.82
位置5 E2 (-)	6.82	3.50	5.23	19.00	9.08	3.98	7.55	2.38	4.85
位置6 E1 (+)	6.57	3.54	5.12	18.90	8.84	3.86	7.61	2.35	4.74
位置6 E2 (-)	6.38	3.40	4.98	18.17	8.48	3.73	7.31	2.24	4.55
位置7 E1 (+)	8.50	4.38	6.93	26.77	11.27	4.44	10.47	2.78	6.12
位置7 E2 (-)	8.40	4.39	6.78	25.97	11.03	4.37	10.16	2.67	5.93
位置8 E1 (+)	6.85	3.69	5.51	20.27	8.89	4.01	8.00	2.44	4.88
位置8 E2 (-)	6.79	3.63	5.31	19.13	8.93	4.01	7.68	2.35	4.74
E1 (+) 平均值	6.84	3.65	5.40	20.32	9.21	3.93	8.05	2.38	4.98
E2 (-) 平均值	6.74	3.57	5.29	19.57	8.98	3.87	7.78	2.32	4.81
标准偏差	0.46	0.26	0.39	1.67	0.76	0.22	0.63	0.14	0.35
变异系数	6.8%	7.2%	7.3%	8.4%	8.3%	5.6%	8.0%	5.8%	7.1%
E1 对比 E2的F检验概率	54.4%	37.7%	39.5%	20.4%	38.5%	40.5%	21.9%	18.4%	17.1%
不同位置E1、E2交互作用F 检验概率	93.6%	96.5%	86.4%	88.1%	91.7%	95.0%	89.1%	53.8%	89.9%

表 28 来源于 GA21 杂交种 (E1) 和非转基因近等基因系杂交种 (E2) 籽粒氨基酸的成分 (接上)

	Met (mg/g DW)	Ile (mg/g DW)	Leu (mg/g DW)	Tyr (mg/g DW)	Phe (mg/g DW)	His (mg/g DW)	Lys (mg/g DW)	Arg (mg/g DW)	Trp (mg/g DW)
位置1 E1 (+)	2.22	3.77	14.30	3.54	5.59	3.03	2.98	4.56	0.604
位置1 E2 (-)	2.16	3.73	14.40	3.66	5.65	2.98	2.99	4.57	0.597
位置3 E1 (+)	1.98	2.93	10.34	2.88	4.26	2.54	2.79	4.08	0.549
位置3 E2 (-)	1.81	2.56	8.85	2.55	3.73	2.31	2.74	3.97	0.501
位置5 E1 (+)	2.13	3.41	12.50	3.33	5.08	2.94	3.20	4.75	0.584
位置5 E2 (-)	2.27	3.42	12.40	3.48	5.05	2.92	3.27	4.94	0.630
位置6 E1 (+)	2.32	3.41	12.60	3.50	5.03	2.85	3.07	4.73	0.649
位置6 E2 (-)	2.10	3.29	12.07	3.30	4.86	2.72	2.98	4.55	0.653
位置7 E1 (+)	2.66	4.69	18.47	4.69	7.13	3.51	3.46	5.61	0.777
位置7 E2 (-)	2.53	4.53	17.97	4.58	6.95	3.41	3.45	5.56	0.763
位置8 E1 (+)	2.32	3.55	13.40	3.71	5.38	2.98	3.18	5.01	0.676
位置8 E2 (-)	2.21	3.39	12.53	3.48	5.10	2.89	3.26	5.05	0.666
E1 (+) 平均值	2.27	3.63	13.60	3.61	5.41	2.98	3.11	4.79	0.640
E2 (-) 平均值	2.18	3.49	13.04	3.51	5.22	2.87	3.12	4.77	0.635
标准偏差	0.13	0.28	1.22	0.27	0.44	0.21	0.18	0.35	0.026
变异系数	6.0%	7.9%	9.2%	7.7%	8.3%	7.2%	5.7%	7.4%	4.1%
E1 对比 E2的F检验概率	5.6%	16.0%	19.0%	32.1%	22.8%	17.1%	93.4%	89.3%	56.4%
不同位置E1、E2交互作用F 检验概率	33.6%	89.0%	89.0%	59.4%	89.2%	96.4%	95.0%	95.0%	13.8%

表 29 文献报道的玉米籽粒氨基酸成分

来源		Asp (DW)	Thr (DW)	Ser (DW)	Glu (DW)	Pro (DW)	Gly (DW)	Ala (DW)	Cys (DW)	Val (DW)
OECD (2002)	范围	0.48 - 0.85%	0.27 - 0.58%	0.35 - 0.91%	1.25 - 2.58%	0.63 - 1.36%	0.26 - 0.49%	0.56 - 1.04%	0.08 - 0.32%	0.21 - 0.85%
	平均值	6.88 mg/g	3.75 mg/g	5.12 mg/g	20.09 mg/g	9.51 mg/g	3.85 mg/g	7.90 mg/g	2.21 mg/g	4.90 mg/g
ILSI (2006)	范围	3.35 - 12.08	2.24 - 6.66	2.35 - 7.69	9.65 - 35.36	4.62 - 16.32	1.84 - 5.39	4.39 - 13.93	1.25 - 5.14	2.66 - 8.55
	N	1350	1350	1350	1350	1350	1350	1350	1350	1350
Souci 等 (2000)	平均值	620 mg/100 g	390 mg/100 g	520 mg/100 g	1780 mg/100 g	1020 mg/100 g	430 mg/100 g	790 mg/100 g	140 mg/100 g	510 mg/100 g
	范围	590 - 630	320 - 510	500 - 530	1740 - 1880	930 - 1190	430 - 440	770 - 830	70 - 280	430 - 740

来源		Met (DW)	Ile (DW)	Leu (DW)	Tyr (DW)	Phe (DW)	His (DW)	Lys (DW)	Arg (DW)	Trp (DW)
OECD (2002)	范围	0.10 - 0.46%	0.22 - 0.71%	0.79 - 2.41%	0.12 - 0.79%	0.29 - 0.64%	0.15 - 0.38%	0.05 - 0.55%	0.22 - 0.64%	0.04 - 0.13%
	平均值	2.09 mg/g	3.68 mg/g	13.41 mg/g	3.36 mg/g	5.25 mg/g	2.96 mg/g	3.15 mg/g	4.33 mg/g	0.627 mg/g
ILSI (2006)	范围	1.24 - 4.68	1.79 - 6.92	6.42 - 24.92	1.03 - 6.42	2.44 - 9.30	1.37 - 4.34	1.72 - 6.68	1.19 - 6.39	0.271 - 2.150
	N	1350	1350	1350	1350	1350	1350	1350	1350	1350
Souci 等 (2000)	平均值	190 mg/100 g	430 mg/100 g	1220 mg/100 g	380 mg/100 g	460 mg/100 g	260 mg/100 g	290 mg/100 g	420 mg/100 g	70 mg/100 g
	范围	90 - 400	350 - 620	910 - 2110	190 - 690	320 - 510	130 - 330	40 - 480	190 - 560	40 - 110

表 30 来源于 GA21 杂交种 (E1) 和非转基因近等基因系杂交种 (E2) 籽粒脂肪酸<sup>1</sup>的成分

	16:0 棕榈酸 (% DW)	18:0 硬脂酸 (% DW)	18:1 油酸 (% DW)	18:2 Lin油酸 (% DW)	18:3 亚麻酸 (% DW)
位置1 E1 (+)	0.435	0.072	0.801	2.35	0.060
位置1 E2 (-)	0.436	0.069	0.734	2.20	0.062
位置3 E1 (+)	0.439	0.077	0.840	2.17	0.062
位置3 E2 (-)	0.437	0.079	0.828	2.07	0.059
位置5 E1 (+)	0.448	0.075	0.801	2.04	0.056
位置5 E2 (-)	0.419	0.075	0.790	1.94	0.053
位置6 E1 (+)	0.363	0.063	0.598	1.64	0.045
位置6 E2 (-)	0.355	0.065	0.614	1.62	0.045
位置7 E1 (+)	0.365	0.067	0.583	1.60	0.045
位置7 E2 (-)	0.385	0.068	0.606	1.61	0.047
位置8 E1 (+)	0.392	0.066	0.658	1.69	0.048
位置8 E2 (-)	0.355	0.065	0.635	1.55	0.044
E1 (+) 平均值	0.407	0.070	0.714	1.92	0.053
E2 (-) 平均值	0.398	0.070	0.701	1.83	0.052
标准偏差	0.021	0.004	0.042	0.09	0.004
变异系数	5.2%	5.1%	5.9%	4.7%	7.1%
E1 对比 E2的F检验概率	21.8%	78.3%	38.6%	<b>1.4%</b>	38.8%
不同位置E1、E2交互作用F检验概率	25.9%	84.8%	51.6%	54.8%	66.2%

<sup>1</sup> 五种含量最高的脂肪酸

表 31 文献报道的玉米籽粒脂肪酸<sup>1</sup>成分

来源		16:0 棕榈酸 (DW)	18:0 硬脂酸 (DW)	18:1 油酸 (DW)	18:2 Lin油酸 (DW)	18:3 亚麻酸 (DW)
OECD (2002)	范围	0.29 - 0.79%	0.04 - 0.17%	0.70 - 1.39%	0.67 - 2.81%	0.03 - 0.10%
ILSI (2006)	平均值	11.50% of total FA	1.82% of total FA	25.8% of total FA	57.60% of total FA	1.20% of total FA
	范围	7.94 - 20.71	1.02 - 3.40	17.4 - 40.2	36.2 - 66.5	0.57 - 2.25
	N	1344	1344	1344	1344	1344
Reynolds 等 (2005)	范围	9.16 - 15.8% of total FA	1.23 - 2.80% of total FA	18.7 - 35.2% of total FA	48.8 - 64.7% of total FA	0.92 - 2.31% of total FA
Souci 等 (2000)	平均值	470 mg/100 g	90 mg/100 g	1100 mg/100 g	1630 mg/100 g	40 mg/100 g
	范围	250 - 690	36 - 145		590 - 2460	30 - 70

<sup>1</sup> 五种含量最高的脂肪酸



### 5.3.3.5 抗生素抗性

虽然载体骨架中中带有有一个 *amp* 基因，作为转化中的选择性标记，但该基因在转化过程中已被限制性内切酶切掉，因此 GA21 玉米中不含任何编码抗生素的基因。

### 5.3.3.6 对人类和食品安全性的其他影响

导入 GA21 玉米的 mEPSPS 蛋白不具有毒性（见本申请 5.3.3.1 节），无致敏性（见本申请 5.3.3.2 节）。GA21 玉米籽粒与非转基因玉米籽粒成分没有本质差别（见本申请 5.3.3.4 节）。另外，一些组织机构已经审查了 GA21 玉米并签署了有关文件，认为 GA21 转基因玉米是安全的。例如：

1、1998 年，加拿大食品检验局（CFIA）植物生物技术办公室（PBO）植物健康和生产部，以及动物健康和生产部饲养系，组成植物健康风险评估小组已经评审了 GA21 玉米的材料，认为：“1998 年 4 月 23 日，已经批准 GA21 玉米品系可以不受限制地释放到环境和用作家畜的饲料。关于转基因玉米对环境的潜在影响和家畜的安全性，假设没有进行过种间杂交，用途是相同的，这些植物没有表现更多新性状并与当前种植的玉米没有本质差别，由 GA21 产生的任何其它栽培玉米品系和种间杂种也可以释放到田间并作家畜饲料（CFIA, 1999）。”

2、1999 年，加拿大卫生部声明：“加拿大卫生部审查了支持抗草甘膦 GA21 玉米食品利用的有关材料，认为这种玉米不会引起对人类食品安全的问题。加拿大卫生部认为 GA21 玉米产品的安全性和营养成分与现有商品玉米品种相同（Health Canada, 1999）。”

3、2000 年，健康和消费者权益保护董事会欧洲委员会植物科学委员会达成一致结论：“通过审阅档案提供的信息和数据并根据现有的背景知识，认为没有证据表明抗草甘膦转基因玉米 GA21 投放市场会引起任何对人体健康和环境不利影响”（European Commission, Health and Consumer Protection Directorate-General, 2000）。

### 5.3.4 根据上述评价，参照本办法第十三条有关标准划分基因植物的安全等级

GA21 玉米是以安全级别 I 的材料为受体，通过类型 2 的的转化方法培育而成的。大量研究表明，GA21 玉米对人体健康和环境安全没有危害。因此 GA21 玉米属于安全级别 I。

## 5.4 转基因植物产品安全性评价

### 5.4.1 生产和加工活动对转基因植物的安全性的影响

采用 ELISA 方法定量检测了 GA21 玉米籽粒通过标准食品加工过程后湿磨粉、干磨粉、玉米油和玉米片中 mEPSPS 蛋白表达。检测结果表明，干磨加工对 mEPSPS 蛋白没有影响，但湿磨加工则有影响（表 32）。此外，mEPSPS 蛋白在玉米油或玉米片（由片状粗粳和面粉进一步加工而成）中都没有检测到。由于 mEPSPS 基因表达的蛋白对人类健康和环境安全没有不利影响。因此加工过程对 GA21 玉米的安全性没有影响。

### 5.4.2 转基因植物产品的稳定性

如上所述，除了导入 *mepsps* 基因之外，GA21 在农艺性状、遗传稳定性、营养成分、加工稳定性等方面与其近等基因系常规玉米非常相似。导入的基因对玉米的加工过程和加工产品的稳定性没有影响。因此可以推测 GA21 的产品也应该是稳定的。

### 5.4.3 转基因植物产品和转基因植物之间环境安全性的差异

前述已论证，GA21 玉米的目的基因以完整插入片段插入并能在多代间稳定遗传，在环境安全（5.3.2 节）和对人类健康（5.3.3 节）方面通过国内外实验也证实与非转基因对照玉米等同。因此可以推断转基因 GA21 植物产品和转基因植物本身对环境都是安全的。

### 5.4.4 转基因植物产品和转基因植物之间 对人类健康影响的差异

转基因玉米 GA21 对动物和人类没有危害性，安全性与其它常规玉米品种相同，因而用转基因玉米 GA21 制作的产品也和常规玉米一样是安全的。动物饲喂和青贮饲喂实验也证明这点。

### 5.4.5 参照本办法第十四条有关标准划分转基因植物产品的安全等级

参照《农业转基因生物安全管理条例》第十四条有关标准，用转基因 GA21 玉米制作的产品与其本身一样同属安全等级 I 级。

## 六、相关附件资料

附件 1 目的基因的核苷酸序列及其推导的氨基酸序列

附件 2 目的基因与载体构建的图谱

附件 3 目的基因与植物基因组整合及其表达的分子检测或鉴定结果

附件 3.1 玉米特异性定性 PCR 检测

附件 3.2 玉米特异性定量 PCR 检测

附件 3.3 玉米的 Southern 杂交检测结果

附件 3.4 GA21 外源插入片段的全长 DNA 序列

附件 3.5 玉米 T-DNA 插入位点侧翼序列的 BLASTX 分析

附件 3.6 GA21 玉米插入基因侧翼序列 BLASTN 分析

附件 3.7 GA21 玉米组织和整株植物中 mEPSPS 蛋白的含量

附件 4 转基因性状及产物的检测和鉴定技术

附件 5 转基因植物对生态环境安全和食用安全性的综合评价报告

附件 6 食品安全性的综合评价报告，包括：A) 必要的动物毒理试验报告；B) 食品过敏性评价试验报告；C) 与非转基因植物比较，其营养成分及抗营养因子分析报告等

附件 7 该类转基因植物国内外生产应用概况

附件 8 田间监控方案，包括监控技术、抗性治理措施、长期环境效应的研究方法等；

附件 9 境外公司出口的转基因生物在输出国家或地区已经允许作为相应用途并投放市场的证明文件

附件 10 审查所需的其它相关资料

## 附件 1 目的基因的核苷酸序列及其推导的氨基酸序列

*mepsps* 基因的核苷酸序列（1338bp）

涉及商业保密资料，在本公开版本中已删除

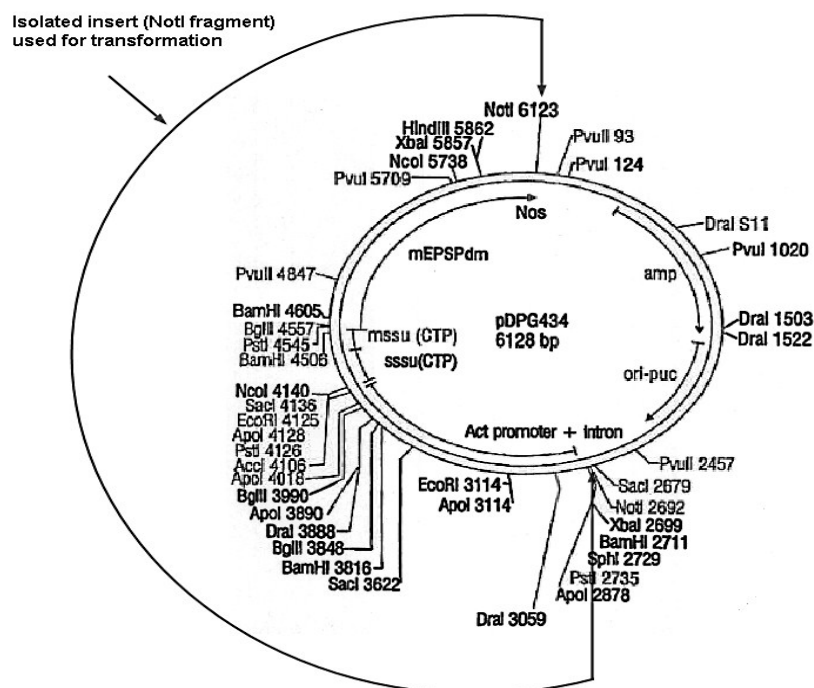
*mepsps* 基因推导的氨基酸序列（446aa）

涉及商业保密资料，在本公开版本中已删除

根据 DNA 序列推导出 mEPSPS 蛋白序列，并且与内源 EPSPS 蛋白进行了比对，结果表明序列一致性至少为 99.3%。

## 附件 2 目的基因与载体构建的图谱

GA21 转化体所用的载体是 pDPG434，来源于农杆菌 Ti 质粒，大小为 6128 bp，目的基因与载体构建的物理图谱如下，载体是安全的，不具有致病能力。



附图 1 pDPG434 质粒图谱以及用于 Southern 分析的限制酶酶切位点

pDPG434 质粒包括肌动蛋白、OTP、mEPSPS 和 NOS。AMP 和 ColEI 是载体 pDPG434 质粒骨架的构成部分。各种元件简述如下：

附表 1 GA21 中的 *NorI* 限制性内切酶功能元件

遗传元件	来源和功能
actin	水稻肌动蛋白 1 基因的 5' 端区域, 包含启动子、第一个外显子和第一个内含子 (McElroy <i>et al.</i> 1990)
OTP	N-端叶绿体转移肽 (CTP) 序列基于玉米和向日葵中 CTP 序列, 将改良的 5-烯醇丙酮酸莽草酸-3-磷酸合成酶 (mEPSPS) 蛋白定位于叶绿体 (LeBrun <i>et al.</i> , 1996)
mepsps	序列编码修饰过的玉米 mEPSPS 蛋白, 对草甘膦抗性 (Leburn <i>et al.</i> , 2003)
NOS	来自土壤农杆菌 T-DNA 的胭脂碱合成酶基因 3'端非翻译区, 终止转录并引导 mRNA 的多腺苷酸化 (Depicker <i>et al.</i> , 1982)

附表 2 质粒 pDPG434 骨架的功能元件

遗传元件	来源和功能
AMP	是来自大肠杆菌的抗氨苄基因 ( <i>bla</i> ), 表现抗青霉素, 用做细菌的选择标记 (Sutcliffe, 1978)
ColEI ori	来源于大肠杆菌质粒的复制 DNA 的起源复制起点 (Itoh and Tomizawa, 1978)

## 附件 3 目的基因与植物基因组整合及其表达的分子检测或鉴定结果

### 3.1 玉米特异性定性 PCR 检测

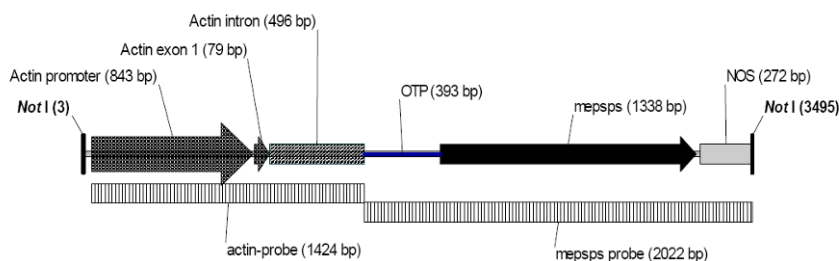
涉及商业保密资料，在本公开版本中已删除

### 3.2 玉米特异性定量 PCR 检测

涉及商业保密资料，在本公开版本中已删除

### 3.3 玉米的 Southern 杂交检测结果

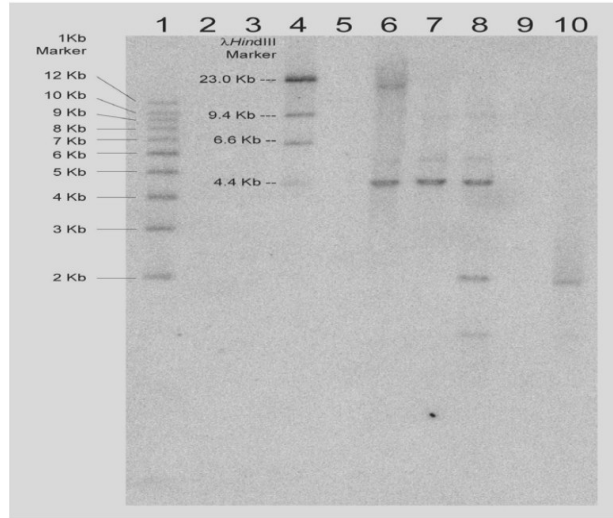
#### 3.3.1 插入片段完整性和遗传稳定性的 Southern 验证结果



附图 2 Southern 杂交分析插入片段（两个特异探针）和世代稳定性（仅 *mepsps*-特异探针）检测中 *actin*-和 *mepsps*-特异探针的位置

#### GA21 玉米插入片段的数目

使用两条由 PCR 标记的代表了 pDPG434 载体 *NotI* 转化片段上的功能元件探针（附图 2），通过 Southern 杂交分析检测 *EcoRV* 消化片段上 GA21 插入片段的位点数目。以 *actin*-特异探针和 *mepsps*-特异探针可分别得到一条 >12kb 和 <23kb 的杂交带（附图 3）。随后的插入片段核苷酸序列分析表明 *EcoRV* 片段大小为 20.5kb（Rabe *et al.*, 2005）。表明整个 GA21 插入片段为单位点插入，在 20.5kb 大小的杂交带之内。此外，还有一些 4.4、5.5 和 9.0kb 大小的杂交带，这些条带是 *mepsps*-特异探针和玉米内源 *epsps* 基因杂交所得。在含有 GA21 玉米和非转基因玉米 DNA 的泳道中都能够检测到这些条带。同时检测到了预期的 2.0kb *mepsps* 和 1.4 kb *actin* 特异阳性对照。



附图 3 GA21 插入片段数目的 Southern 杂交分析结果

玉米基因组 DNA (7.5  $\mu$ g) 用 EcoRV 限制性内切酶消化, 电泳后转移到 Nytran 膜上, 与 *actin*-和 *mepsps*-特异性探针杂交。

泳道 1: 250pg 1 Kb 分子量标准(Stratagene, Cat. No. 201115);

泳道 2:空白;

泳道 3:空白;

泳道 4:500pg Lambda HindIII 分子量标准 (New England Biolabs, Cat.No.N3012S) ;

泳道 5:空白;

泳道 6:GA21 回交 3 代 BC3;

泳道 7: 非转基因对照;

泳道 8:加入 2.0pg *actin*-, 2.8 pg *mepsps*-,和 3.8 pg pUC19-特异探针的非转基因对照;

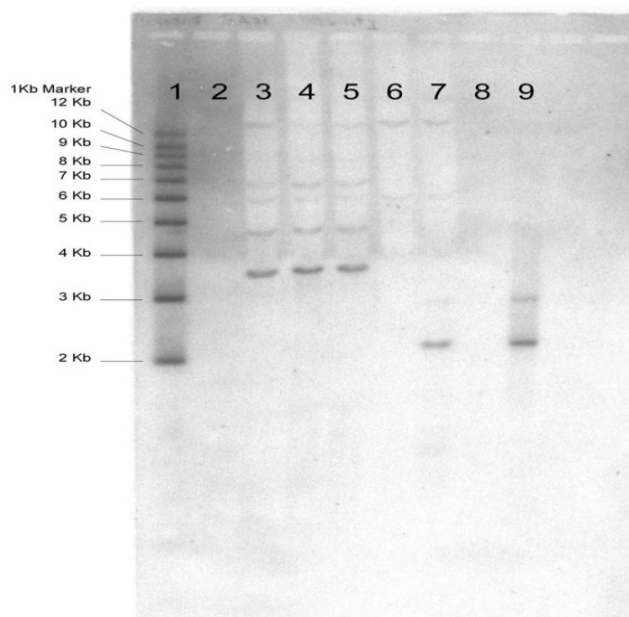
泳道 9:空白;

泳道 10: 2.0pg *actin*-, 2.8 pg *mepsps*-,和 3.8 pg pUC19-特异探针

### GA21 玉米的世代稳定性

采用 Southern 杂交分析检测了 GA21 插入片段在多世代间的稳定性。GA21 三个世代 (BC1, BC2 和 BC3) 的 DNA 分别用限制性内切酶 *HindIII* 酶切, 再用 *mepsps* 特异探针进行杂交 (附图 2)。杂交结果证明了 GA21 插入片段在多个回交世代间的稳定性 (附图 4)。在所有检测的 GA21 样品中都能检测到 3.4、4.7 和 6.7kb 大小的三条带。另外两条 5.9 和 >12.0kb 的条带是 *mepsps* 特异探针和玉米内源 *epsps* 基因的杂交条带, 在 GA21 玉米和非转基因玉米中都可以检测到。同时检测到了预期的 2.0 kb 大小的 *mepsps* 特异阳性对照。





**附图 4 GA21 世代稳定性的 Southern 杂交分析结果**

玉米基因组 DNA (7.5  $\mu$ g) 用 *Hind*III 限制性内切酶消化, 电泳后转移到 Nytran 膜上, 与 *mepsps*-特异性探针杂交。

泳道 1: 250pg 1 Kb 分子量标准(Stratagene, Cat. No. 201115);

泳道 2:空白;

泳道 3: GA21 回交 1 代 BC1;

泳道 4: GA21 回交 2 代 BC2;

泳道 5: GA21 回交 3 代 BC3;

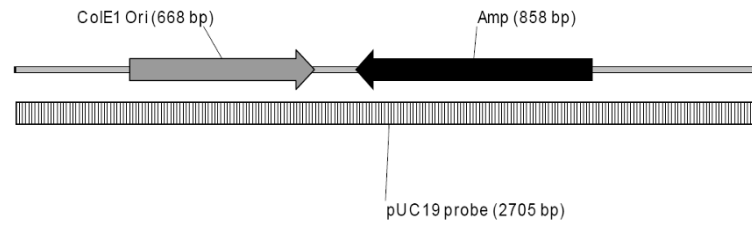
泳道 6: 非转基因对照;

泳道 7:加入 2.0pg actin-, 2.8 pg *mepsps*-,和 3.8 pg pUC19-特异探针的非转基因对照;

泳道 8:空白;

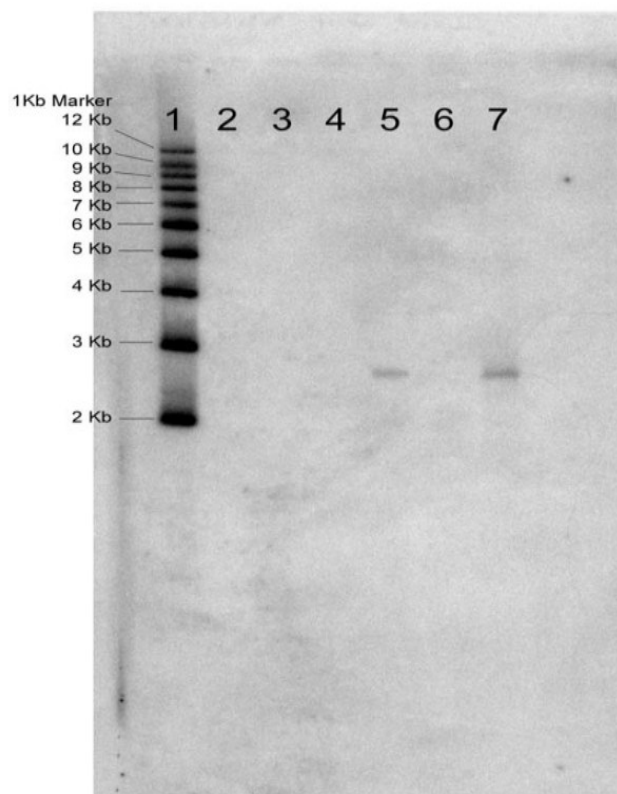
泳道 9: 2.0 pg actin-, 2.8 pg *mepsps*-,和 3.8 pg pUC19-特异探针

## GA21 玉米中是否存在载体骨架的分析



附图 5 Southern 杂交中使用的 pUC19-特异探针

质粒 pDPG434 来自 pUC19 载体，含有 *NotI* 转化片段。用 pUC19 载体特异探针检测 GA21 玉米中是否存在 pDPG434 载体骨架的其他元件（附图 5）。Southern 杂交结果显示 GA21 转化体中不含有载体序列（附图 6）。在检测的玉米样品中没有检测到任何杂交条带。同时检测到了预期的 2.7 kb 大小 pUC19 载体特异探针的阳性对照。



附图 6 GA21 玉米中载体骨架序列的 Southern 杂交分析结果

玉米基因组 DNA (7.5  $\mu$ g) 用 *EcoRV* 限制性内切酶消化, 电泳后转移到 Nytran 膜上, 与 pUC19-特异性探针杂交。

泳道 1: 250pg 1 Kb 分子量标准(Stratagene, Cat. No. 201115);

泳道 2:空白;

泳道 3: GA21 回交 3 代 BC3;

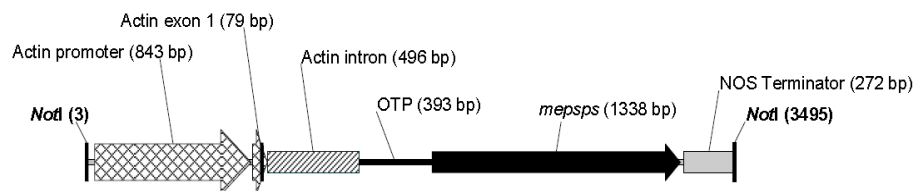
泳道 4:非转基因对照;

泳道 5:加入 2.0pg actin-, 2.8 pg *mepsps*-,和 3.8 pg pUC19-特异探针的非转基因对照;

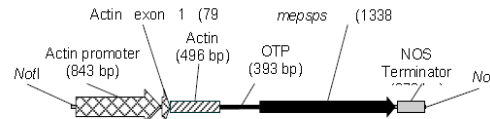
泳道 6:空白;

泳道 7: 2.0pg actin-, 2.8 pg *mepsps*-,和 3.8 pg pUC19-特异探针

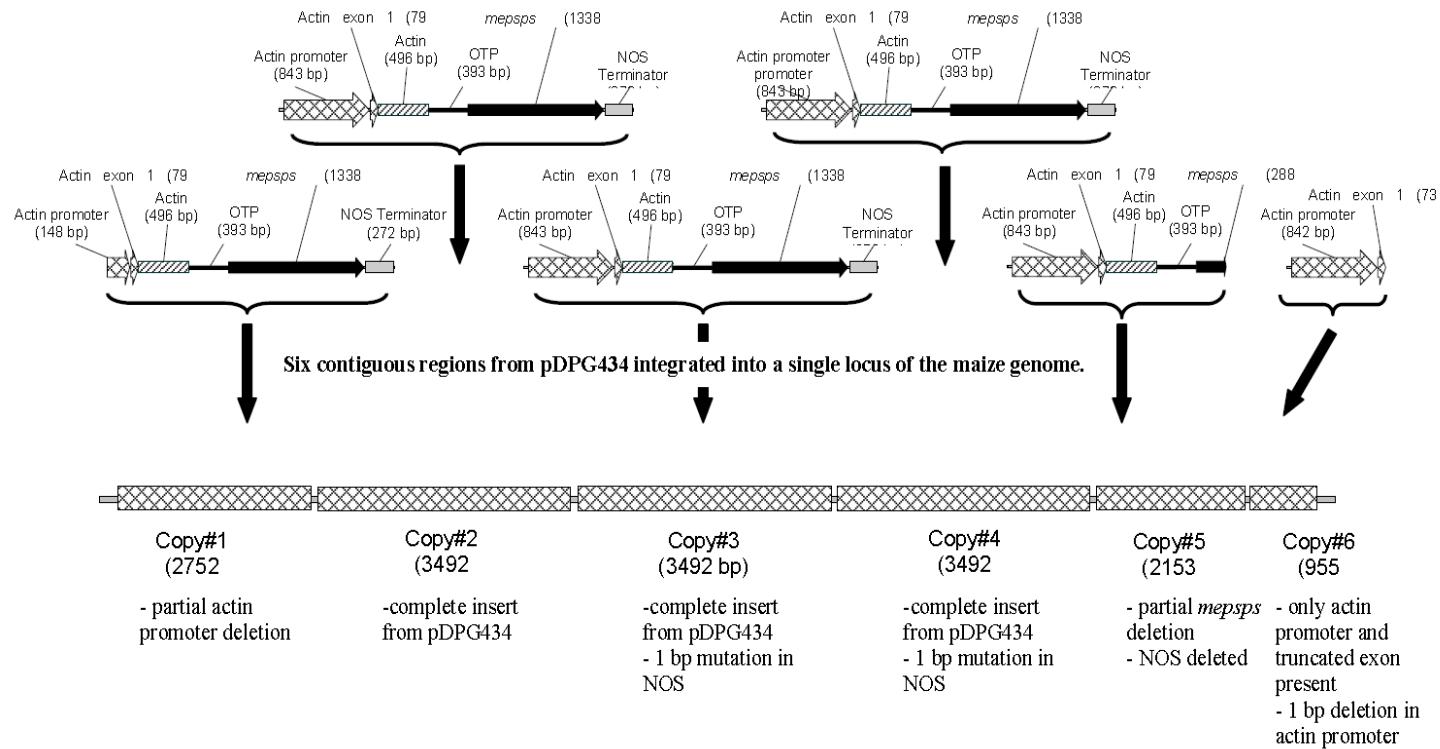
### 3. 3. 2 GA21 玉米插入片段完整性的精确验证



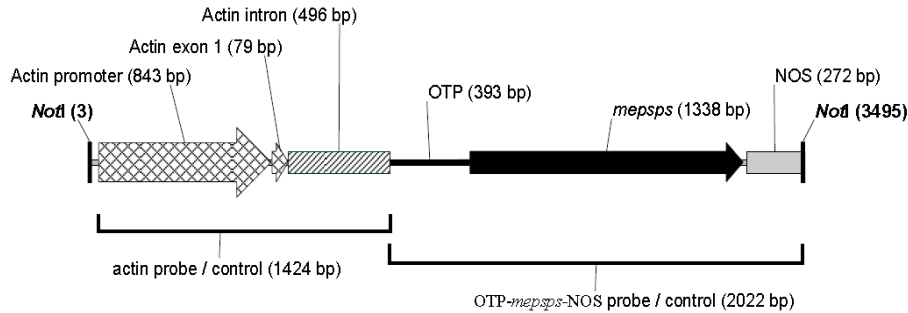
附图 7 插入 GA21 玉米的最初 *NotI* 酶切片段



The *NotI* restriction fragment from pDPG434 (above) was employed for the generation of GA21 maize.



附图 8 GA21 自交系转基因插入片段



附图 9 用于 GA21 插入片段 Southern 杂交分析的探针和阳性对照的 DNA 片段

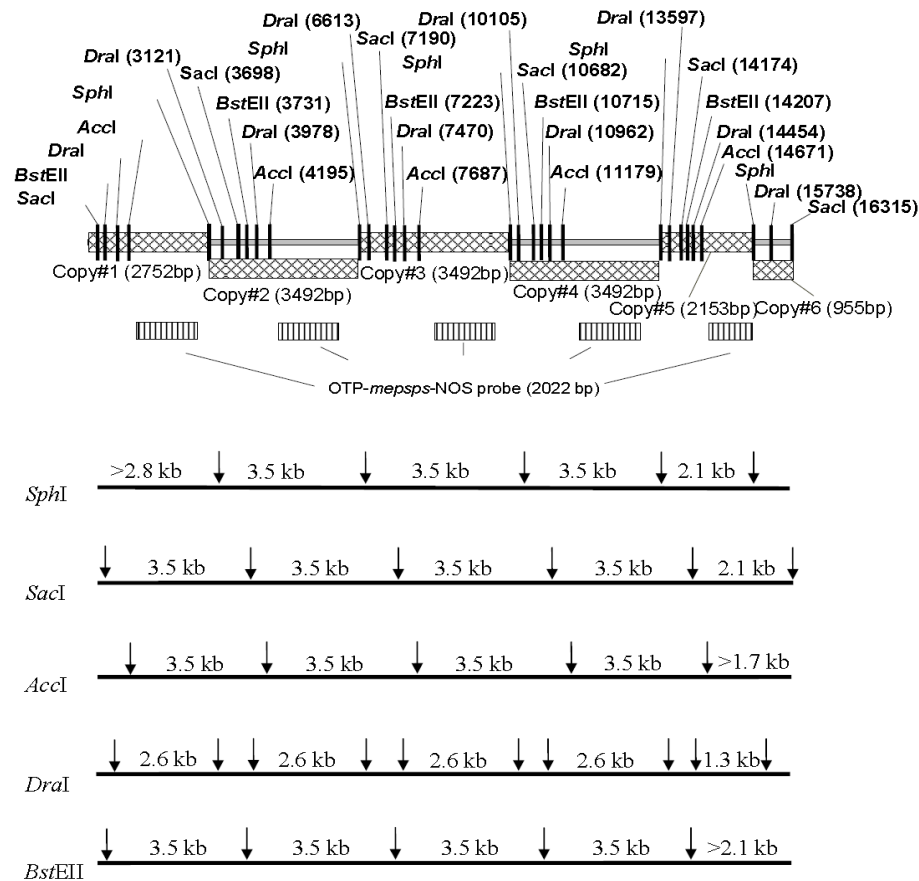
本节中通过 Southern 杂交，使用两个探针（OTP-mepsps-NOS 探针和 actin 探针）分别用 5 种限制酶酶切，验证 GA21 插入片段包含多拷贝来源于 pDPG434 质粒的 *NotI* 转化片段。试验中的阴性对照为近等基因系的非转基因玉米提取的基因组 DNA，阳性对照是纯合的非转基因玉米提取的基因组 DNA 和特异性探针的混合物。

附表 3 和附表 4 列出 Southern 杂交分析的预期和观察的杂交条带。另外，每个 Southern 杂交均有图示显示特异性探针的位置和分析中使用的酶切位点，见附图 10 和附图 12。相应 Southern 杂交分析结果见附图 11 和附图 13。

#### 功能元件 Southern 杂交分析：OTP-mepsps-NOS-特异性探针

OTP-mepsps-NOS-特异性探针包含 OTP 序列，*mepsps* 基因，和 NOS 终止子序列。特异性探针位置和 5 个限制酶的酶切位点如附图 10。分析结果见附图 11。GA21 基因组 DNA（简称 GA21 DNA）用 *SphI* 酶（泳道 2）切后分别产生大约 18，3.5 和 2.1kb 的条带。在 GA21 DNA（泳道 2）和阴性对照（泳道 3）中可以看到大约 6.5kb 内源杂交条带。用 *SacI* 酶切的 GA21 基因组 DNA（泳道 4）产生大约 3.5 和 2.1kb 杂交条带。用 *AccI* 酶切后的 GA21 基因组 DNA（泳道 6）中观察到大约 3.5kb 和 2.1kb 的杂交条带。在 GA21 DNA（泳道 6）和阴性对照（泳道 7）中能观察到约为 10 和 1.7kb 的内源杂交条带。用 *DraI* 酶切的 GA21 基因组 DNA（泳道 8）产生约为 2.6 和 1.3kb 杂交条带。在 GA21 DNA（泳道 8）和阴性对照（泳道 9）中能观察到约为 4.5kb 的内源杂交条带。用 *BstEII* 酶切的 GA21 基因组 DNA（泳道 10）产生约为 4.3 和 3.5kb 杂交条带。在 GA21 DNA（泳道 10）和阴性对照（泳道 11）中能观察到约为 25 kb 的内源杂交条带。阳性对照（含非转基因 DNA）显示了预期的 2.0 kb 条带和约为 25 kb 的内源杂交条带（泳道 12）。

对于 OTP-mepsps-NOS-特异性探针，限制性内切酶酶切后导致杂交信号的产生，每个试验中对前面已证明的（Rabe *et al.*, 2005a; and Rabe *et al.*, 2005b）GA21 插入片段的结构再次验证。未检测到非预期条带，表明 GA21 插入片段并不包含已证明的 GA21 转基因插入片段以外的多余的 OTP，*mepsps* 基因或 NOS 终止子序列。



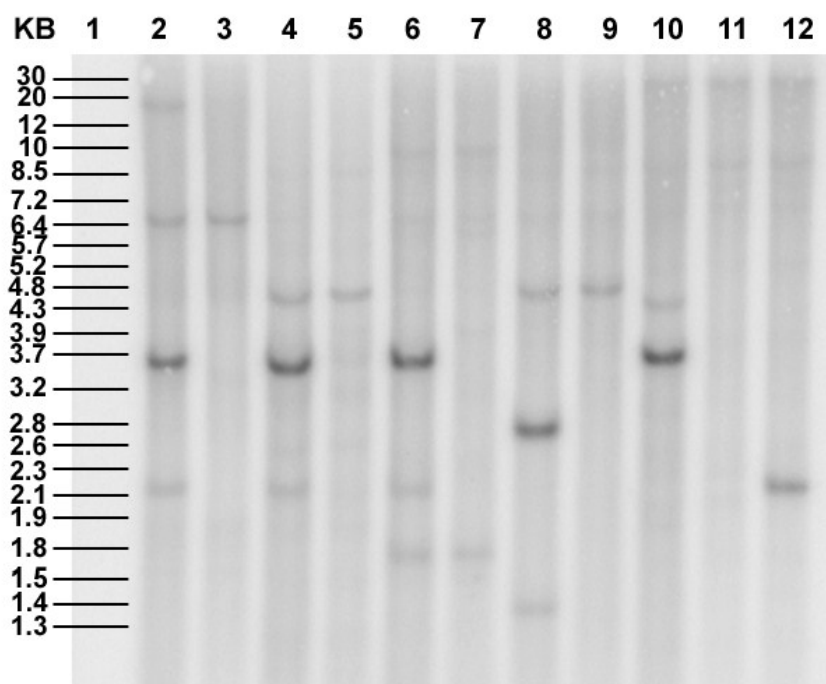
附图 10 限制性酶切位点的位置及 *OTP-mepsps-NOS* 特异性探针的位置

此图代表显示的 GA21 插入片段。使用 *OTP-mepsps-NOS* 特异性探针的用于 Southern 杂交分析的限制性内切酶识别序列的位置已注明。竖箭头表示限制性酶切位点的位置。预期限制性酶切片段的大小已注明。

附表 3 利用 OTP-mepsps-NOS 特异性探针的 Southern 杂交分析中预期及实际测得的杂交条带

泳道	DNA	限制性内切酶	探针	预期条带数量	预期条带大小	观察到的条带大小
基因组 DNA						
第 2 道	GA21	<i>SphI</i>	OTP-mepsps-NOS	3+ 内源条带	3.5 (3X) >2.8 2.1 内源条带未知	3.5 * 18 2.1 内源条带 6.5
第 3 道	阴性对照	<i>SphI</i>	OTP-mepsps-NOS	内源条带未知	内源条带未知	内源条带 6.5
第 4 道	GA21	<i>SacI</i>	OTP-mepsps-NOS	2+ 内源条带	3.5 (4X) 2.1 内源条带未知	3.5 * 2.1 内源条带 4.5
第 5 道	阴性对照	<i>SacI</i>	mepsps	内源条带未知	内源条带未知	内源条带 4.5
第 6 道	GA21	<i>AccI</i>	OTP-mepsps-NOS	2+ 内源条带	3.5 (4X) >1.7 内源条带未知	3.5 * 2.1 内源条带 10 内源条带 1.7
第 7 道	阴性对照	<i>AccI</i>	OTP-mepsps-NOS	内源条带未知	内源条带未知	内源条带 10 内源条带 1.7
第 8 道	GA21	<i>DraI</i>	OTP-mepsps-NOS	2+ 内源条带	2.6 (4X) 1.3 内源条带未知	2.6 * 1.3 内源条带 4.5
第 9 道	阴性对照	<i>AccI</i>	OTP-mepsps-NOS	内源条带未知	内源条带未知	内源条带 4.5
第 10 道	GA21	<i>BstEII</i>	OTP-mepsps-NOS	2+ 内源条带	3.5 (4X) >2.1 内源条带未知	3.5 * 4.3 内源条带 25
第 11 道	阴性对照	<i>BstEII</i>	OTP-mepsps-NOS	内源条带未知	内源条带未知	内源条带 25
阳性对照						
第 12 道	阴性对照 + OTP-mepsps-NOS 探针	N/A	OTP-mepsps-NOS	1+内源条带	2	2
					内源条带未知	内源条带 25

\*由于预期片段多拷贝数使这些条带显示较高的浓度



附图 11 利用 OTP-mepsps-NOS 特异性探针的 GA21 玉米 Southern 杂交分析

玉米基因组 DNA (7.5  $\mu$ g) 分别用 *Sph*I, *Sac*I, *Acc*I, *Dra*I, 和 *Bst*EII 限制性内切酶酶切, 电泳后转移到 Zeta-Probe® GT 膜上, 与 OTP-mepsps-NOS 特异性探针 (2022bp) 杂交。

泳道 1: 分子量标记 (Analytical Marker DNA Wide Range, Promega Corporation Cat. No. DG1931) ;

泳道 2: 用 *Sph*I 酶切的 GA21 DNA;

泳道 3: 用 *Sph*I 酶切的阴性对照;

泳道 4: 用 *Sac*I 酶切的 GA21 DNA;

泳道 5: 用 *Sac*I 酶切的阴性对照;

泳道 6: 用 *Acc*I 酶切的 GA21 DNA;

泳道 7: 用 *Acc*I 酶切的阴性对照;

泳道 8: 用 *Dra*I 酶切的 GA21 DNA;

泳道 9: 用 *Dra*I 酶切的阴性对照;

泳道 10: 用 *Bst*EII 酶切的 GA21 DNA;

泳道 11: 用 *Bst*EII 酶切的阴性对照;

泳道 12: 用 *Bst*EII 酶切的阴性对照+2.8 pg 的 OTP-mepsps-NOS 特异性探针

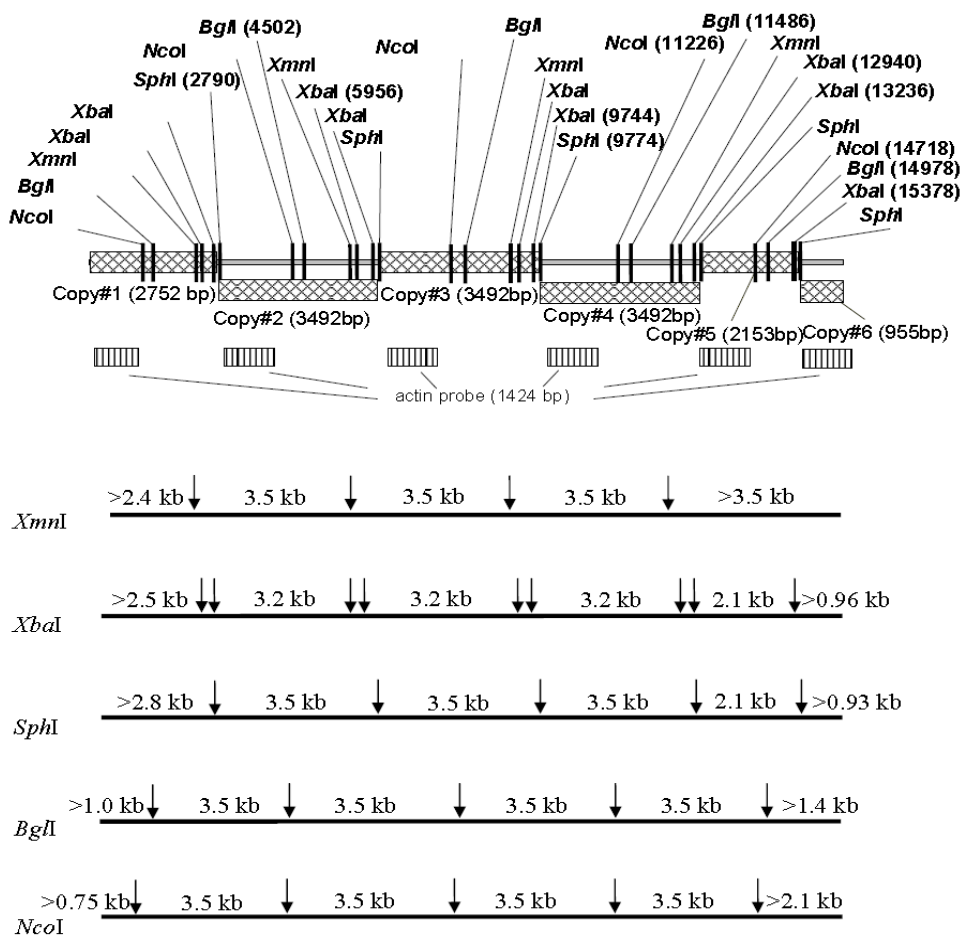


功能元件 Southern 杂交分析：actin -特异性探针

actin-特异性探针（包含内含子和外显子）用于 Southern 杂交分析。GA21 转基因插入区域图显示研究中 actin-特异性探针和限制性内切酶的位置，见附图 12。分析结果见附图 13。

用 *XmnI* 酶切的 GA21 基因组 DNA（泳道 2）产生约为 8.4，4.4 和 3.5kb 的杂交条带。用 *XbaI* 酶切的 GA21 基因组 DNA（泳道 4）产生约为 20，12，3.2 和 2.1kb 的杂交条带。用 *SphI* 酶切的 GA21 基因组 DNA（泳道 6）产生约为 18，3.5，2.1 和 1.8kb 的杂交条带。用 *BglI* 酶切的 GA21 基因组 DNA（泳道 8）产生约为 11，3.5 和 2.3kb 的杂交条带。用 *NcoI* 酶切的 GA21 基因组 DNA（泳道 10）产生约为 3.5，2.6 和 0.95kb 的杂交条带。在阴性对照泳道 3，5，7，9，11 中未发现杂交条带。并且，杂交过程中的阳性对照，actin-特异性探针显示了预期的 1.4 kb 条带（泳道 12）。

对于 actin-特异性探针，限制性内切酶酶切后导致杂交信号的产生，每个试验中对前面已证明的（Rabe *et al.*, 2005a; and Rabe *et al.*, 2005b）GA21 插入片段的结构再次验证。未检测到非预期条带，表明 GA21 插入片段并不包含已证明的 GA21 转基因插入片段以外的多余的水稻 actin 序列。



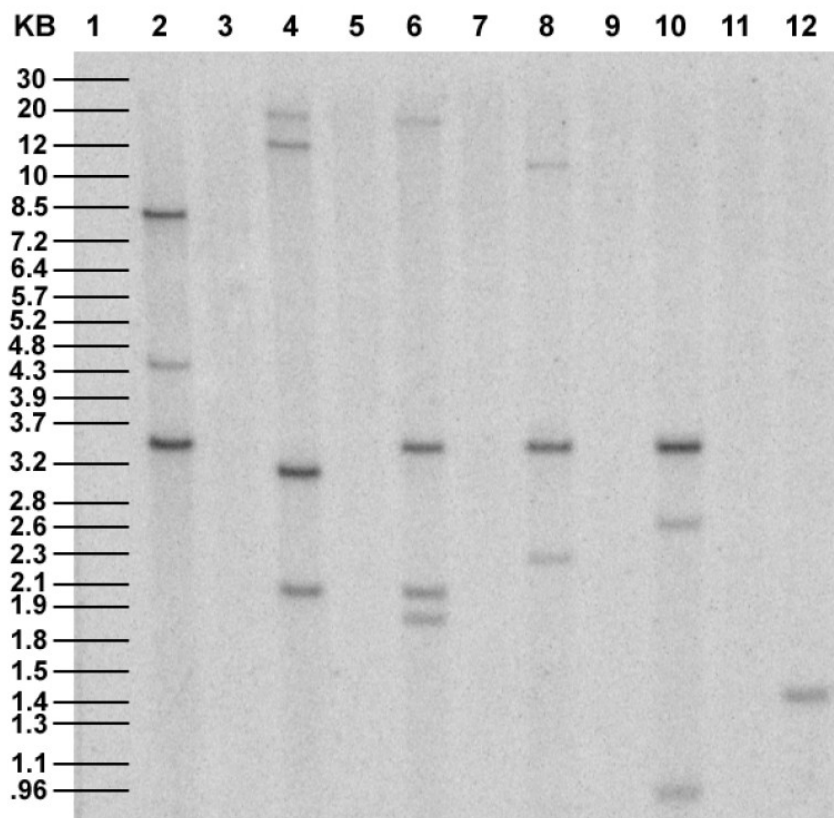
附图 12 限制性酶切位点的位置及 actin-特异性探针的位置

此图代表显示的 GA21 插入片段。使用 actin-特异性探针的用于 Southern 杂交分析的限制性内切酶识别序列的位置已注明。竖箭头表示限制性酶切位点的位置。预期限制性酶切片段的大小已注明。

附表 4 利用 actin-特异性探针的 Southern 杂交分析中，预期及实际测得的杂交条带大小

泳道	DNA	限制性内切酶	探针	预期条带数量	预期条带大小	观察到的条带大小
基因组 DNA						
第 2 道	GA21	<i>XmnI</i>	actin	3	3.5 (3X) >3.5 >2.4	3.5 * 8.4 4.4
第 3 道	阴性对照	<i>XmnI</i>	actin	无	0	0
第 4 道	GA21	<i>XbaI</i>	actin	4	3.2 (3X) >2.5 2.1 >0.96	3.2 * 20 2.1 12
第 5 道	阴性对照	<i>XbaI</i>	actin	无	0	0
第 6 道	GA21	<i>SphI</i>	actin	4	3.5 (3X) >2.8 2.1 >0.93	3.5 * 18 2.1 .8
第 7 道	阴性对照	<i>SphI</i>	actin	无	0	0
第 8 道	GA21	<i>BglI</i>	actin	3	3.5 (4X) >1.4 >1.0	3.5 * 11 2.3
第 9 道	阴性对照	<i>BglI</i>	actin	无	0	0
第 10 道	GA21	<i>NcoI</i>	actin	3	3.5 (4X) >2.1 >0.75	3.5 * 2.6 0.95
第 11 道	阴性对照	<i>NcoI</i>	actin	无	0	0
阳性对照						
第 12 道	阴性对照 +actin 探针	N/A	actin	1	1.4	1.4

\*由于预期片段多拷贝数使这些条带显示较高的浓度



附图 13 利用 *actin*-特异性探针的 GA21 玉米 Southern 杂交分析

玉米基因组 DNA (7.5  $\mu$ g) 分别用 *Xmn*I, *Xba*I, *Sph*I, *Bgl*II, 和 *Nco*I 限制性内切酶酶切, 电泳后转移到 Zeta-Probe<sup>®</sup> GT 膜上, 与 *actin*-特异性探针 (1424bp) 杂交。

泳道 1: 分子量标记 (Analytical Marker DNA Wide Range, Promega Corporation Cat. No. DG1931) ;

泳道 2: 用 *Xmn*I 酶切的 GA21 DNA;

泳道 3: 用 *Xmn*I 酶切的阴性对照;

泳道 4: 用 *Xba*I 酶切的 GA21 DNA;

泳道 5: 用 *Xba*I 酶切的阴性对照;

泳道 6: 用 *Sph*I 酶切的 GA21 DNA;

泳道 7: 用 *Sph*I 酶切的阴性对照;

泳道 8: 用 *Bgl*II 酶切的 GA21 DNA;

泳道 9: 用 *Bgl*II 酶切的阴性对照;

泳道 10: 用 *Nco*I 酶切的 GA21 DNA;

泳道 11: 用 *Nco*I 酶切的阴性对照;

泳道 12: 用 *Nco*I 酶切的阴性对照+2.0 pg 的 *actin*-特异性探针

### 3.4 GA21 外源插入片段的全长 DNA 序列

下列序列显示了实际插入 GA21 玉米基因组的全长 DNA 序列和插入位点的两端边界序列（1000bp）。并提供了转化事件特异性 PCR 验证时相应引物名称、序列及其扩增产物长度。

涉及商业保密资料，在本公开版本中已删除
---------------------

### 3.5 玉米 T-DNA 插入位点侧翼序列的 BLASTX 分析

为了确定 GA21 插入基因是否干扰了已知的内源玉米基因。将 GA21 插入基因侧翼的玉米基因组序列在已发表可利用的蛋白数据库内使用检索工具（BLASTX）分析进行相似性比对。结果显示，GA21 插入基因没有干扰任何已知的内源玉米基因。

### 3.5 GA21 玉米组织和整株植物中 mEPSPS 蛋白的含量

用 ELISA 方法（Tijssen, 1985）检测了美国 2004 年田间试验 4 个杂交种（两个转基因 GA21 杂交种，115TT-189 和 47TT-593，及其相应近等基因系非转基因对照，115-083 和 47-673）中：（1）各个发育时期的中 mEPSPS 蛋白的表达水平；（2）GA21 玉米蛋白在多世代表达的稳定性。

结果显示，在所有生长期內，在测量的叶片、根和整株植物中 mEPSPS 蛋白的平均浓度范围在低于定量极限（<0.2 µg/gfw）到约为 15 µg/gfw（<0.4-71 µg/gdw）。籽粒中检测的 mEPSPS 蛋白的平均浓度范围在约为 4-7µg/gfw（5-10 µg/gdw），花粉中平均值约为 168 µg/gfw。在两个杂交种间每种组织类型每个时间点上的 mEPSPS 蛋白浓度大体相同。

附表 5 GA21 植株鲜重的 mEPSPS 蛋白浓度

		发育阶段			
组织	种质 <sup>1</sup>	轮生期（拔节期）	开花期	种子成熟期	衰老期
		平均每克鲜重中 mEPSPS 含量 μg/g ± S.D. <sup>2</sup> (范围)			
叶片	115TT-189	11.98±1.70 (10.44-14.53)	14.94±2.42 (12.36-17.57)	<0.46 (<LOQ-0.87)	<0.24 <sup>N=4</sup> (<LOQ)
	47TT-593	10.44±1.75 (8.63-13.22)	12.73±2.07 (9.92-15.47)	<0.29 (<LOQ-0.41)	<0.24 (<LOQ)
根	115TT-189	6.71±1.11 (5.57-8.44)	6.72±0.65 (6.07-7.71)	3.05±1.22 (2.20-5.15)	2.21±1.99 (0.81-5.66)
	47TT-593	5.98±1.01 (5.33-7.76)	5.73±1.63 (3.71-7.16)	3.61±1.66 (1.50-5.11)	<2.36 (<LOQ-4.04)
籽粒	115TT-189	N/A <sup>3</sup>	N/A	6.61±1.35 (4.93-8.60)	7.40±1.09 (5.86-8.65)
	47TT-593	N/A	N/A	7.01±1.43 (5.37-8.54)	3.87±1.09 (2.53-5.39)
花粉 <sup>4</sup>	115TT-189	N/A	158.37	N/A	N/A
	47TT-593	N/A	177.91	N/A	N/A
整株	115TT-189	7.20±1.12 (6.19-9.03)	9.60±0.89 (8.51-10.48)	5.31±0.71 (4.34-6.33)	5.17±1.89 (3.49-7.48)
	47TT-593	7.07±0.77 (6.12-8.08)	7.70±1.06 (6.52-8.77)	3.36±0.44 (2.94-4.09)	4.96±0.98 (3.21-5.47)

1. 与定量相应的转基因样品中 mEPSPS 相同的分析稀释液中，所有非转基因样品中 EPSPS 浓度 <LOQ 或 <LOD 未包括在本表。

2. 除非有特殊说明，否则 N=5。由 ELISA 确定的值没有按照提取效率进行修正。计算平均值时，平均值前面的“<”表明估计的 LOQ 用于代表一个或多个样品。

3. N/A=不适用（不分析此生长阶段的组织类型）。

4. 收到的一份混合过的样品（风干过夜）。

附表 6 GA21 植株干重的 mEPSPS 蛋白浓度

组织*	种质 <sup>1</sup>	发育阶段			
		轮生期（拔节期）	开花期	种子成熟期	衰老期
		平均值：微克 mEPSPS/克鲜重 ± S.D. <sup>2</sup> (范围)			
叶片	115TT-189	70.41±10.01 (58.03-80.53)	70.94±11.22 (58.37-81.93)	<1.02 (<LOQ-2.29)	<0.30 N=4 (<LOQ)
	47TT-593	57.48±9.71 (47.89-72.42)	56.96±9.91 (43.68-69.95)	<0.56 (<LOQ-0.72)	<0.30 (<LOQ)
根	115TT-189	43.83±4.56 (39.22-50.30)	43.00±4.50 (35.65-46.50)	17.19±7.19 (11.72-28.93)	12.44±10.40 (4.47-30.44)
	47TT-593	35.89±3.69 (30.54-40.16)	36.30±6.46 (30.65-44.16)	18.26±8.41 (8.60-26.27)	<13.95 (<LOQ-22.54)
籽粒	115TT-189	N/A <sup>3</sup>	N/A	9.54±2.05 (7.25-12.39)	9.50±1.41 (7.36-10.92)
	47TT-593	N/A	N/A	10.23±1.89 (7.82-12.25)	4.80±1.33 (3.25-6.65)
整株	115TT-189	67.71±14.66 (52.66-92.26)	63.23±7.69 (54.47-75.39)	13.38±2.32 (10.49-16.39)	9.50±1.41 (7.36-10.92)
	47TT-593	62.33±6.38 (54.18-71.63)	47.74±6.79 (39.23-55.10)	8.08±2.60 (5.48-12.24)	9.17±2.40 (7.07-13.12)

1. 与定量相应的转基因样品中 mEPSPS 相同的分析稀释液中，所有非转基因样品中 EPSPS 浓度<LOQ 或<LOD 未包括在本表。

2. 除非有特殊说明，否则 N=5。由 ELISA 确定的值没有按照提取效率进行修正。计算平均值时，平均值前面的“<”表明估计的 LOQ 用于代表一个或多个样品。

3. N/A=不适用（不分析此生长阶段的组织类型）。

\* 分析收到的花粉，如，不是基于干重分析（见表 7.3.7.1 数据）。

检测全部 3 个 GA21 回交世代在 V7-V8 时期叶片组织 mEPSPS 蛋白。结果为 5 个重复组织样品的平均值。在所有回交世代和基因型中，平均 mEPSPS 蛋白浓度为约 13-14 µg/gfw (82-96 µg/gdw) (附表 7)。总之，所分析的 3 个世代间浓度没有显著性差异，结果表明 mEPSPS 蛋白在 GA21 玉米多代间能稳定表达。此外，上述采用不同杂交种、采用不同的育种计划，实验结果也没有发现 mEPSPS 蛋白表达的不稳定。

附表 7 GA21 转基因玉米三个回交世代叶片 mEPSPS 蛋白含量

回交世代*	平均值 µg mEPSPS/gdw ± S.D. (范围)	平均值 µg mEPSPS/gfw ± S.D. (范围)
BC1	12.61 ± 1.86 (9.61—13.92)	82.25 ± 11.34 (71.91—95.37)
BC2	13.60 ± 2.84 (10.49—17.15)	95.71 ± 20.65 (71.66—120.76)
BC3	13.10 ± 1.19 (11.76—14.46)	83.93 ± 6.67 (76.64—92.91)

注：N=5. mEPSPS 蛋白含量值由 ELISA 确定，未用提取系数校正（76.64—92.91）。

\*在相同的测定条件下，负对照的 EPSPS 含量小于 LOD（0.73 µg/gfw; 4.94 µg/gdw）。

## 附件 4 转基因性状及产物的检测和鉴定技术

### GA21 玉米在南非种植条件下的杂草监测和除草剂耐受性试验

分别在 2007-2008 年种植季 3 个地点和 2008-2009 年种植季 2 个地点进行杂草监测和 GA21 玉米的除草剂耐受性试验。结果表明，转基因事件不会影响田间杂草的自然发生率。转基因事件有效性试验结果表明，GA21 玉米对包含草甘膦的除草剂有耐受性。

#### 杂草监测试验

在 2008-2009 年种植季，分别统计了在 Delmas 和 Klerksdorp 地点的转基因田间试验杂草的数量，判定转基因事件是否对田间出现的自然生杂草有影响（iso 为近等基因系非转基因对照）。结果表明，转基因事件不会影响杂草的生长和自然发生情况（附表 8）。

附表 8 田间杂草监测包括近等基因系，非转基因对照玉米杂交种和 GA21 玉米——每个试验重复间每 m<sup>2</sup> 杂草数的平均值

地点	监测的杂草	31/12/2008	20/1/2008	28/1/2009	性状
Klerksdorp	<i>Portulaca oleracea</i>	48.50	45.50	41.67	iso
	<i>Chenopodium album</i>	1.50	2.00	1.50	
	<i>Tribulus terrestris</i>	0.17	0.17	0.17	
	<i>Tagetes minuta</i>	0.50	0.67	0.83	
	<i>Portulaca oleracea</i>	46.67	46.83	44.33	
Klerksdorp	<i>Chenopodium album</i>	1.00	1.50	0.83	GA21
	<i>Tribulus terrestris</i>	0.17	0.00	0.17	
	<i>Tagetes minuta</i>	0.00	0.00	0.00	
地点	监测的杂草	6/2/2009	20/2/2008	6/3/2009	性状
Delmas	<i>Portulaca oleracea</i>	14.00	9.67	7.00	iso
	<i>Eleusine indica</i>	0.00	0.33	1.00	
	<i>Datura ferox</i>	0.67	1.33	1.00	
	<i>Portulaca oleracea</i>	15.67	4.00	6.00	
Delmas	<i>Eleusine indica</i>	1.33	0.67	1.00	GA21
	<i>Datura ferox</i>	1.00	0.67	0.67	

#### 除草剂耐受性评估试验

播种后 4 周喷施草甘膦并进行试验。结果表明两个种植季中，GA21 玉米的监测条目并没有受喷施除草剂影响（附表 9）。用于对照的近等基因系非转基因玉米在喷施草甘膦后均死亡（除去 1 个小区，附表 9）。总之，GA21 玉米能有效抵抗草甘膦类除草剂。

附表 9 两个种植季对除草剂耐受性评估分析

种植季	地点	植株死亡率 (%)	植物毒素 (%)	性状
2007/8	Klerksdorp	100	100	iso
	Klerksdorp	0	0	GA21
	Delmas	100	100	iso
	Delmas	0	0	GA21
	Greytown	100	100	iso
	Greytown	0	0	GA21
2008/9	地点	植株死亡率 (%)	植物毒素 (%)	性状
	Klerksdorp	96*	99*	iso
	Klerksdorp	0	0	GA21
	Delmas	100	100	iso
	Delmas	0	0	GA21

\*由于除草剂使用的技术问题，有些植株只在田间试验的一个小区内进行草甘膦耐受性调查。



## **附件 5 转基因植物对生态环境安全和食用安全性的综合评价报告**

转基因植物对生态环境安全性的综合评价报告请见下页《转聚合 *mepsps* 基因抗草甘膦除草剂玉米 GA21 的生态环境安全性和食用安全性评价的综合报告》。

## **附件 6 食品安全性的综合评价报告，包括：A) 必要的动物毒理试验报告；B) 食品过敏性评价试验报告；C) 与非转基因植物比较，其营养成分及抗营养因子分析报告等**

转基因植物对食品安全性的综合评价报告请见下页《转聚合 *mepsps* 基因抗草甘膦除草剂玉米 GA21 的生态环境安全性和食用安全性评价的综合报告》。

# 转聚合 *mepsps* 基因抗草甘膦除草剂玉米 GA21 的生态环境安全性和食用安全性评价的综合报告

## 1. 摘要

GA21 转基因耐草甘膦除草剂玉米是利用基因枪法将经过修饰的 5-烯醇丙酮酸莽草酸-3-磷酸合成酶 (*mepsps*) 基因导入栽培玉米获得, 聚合 *mepsps* 基因在植物中的表达, 使之耐受草甘膦类除草剂。用这种转基因玉米可以使农民使用含草甘膦除草剂控制玉米农田杂草。

先正达公司已开展了大量研究, 并结合农业部指定检测机构对 GA21 玉米的环境和食用安全性进行了系统的评价。研究结果表明, GA21 玉米对生态环境没有不利影响: 不会影响田间杂草的自然发生率; 在农艺性状、生存竞争力等方面与非转基因玉米无差异; 自然条件下发生遗传物质转移的可能性很小; 由于 GA21 玉米为抗除草剂转基因作物, 因此不会对非靶标生物产生影响。在食品安全评价上: GA21 与传统育种产生的玉米杂交种在营养成分、次生代谢物和抗营养因子上具有实质等同性; 在小鼠急性口服试验中, 所有的雌性和雄性小鼠在临床表现、体重、摄食量、临床病理、器官重量、宏观或显微病理方面与服用 2000 mg /kg 体重的 mEPSPS 蛋白无关; GA21 玉米中的 mEPSPS 蛋白在 65°C 和更高温度下失去稳定性, 并能在一般的哺乳动物胃环境下消化; 90 天大鼠喂养试验中, 大鼠活动、生长未见异常, 体重和食物利用率与亲本玉米组和普通对照组均无显著差异, 血液指标、血液生化指标均在检测机构的正常范围值内, 病理学检测无异常。经序列比对, mEPSPS 蛋白与已知毒素蛋白或过敏性蛋白氨基酸序列无相似性。

## 2. 背景介绍

1996 年, GA21 玉米被美国批准用作食品和饲料, 稍后被批准商业化种植。到目前为止, GA21 玉米已在美国、加拿大、日本、巴西、阿根廷和菲律宾等国批准商业化种植、食用及饲用用途; 除以上国家外, 澳大利亚、韩国和欧盟等也批准了 GA21 玉米用于食品、加工原料等用途。中国于 2004 年 2 月获得农业部批准将转基因玉米 GA21 进口用作加工原料, 并分别于 2006 年, 2008 年和 2011 年批准了续申请。

## 3. 受体生物学特性

### 3.1 受体生物分类地位与分布

受体植物为栽培玉米, 学名为 *Zea mays* L., 俗名为玉米, 也称为玉黍、苞谷、棒子等。在植物分类学上属于单子叶植物的禾本科、玉蜀黍属、玉米种、栽培玉米亚种。玉米是西半球起源的少数主要作物种类之一, 世界各地几乎都有种植。现代玉米的确切起源多年来一直是植物学家争论的话题, 尽管有证据支持起源于野生墨西哥类蜀黍和人类干预的理论 (Galiant 1988)。玉米确定不是起源于中国, 引入中国的确切时间尚无定论, 但根据研究, 玉米大约是在 1511 年前若干年引入中国的, 因为公元 1511 年《颍州志》中有关玉米的记载。

### 3.2 在自然界中生存繁殖能力

玉米是一年生植物, 被认为没有也不可能演化为杂草。籽粒 (种子) 是唯一有生存力的结构。玉米籽粒的生存取决于温度、籽粒的湿度、基因型、苞叶的保护和发育

阶段。极冷的温度对玉米种子发芽有不良作用，被视为玉米种子生产的主要危险。有报告说，高于 45℃ 的温度对玉米种子的成活力也有损害。在玉米开花期持续高温（38℃ 以上）会影响花粉的活力，进而降低玉米的结实率。玉米是比较耐旱的作物，其抗旱性主要表现在苗期，但玉米的耐盐性不高。栽培玉米作为完全驯化的植物，没有人类的管理，不能存活（Dowswell *et al.*, 1996）。

### 3.3 抗病、虫、草性

玉米品种间由于遗传背景不同，对玉米病虫害的抗性存在很大的差异。通过人们的多年选育，通过常规育种方法，已培育出对不同病虫害有不同程度抗性的品种，但尚未见有对杂草有抗性的玉米栽培种。

### 3.4 落粒性与自生苗

由于玉米穗的构造，籽粒生长在穗轴上，外面还有苞叶包被，籽粒很难自行脱落，单个种子的扩散在自然界很难发生。田间遗落的雌穗是因玉米植株倒折后所致，出现的自生苗也常于雌穗遗落位置成簇出现，较难发育成正常的植株。

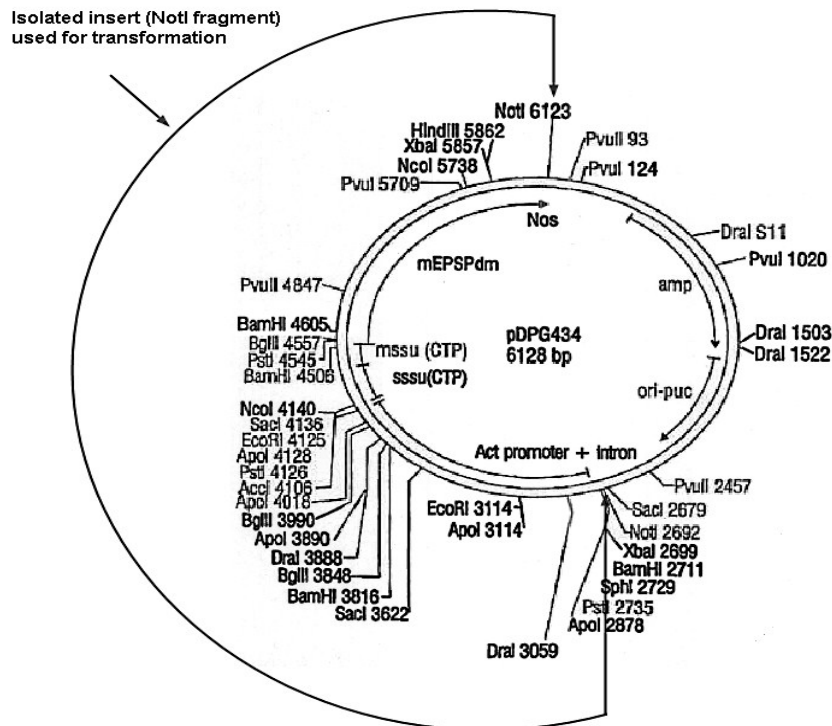
### 3.5 安全应用史

人类食用玉米已有上千年的历史了，玉米提供给人类生存所需要的各种营养。因其漫长的栽培历史，玉米已经具有与周围生态环境共存的特性，因此，对生态环境中的许多生物是安全的。从玉米栽培到目前为止，有文字记载的历史中，没有有关玉米对人类健康和其它生物产生不利影响的记载和报道。作为人类的基本食物之一，很多地区的人们使用玉米来制备面包、小吃和发酵食品，目前，人们食用玉米所产生的健康问题，是由微生物毒素和致病性微生物引起的，并不是玉米本身所造成的。因此，玉米具有长期安全食用的历史。作为受体植物的玉米不会对人类的健康产生危害或不利的影 响，根据农业部“农业转基因生物安全评价管理办法”第九条的规定受体植物玉米的安全等级应为 I 级。

## 4. 基因操作

### 4.1 转化载体及各遗传元件的来源和功能

GA21 玉米转化所用的 pDPG434 质粒载体，大小为 6,128 bp，来源于农杆菌 Ti 质粒，示意图如下。载体是安全的，无致病性。整合到 pDPG434 质粒的元件列于附表 10 和附表 11。



附图 14 pDPG434 质粒图谱以及用于 Southern 分析的限制酶酶切位点

pDPG434 质粒包括肌动蛋白（actin）、OTP、mEPSPS 和 NOS。AMP 和 ColEI 是载体 pDPG434 质粒骨架的构成部分。各种元件简述如下：

附表 10 GA21 中的 *NotI* 限制性内切酶功能元件

遗传元件	来源和功能
actin	水稻肌动蛋白 1 基因的 5' 端区域，包含启动子、第一个外显子和第一个内含子（McElroy <i>et al.</i> 1990）
OTP	N-端叶绿体转移肽（CTP） 序列基于玉米和向日葵中 CTP 序列，将改良的 5-烯醇丙酮酸莽草酸-3-磷酸合成酶（mEPSPS）蛋白定位于叶绿体（LeBrun <i>et al.</i> , 1996）
mepsps	序列编码修饰过的玉米 mEPSPS 蛋白，对草甘膦抗性（Leburn <i>et al.</i> , 2003）
NOS	来自土壤农杆菌 T-DNA 的胭脂碱合成酶基因 3'端非翻译区，终止转录并引导 mRNA 的多腺苷酸化（Depicker <i>et al.</i> , 1982）

附表 11 质粒 pDPG434 的骨架的功能元件

遗传元件	来源和功能
AMP	是来自大肠杆菌的抗氨苄基因（ <i>bla</i> ），含有该基因的细菌抗青霉素，可用作细菌的选择标记（Sutcliffe, 1978）
ColEI ori	来源于大肠杆菌质粒的复制 DNA 的起源复制起点（Itoh and Tomizawa, 1978）

## 4.2 转化方法

GA21 玉米是采用基因枪法转化方法获得的。用于转化 GA21 玉米的质粒是 pDPG434，其中含有经过修饰的 *mepsps* 基因、优化叶绿体转移肽和启动子。转基因的方法采用基因枪法将质粒 DNA 导入培养细胞中。

## 5. 遗传稳定性

### Southern 杂交

利用 Southern 杂交检测了 GA21 玉米插入片段的遗传稳定性。DNA 实验材料取自 GA21 的 3 个回交世代（BC1、BC2 和 BC3），每个世代取 10 个单株的叶片混合，提取 DNA，用限制性内切酶 *HindIII* 酶切，然后与 *mepsps* 特异探针杂交。结果显示 *mepsps* 基因在 GA21 的 3 个回交世代均有表达，表明插入序列在各世代间是稳定遗传的。具体结果参见 5.3.1 节。

### 孟德尔遗传定律

此外，对不同世代 GA21 玉米的抗除草剂表型数据与预期基因型分离比（1: 1）进行了  $X^2$  测验。结果表明，所有检测世代的 GA21 的除草剂抗性的分离符合预期的 1: 1 孟德尔分离比，进一步证明 GA21 中插入序列是稳定遗传的。具体结果参见 5.3.1 节。

## 6. 环境安全评价

### 6.1 生存竞争能力

在 2005 年美国 10 个玉米种植带中对转基因 GA21 玉米及其非转基因近等基因系对照进行农业性状和产量指标观察显示，在籽粒产量、籽粒湿度、出苗率、收获种植株数、穗位高和株高等农艺性状上两者均无显著差异。说明抗除草剂性状的引入不能改变 GA21 玉米作为传统杂交种的农艺性状。

2002 年和 2003 年分别在农业部指定检测机构山东省农科院和吉林省农科院对 GA21 的生存竞争能力进行检测。结果显示，在荒地表面撒播播种，GA21 及其非转基因对照的均未出苗，或出苗率均很低（10%以下）。在 5cm 深播情况下，GA21 及其非转基因对照种子均具有 85%以上的出苗率，GA21 及其非转基因对照玉米在长势、株型、生育期等方面无差异。并且 GA21 和非转基因对照区的杂草和玉米的总覆盖率，不存在显著差异，表明二者与杂草之间的相互作用是相同的，并没有因为基因的插入而改变。在栽培地条件下，GA21 与非转基因对照，在心叶初期、抽雄期和吐丝期两者的株高、及后期产量和籽粒发芽率上不存在显著差异。GA21 与非转基因对照的田间杂草株高上也没有显著差异。对自生苗的检测显示。转基因玉米同非转基因玉米越

冬后的自生苗没有差异。具体结果详见附件 10.9 节国内环境安全检测报告。

## 6.2 基因漂移

2002-2003 年在山东省农科院和吉林省农科院对包括 GA21 玉米在内的多种转基因玉米进行了转基因玉米的基因流散风险检测。上述研究结果及国内外的其他研究均表明,在我国转基因玉米的外缘基因向近缘种传播的可能性很小,主要存在的问题是向栽培种漂移,但由于目前生产上推广种植的为玉米杂交种,收获的籽粒不会在用作种子,因此,关键的问题是严禁转基因玉米的外缘基因向周围的玉米制种田飘移。根据研究结果,玉米异交率的频率主要受隔离距离和风力、风向的影响,因此,严格按照通用的普通玉米制种田常规隔离距离 300 米进行管理,在此距离内,转基因玉米基因流散的风险完全可以减小到可忽略的程度。具体结果详见附件 10.9 节国内环境安全检测报告。

## 6.3 对靶标生物及非靶标生物的影响

GA21 玉米转入的性状为抗草甘膦类除草剂,对昆虫的抗性评价并不适用。但按照农业部的统一要求,分别对 GA21 的生物多样性进行了研究,其中也包含了对玉米常见害虫和天敌多样性的评估,结果表明,由于 GA21 为耐除草剂性状,因此对亚洲玉米螟没有抗性,同非转基因对照品种在蛀孔数量、幼虫存活数量和越冬幼虫数量上没有显著差异。对天敌种群数量检测表明,GA21 对天敌总量、捕食性天敌(如瓢虫、小花蜡、蜘蛛和草蛉)的种群数量的影响同非转基因对照相比没有显著差异。与非转基因对照玉米相比,没有影响田间害虫玉米蚜的田间种群变化动态。与对照相比在田间节肢动物物种丰富度和生物多样性指数上没有显著差别,说明转基因玉米对玉米田节肢动物多样性无明显影响。具体结果详见附件 10.9 节国内环境安全检测报告。

## 7. 食品安全

### 7.1 营养学评价

#### 7.1.1 营养成分

为评估 GA21 玉米的营养成分,测定来源于 GA21 杂交种玉米的籽粒和秸秆的关键营养成分,并与非转基因近等基因系杂交玉米的籽粒和秸秆进行比较。测定了 65 个变量并进行方差分析。通过分析籽粒中的主要成分(包括淀粉, TDF, ADF 和 NDF),矿物质,氨基酸,脂肪酸,维生素,结果表明对于大多数变量,在 GA21 杂交种和非转基因杂交种中没有显著差异。虽然在  $\beta$ -胡萝卜素,叶酸和亚麻油酸(18:2)上有显著差异,但 GA21 籽粒和非转基因籽粒的以上数据的平均值和所有其他变量均在文献报道的范围内。通过分析秸秆中类似物(包括 ADF 和 NDF),钙和磷,结果表明对于大多数变量,没有观察到统计学上显著性差异。虽然在糖类水平上发现微小显著性差异,但秸秆中所有检测到的变量的平均值,包括糖类,均在文献报道的变异范围内。

根据上述数据,来源于 GA21 的籽粒和秸秆与传统育种产生的玉米杂交种在营养成分上具有实质等同性。具体结果可详见附件 10.8 节报告原文。

#### 7.1.2 抗营养因子

来源于 GA21 杂交种和非转基因近等基因系杂交种籽粒,对其特定次生代谢物和抗营养因子进行检测。其中纤维糖,植酸,阿魏酸,  $p$ -香豆酸和所检测的其他平均值

均在文献报道的范围内。两种杂交种籽粒的估算出的胰蛋白酶抑制剂整体平均水平均在文献报道的范围内。糠醛水平在所有籽粒样品中<LOQ；除去 GA21 一个样品外，棉子糖水平在其余所有样品中<LOQ。具体结果可详见附件 10.8 节报告原文。

## 7.2 毒理学评价

GA21 中导入了 *mepsps* 基因，在转基因玉米中产生新的表达蛋白 mEPSPS 蛋白。本节提供 GA21 中 mEPSPS 蛋白的毒理学评价的相关数据和信息，主要包括体外表达蛋白质与植物中表达蛋白质的等同性分析、急性口服毒性试验、热稳定性试验、体外模拟胃液消化稳定性试验、与已知毒素蛋白氨基酸序列相似性比较、国内检测机构进行的 90 天大鼠喂养试验。

### 7.2.1 体外表达和植物中蛋白的等同性分析

重组大肠杆菌中（测试物编号 GA21-0104）表达的双突变 5-烯醇丙酮酸莽草酸-3-磷酸合成酶（mEPSPS）与转基因 GA21 玉米产生的 mEPSPS 蛋白（测试物编号 LPGA21-0105，LPGA21-0205 和 IAPGA21-0105）在生化参数方面（酶活性、分子量的确定和免疫反应活性、N-端氨基酸序列和糖基化分析）进行了比较。

结果表明，微生物和植物来源的 mEPSPS 蛋白测试物预期分子量约为 47.4kDa，与抗-mEPSPS 蛋白抗体均能产生免疫交互作用；拥有同样的 N-端氨基酸序列。并且，两种来源的 mEPSPS 蛋白均有特异性酶活性，均未发现糖基化现象。基于以上研究的生化参数证据，表明来源于大肠杆菌和 GA21 产生的 mEPSPS 蛋白具有实质等同性。具体结果详见附件 10.1 节报告原文

### 7.2.2 急性口服毒性试验

分别给两组小鼠（5 雄 5 雌）口服 0（对照）或 2000 mg mEPSPS 蛋白/kg 体重（来源于 GA21-0104 测试物），以 0.5% w/v 水溶性羧甲基纤维素作为对照物和溶剂。研究过程中进行临床观察、称重和摄食量记录，并在第 15 天进行病理学分析后尸检。

试验结果表明，未发现有疾病或感染的症状。所有的雌性和雄性小鼠在临床表现、体重、摄食量、临床病理、器官重量、宏观或显微病理方面不存在和服用 2000 mg mEPSPS 蛋白/kg 体重有关的效应。具体结果详见附件 10.2 节报告原文。

### 7.2.3 热稳定性

将试验物质 GA21-0104 在各种温度条件（25、37、65 和 95℃）下分别保持 30 分钟，之后测定特异性酶活性，研究温度对 mEPSPS 蛋白的影响。

结果表明，试验物质 GA21-0104 所含的 mEPSPS 蛋白在 25 和 37℃ 下处理 30 分钟后，酶活性有少量或未受到影响。在 65℃ 和更高温度下处理 30 分钟后，mEPSPS 酶活性完全丧失。虽然 mEPSPS 蛋白在 37℃ 下（包含 37℃）培养 30 分钟是稳定的，但在 65℃ 和更高温度下会失去稳定性。具体结果详见附件 10.3 节报告原文。

### 7.2.4 体外模拟胃液消化稳定性试验

应用 SDS-PAGE 和 Western 蛋白印迹的方法对来自 GA21 玉米（被测物质 IAPGA21-0105）和微生物的（GA21-0104 测试物）的 mEPSPS 蛋白在含胃蛋白酶的模拟哺乳动物胃液（SGF）的降解情况进行了评估。

结果表明，来自 GA21 玉米和重组大肠杆菌（*E.coli*）的 mEPSPS 蛋白在 SGF 环境

下都非常容易降解。这两种来源的 mEPSPS 蛋白在 SGF 环境下消化 1 分钟后, 通过 SDS-PAGE 和 Western 杂交分析评价, 未检测出任何完整的 mEPSPS (分子质量约为 47.5 kDa)。在 SGF 环境下反应 5 分钟后, 未检测到任何具有免疫反应活性的 mEPSPS 蛋白质片段。结果表明, 在 GA21 玉米中表达的 mEPSPS 蛋白在一般的哺乳动物胃环境下非常容易消化。具体结果详见附件 10.4 节报告原文。

### 7.2.5 与已知毒素蛋白氨基酸序列相似性比较

为确定 mEPSPS 蛋白和已知的毒素蛋白是否存在任何显著的氨基酸序列同源性, 利用 BLASTP 程序搜索了 NCBI Entrez<sup>®</sup> 蛋白数据库 (NCBI)。

结果显示, 搜索显示的 5042 条与 mEPSPS 蛋白具有显著同源性的蛋白序列中, 没有已知或推断的毒素蛋白。具体结果详见附件 10.5 节报告原文。

### 7.2.6 国内指定机构进行的大鼠 90 天喂养

2003 年在农业部指定的检测机构, 即中国疾病预防控制中心营养与食品安全所对 GA21 玉米及其对照进行大鼠 90 天喂养试验。将选择的 120 只大鼠随机分 3 组, 雌雄各半, 分别饲喂 GA21 玉米饲料、GA21 亲本玉米饲料和普通对照饲料。每周称体重并计算进食量。于试验中期 (45 天) 测血常规和血生化指标于试验末期 (90 天) 断头取血测血生化指标, 解剖取脏器做病理组织学检查。

结果显示大鼠活动、生长未见异常, 体重和食物利用率与亲本玉米组和普通对照组均无显著差异。试验中期 (45 天) 和末期 (90 天) 测定的血液学指标 (白细胞计数及其分类、红细胞计数、血小板计数、血红蛋白)、血液生化指标 (血清丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、尿素氮、胆固醇、甘油三酯、血糖、乳酸脱氢酶、总蛋白、白蛋白、肌酐、碱性磷酸酶) 均在该检测机构的历史检测范围内。GA21 玉米组各脏器与亲本玉米组无显著性差异; 病理学检查也均未见 GA21 玉米对被检脏器产生有意义的病理学组织学改变。

因此 GA21 玉米组与亲本和普通对照组比较, 未发现 GA21 玉米对试验大鼠有生物学意义的改变。具体结果详见附件 10.10 节报告原文。

## 7.3 致敏性评价

mEPSPS 蛋白不为食物过敏原的理由包括: (1) mEPSPS 蛋白非衍生自任何已知的过敏性蛋白; (2) mEPSPS 蛋白不含任何已知过敏性蛋白氨基酸序列; (3) mEPSPS 蛋白在 65℃ 以上温度作用后会失去稳定; (4) mEPSPS 蛋白在一般的哺乳动物胃环境下非常容易消化。

支持以上结论的部分试验结果已在上述第 7.2 节毒理学评价部分陈述, 本节下文总结新蛋白与已知过敏原蛋白序列的相似性分析。

### 7.3.1 新蛋白与已知过敏原蛋白序列相似性分析

为确定 mEPSPS 蛋白氨基酸序列是否与任何已知或假定的过敏原蛋白存在序列同源性, 通过两种方法搜索了 FARRP 过敏原数据库 (The Food Allergy Research and Resource Program Protein Allergen Online Database (13.0 版)), 该数据库中包括 1603 条已知或假定的过敏原记录。

用 FASTA 方法搜索全长序列和搜索具有 8 个或以上相邻氨基酸序列完全匹配的方法来对比每个已知或潜在过敏原。第一个方法中没有搜索到任何与过敏原蛋白存在



35%以上序列的同源性；第二个搜索结果中，在 FARRP 过敏原数据库中没有搜索到任何与 mEPSPS 蛋白具有 8 个或以上相邻氨基酸序列的同源性。研究结果证明，mEPSPS 蛋白与已知或假定的过敏原蛋白质没有显著的氨基酸序列同源性。具体结果详见附件 10.6 节报告原文。

#### 7.4 抗生素抗性

虽然载体骨架中中带有有一个 *amp* 基因，作为转化中的选择性标记，但该基因在转化过程中已被限制性内切酶切掉，因此 GA21 玉米中不含任何编码抗生素的基因。

#### 8. 非预期效应

从大量现有的 GA21 的环境安全、食用安全评价试验及其多年的使用安全史来看，结果如预期的一样，表明 GA21 是安全的，未发现非预期效应。在中国境内的环境安全和食用安全检测结果也是如此，未发现非预期效应。

#### 9. 生产应用前景及拟采取的安全监控措施

中国是世界上的玉米生产大国，也是玉米消费大国。据中国海关总署数据显示，2011 年中国玉米进口量为 175 万吨，2012 年进口玉米 520 万吨，同比增长近两倍。2013 年 7 月玉米进口量 7.27 万吨，环比增加 829%，预计未来玉米将逐步适当扩大进口量。GA21 玉米可以使农民使用含草甘膦除草剂控制玉米农田杂草，同时为玉米产业带来更多的经济效益。

2004 年 2 月，耐除草剂转基因玉米 GA21 首次获得农业部颁发的转基因安全证书作为进口加工原料。通过 3 次续申请沿用至今。作为供应商，先正达公司在安全证书的使用上，严格遵守中国的相关法律法规以及安全证书的要求。在提供安全证书复印件给境外贸易商时，要求贸易上同时签订相关协议书确保其在进口过程中的安全操作，并按照相关法律，要求贸易商在将玉米作为加工原料进口过程中采取相应的监控措施。对加工企业也进行相应的监管。

#### 10. 结论

GA21 转基因耐草甘膦除草剂玉米在 1997 年分别获得美国 USDA 和 FDA 批准后，陆续获得了包括加拿大在内的 20 个国家的批准。在此期间大量的环境安全、食用安全评价及由中国农业部指定的检测机构进行的国内环境安全、食用安全检测结果均表明 GA21 对环境、食用方面的安全性，未发现可预期的风险。

## 附件 7 该类转基因植物国内外生产应用概况

2012 年种植了 5510 万公顷的转基因玉米——比去年增长了 8%（410 万公顷）。有 17 个国家种植了转基因玉米。有 5 个国家种植面积超过了 100 万公顷，分别为美国（3410 万公顷）、巴西（1210 万公顷）、阿根廷（330 万公顷）、南非（240 万公顷）和加拿大（160 万公顷）。国家层面增长最快的为巴西，增长了 300 万公顷。2012 年在欧洲，有 5 个国家继续种植转 Bt 基因玉米 129,071 公顷。比 2011 年增长了 13%。转基因玉米一个重要的特征为转复合性状玉米。

在亚洲和拉丁美洲一些经济较为发达的国家种植比率要超过北美和欧洲，用于生产饲料的玉米的大幅增加以满足消费者不断增高的肉食需求。这是由于人们变得更加富有并有更多的剩余价值去利用。同时，在美国玉米总种植面积的 40%到 50%继续用于酒精产品。

2012 年抗除草剂玉米排在占主导地位的转基因作物中第 5 位，种植面积为 780 万公顷，比 2011 年增长了 10 万公顷，占全球总转基因作物种植面积的 5%，并分别在美国、巴拉圭、巴西、阿根廷、南非、菲律宾、洪都拉斯和智利共 9 个国家种植（ISAAA，2012）。

## **附件 8 田间监控方案，包括监控技术、抗性治理措施、长期环境效应的研究方法等；**

GA21 玉米仅涉及进口用作加工原料安全证书的申请。根据农业部要求，在国内由指定检测机构进行了小规模控制条件下 GA21 玉米的环境安全检测。试验方案由检测机构依据相关法规要求及技术标准制定。检测机构拥有完备的转基因植物田间试验所需的场地、人员及技术等条件。

在对进口用作加工原料的转基因玉米进行环境生态安全性评估验证时，选择好符合试验地周围 300 米隔离条件完好的地块，并指定专人负责，设立标志，阻止非工作人员进入或接近试验区，确保将可能出现的风险降低的最小程度。同时，检测试验结束后，要有相应的措施，防止转基因植物的残留和扩散。在检测试验结束后，第二年严禁在同一地块种植相同的作物，并对试验地进行检测，及时清除可能出现的自生苗，并采取相应的措施处理意外情况。

## 附件 9 境外公司出口的转基因生物在输出国家或地区已经允许作为相应用途并投放市场的证明文件

附表 12 GA21 玉米全球审批情况

国家	目的	批准时间
美国	种植	1997 年 11 月
	食用、饲用、加工	1998 年 2 月
加拿大	种植	1998 年 4 月
	饲用	1998 年 7 月
	食用	1999 年 5 月
巴西	食用、饲用、种植	2008 年 10 月
阿根廷	食用、饲用、种植	2005 年 8 月
欧盟	食用、饲用、加工	2008 年 3 月
韩国	饲用、环境	2005 年 12 月
	食用	2002 年 12 月
日本	食用	1999 年 11 月
	饲用	1999 年 12 月
	环境	1999 年 12 月
中国台湾	食用	2003 年 7 月
澳大利亚/新西兰	食用	2000 年 11 月
菲律宾	食用、饲用、加工	2003 年 11 月
	种植	2009 年 11 月
白俄罗斯	食用	2011 年 7 月
哥伦比亚	饲用	2010 年 7 月
	食用	2012 年 6 月
	种植	2010 年 9 月
印度尼西亚	食用	2011 年 8 月
哈萨克斯坦	食用	2011 年 7 月
俄罗斯联邦	食用	2007 年 2 月
	饲用	2007 年 11 月
墨西哥	食用、饲用、加工	2002 年 4 月
南非	食用、饲用、加工	2002 年 10 月
	种植	2010 年 12 月

土耳其	种植	2011 年 12 月
乌拉圭	食用、饲用、种植	2011 年 6 月

以下为几个主要国家（美国、加拿大、巴西、阿根廷、欧盟、澳大利亚/新西兰）的审批原件和参考译文。

## 美国农业部（USDA）对 GA21 玉米解除监控地位

（参考译文）

### USDA/APHIS 对 GA21 玉米以非规范性法律地位决定的申请（97-099-01p）

1997 年 7 月 30 日

Ray Dobert 博士

BBEP, APHIS, U.S. Department of Agriculture

4700 River Road, Unit 147

Riverdale, MD 20737-1237

关于：对 GA21 抗除草剂玉米解除监管地位的请求书（97-099-01p）的修订稿

尊敬的 Dobert 博士，

附件中的两份材料为 GA21 抗除草剂玉米解除监管地位的请求书（97-099-01p）的修订稿。该修订稿由 Monsanto 公司和 DEKALB Genetics 公司共同起草，针对在完整性检验时提出的有关问题及建议给予答复。修订稿替换了 1997 年四月 9 号初次提交的申请书的第一列内容，及所有的附件材料，而第二列内容（附件 III：USDA 田间试验终止报告）保持不变。两份修改过的非保密性文件也一同附上。

如您有任何疑问，可随时联系 Russ Schneider 博士（202-383-2866）或我本人（314-737-7054）。

诚挚地，

J-N Mutz

抗除草剂玉米，法规事务部经理

(扫描原件)

July 30<sup>th</sup>, 1997

Dr. Ray Dobert  
BBEP, APHIS, U.S. Department of Agriculture  
4700 River Road, Unit 147  
Riverdale, MD 20737-1237


Subject: Revised version of Petition 97-099-01p for  
Determination of Nonregulated Status of  
Roundup Ready Corn Line GA21.

Dear Dr. Dobert,

Please find attached two copies of a revised version of petition 97-099-01p for Determination of Nonregulated Status of Roundup Ready Corn Line GA21. The present revised version proposed by Monsanto Company and DEKALB Genetics Corporation has been prepared to address the questions and comments raised during the review for completeness. This revised version replaces the Volume I of the petition submitted initially on April 9<sup>th</sup>, 1997 and all the documents exchanged with you since the beginning of the review. The Volume II of petition 97-099-01p (Annex III: USDA Field Trial Termination Reports) remains unchanged. Two revised non-confidential copies are also enclosed.

Should you have any questions, please feel free to contact either Dr. Russ Schneider at 202-383-2866 or myself (314-737-7054).

Sincerely,



J-N Mutz,  
Regulatory Affairs Manager, Roundup Ready Corn

## 美国食品药品管理署（FDA）-GA21

（参考译文）

### 健康及人类服务处通知文件

（BNF 000051）

1998 年 2 月 10 日

#### 关键词：

玉米，除草剂耐受性，草甘膦（N-(膦酰基甲基)甘氨酸），5-烯醇式丙酮酸莽草酸-3-磷酸合成酶（EPSPS）

#### 研究背景

1997 年 8 月 19 日，Monsanto 公司递交了一份有关 GA21 玉米转化体及其后代安全性评价的综合报告。同时还递交了有关抗农达玉米 GA21 的安全性及营养成分的分析报告。

#### 用作食用及饲用的潜在风险

该基因改良玉米潜在的技术风险，即对除草剂草甘膦（农达）的活性成分 N-(膦酰基甲基)甘氨酸的耐受性。

据递交资料描述，抗农达玉米 GA21 可表达一个经修饰的玉米 5-烯醇式丙酮酸莽草酸-3-磷酸合成酶（EPSPS），该酶对草甘膦具有耐受性。

#### 分子特征特性

采用微弹轰击（基因枪法）的转化方法，将质粒载体片段转化得到 GA21 玉米，综合报告中描述了该玉米的部分功能特性。修饰的 EPSPS 基因先亚克隆到 pDPG434 载体上，然后再转化玉米。转化载体表达盒包含水稻肌动蛋白启动子和内含子，融合叶绿体转移肽序列的玉米 *mepsps* 基因，及来自土壤农杆菌的胭脂碱合成酶（NOS）基因的非翻译区。这些载体的构建信息为保密的商业资料。

Monsanto 公司提供了大量数据证明 GA21 玉米转化体含有上述 DNA 插入序列。该插入序列含有两个拷贝的玉米 EPSPS 基因表达盒，另外一个拷贝只含有水稻肌动蛋白启动子和 *mepsps* 基因，但不含有 NOS 终止子。插入序列不含有任何 *mepsps* 基因表达盒之外的载体成分。Monsanto 公司还提供了大量数据证明，插入序列是按孟德尔单基因模式，在 6 个连续世代稳定遗传。

#### 蛋白质表达

GA21 玉米表达一个新的修饰蛋白：5-烯醇式丙酮酸莽草酸-3-磷酸合成酶（EPSPS）。Monsanto 公司证明了，EPSPS 经修饰后降低了与草甘膦的亲合力，使得 EPSPS 合酶具有草甘膦耐受性。EPSPS 合酶普遍存在于所有植物中。

Monsanto 公司提供了数据证明：1）修饰的 EPSPS 蛋白不是已知的过敏原蛋白；2）修饰的 EPSPS 蛋白与已知的过敏原及毒蛋白没有序列同源性；3）修饰的 EPSPS 蛋白与野生型玉米及食用作物中的 EPSPS 合酶具有很高的序列同源性（99.3%）；4）修



饰的 EPSPS 蛋白在模拟胃液环境中能够快速降解；5) 修饰的 EPSPS 蛋白的饮食暴露量非常低。

#### 组成成分检测

Monsanto 公司提供了数据证明，除具有除草剂耐受性外，抗农达玉米 GA21 与市售的常规玉米在本质上没有显著差异。Monsanto 公司提供的大量组成成分的检测数据，证明了 GA21 玉米谷物中的重要组成成分（蛋白质、脂肪、碳水化合物、灰分、酸性去污剂及中性洗涤纤维、脂肪酸、氨基酸和水分）和饲料中的重要组成成分（蛋白质、脂肪、碳水化合物、灰分、酸性去污剂及中性洗涤纤维、钙、磷和水分）含量水平与非转基因对照玉米中的含量相当，且位于已公开的数据范围之内。

#### 结论

Monsanto 公司提交的数据已经证明，GA21 玉米转化体与目前用于种植、生产加工、贸易及用于动物饲料和人类食用的商品玉米，在组成成分、营养因子及安全性方面没有显著差异。现在，基于 Monsanto 公司提交的检测数据及分析结果，FDA 健康及人类服务处决定 Monsanto 公司已经对 GA21 玉米转化体进行了全面的检测。

Vincent Zenger 博士

(扫描原件)

DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES  
NOTE TO FILE

(BNF 000051)

February 10, 1998

Keywords:

Corn, *Zea mays*, Herbicide Resistance, Glyphosate (N-phosphonomethyl-glycine), 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS)

Background

In a submission dated August 19, 1997, Monsanto provided summary information to support their safety assessment of genetically modified corn (*Zea mays*), specifically transformation event GA21 and progeny derived therefrom. As a supporting document, this submission also contained the safety and nutritional assessment of Roundup Ready corn line GA21.

Intended Effect and Food/Feed Use

The intended technical effect of this genetic modification of corn is to confer tolerance to the herbicidal compound N-phosphonomethyl-glycine, the active moiety of glyphosate (Roundup).

According to Monsanto, their Roundup Ready corn line GA21 has been modified to express a modified version of the corn enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS). The modified version of EPSPS has been reported to be tolerant to glyphosate.

Molecular Alterations and Characterization

Monsanto described the partial identity and function of the genetic material introduced into corn by a particle acceleration transformation system using agarose gel-isolated plasmid vector fragments. The modified EPSPS gene was transformed into corn after being isolated on a fragment of the plasmid vector pDPG434. The fragment contained only the modified corn EPSPS gene fused to an optimized chloroplast transit peptide sequence, under control of the rice actin promoter and intron, and a nontranslated region of the nopaline synthase (NOS) gene from *Agrobacterium* in the form of a gene cassette. The exact construction details of the plasmid pDPG434 are considered by Monsanto to be confidential business information.

Monsanto presented data and information that allowed the firm to conclude that corn line GA21 contains one DNA insert. The insert contains two copies of the modified corn EPSPS gene cassette, and a third copy which has been demonstrated to contain the rice actin promoter and modified EPSPS gene without the NOS end. The insert did not contain any DNA from outside the modified corn EPSPS gene cassette, the DNA intended to be transferred. Monsanto also presented evidence that the insert remained stably

integrated in the plant genome through six successive generations and was inherited in accordance to the Mendelian single gene model.

#### Expressed Protein

One new protein, the modified enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), is expressed in the corn line GA21. Monsanto stated that the EPSPS enzyme confers the glyphosate-tolerant phenotype because the modified EPSPS has a reduced affinity for glyphosate. EPSPS enzymes have a common function and are found in all plants.

Monsanto presented data and information that allowed the firm to conclude that 1) the modified EPSPS protein is not known to be an allergen; 2) the modified EPSPS does not bear sequence homology to known allergens and toxins; 3) the modified EPSPS protein shows a high (99.3%) sequence homology to the wild type corn enzyme as well as to other EPSPSs found in food crops; 4) the modified EPSPS protein is rapidly degraded under simulated gastric conditions; and 5) dietary exposure to the modified EPSPS protein will be very low.

#### Compositional Analysis

Monsanto presented data that allowed the firm to conclude that the Roundup Ready corn line GA21 is not materially different in any meaningful way from corn varieties now being sold except for the tolerance to Roundup herbicide. Monsanto presented the results of extensive compositional analyses that demonstrate that the levels of important components in corn grain (protein, fat, carbohydrate, ash, acid detergent and neutral detergent fiber, fatty acids, amino acids, and moisture) and forage (protein, fat, carbohydrate, ash, acid detergent and neutral detergent fiber, calcium, phosphorus and moisture) in this line are comparable to nontransgenic corn control lines and to available published literature ranges.

#### Conclusions

Monsanto has concluded that corn containing transformation event GA21 is not materially different in composition, nutrition, and safety from corn currently grown, processed, marketed, and consumed for animal feed or human food. At this time, based on Monsanto's description of its data and analyses, the Agency considers Monsanto's consultation on corn from varieties containing transformation event GA21 to be complete.

Vincent Zenger, Ph.D.

## 加拿大食品监督局（CFIA）——种植，饲用（翻译第一页）

植物健康和生产部门

植物生物安全办公室

### 决议文件 1999-33

#### 有关孟山都加拿大有限公司的 Roundup Ready™ 玉米（*Zea mays* L.）品系 GA21 的决定

参考 Dir94-08《新性状植物的环境安全评价标准》，Dir94-11《玉米生物学》和 Dir95-03《带有新性状植物作为牲畜饲料评价标准的指南》文件下，此文件用于说明在参考以上文件下的法律解释。


加拿大食品检查机构（CFIA）特别是植物健康和生产部门的植物生物技术办公室（PBO）和动物健康和生产部门的饲料部，根据植物健康危害评估小组的信息已对孟山都加拿大有限公司提交的相关信息进行了评价。提交的信息是有关抗草甘膦除草剂的玉米品系 GA21。在与现今加拿大已商业化的玉米比较后，CFIA 决定带有新性状的植物没有与环境发生表现出改变环境的效应或者对食用了这种带有新性状植物的饲料的牲畜有影响。

1998 年 4 月 23 日授权玉米品系 GA21 可以自由释放到环境中并用于牲畜饲料使用。其他玉米品系和来源于同样转化事件的种内杂交及其后代，也可以自由释放到环境中并用于牲畜饲料使用，不会出现种间杂交，使用目的相同，这些植株不会表现任何其他新性状的特性，并在对环境潜在影响和牲畜饲料安全方面与现今种植玉米实质等同。

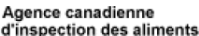
**GA21 玉米应该与未进行改造的玉米符合相同的检疫进口需求。**

请注意，带有新性状的植物作为牲畜饲料和对环境安全的决定对这些植物类型的商业化是非常重要的步骤，也应满足如食品安全评价（Health Canada）的其他要求。

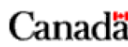
原件（部分）：



Canadian Food  
Inspection Agency



Agence canadienne  
d'inspection des aliments



Français

Contact Us

Help

Search

Canada Site

Table of Contents

What's New

Acts and Regulations

Site Map

Food Safety

Animal Health

Plant Protection

Corporate Affairs

Quick Pick By Commodity / Key Topic

- [Main Page - Plant Biosafety Office](#)
- [Main Page - Plant Health and Production Division](#)
- [The Regulation of Plants With Novel Traits in Canada](#)
- [Guidelines for the Environmental Release of Plants with Novel Traits within Confined Field Trials in Canada \(Dir2000-07\)](#)
- [Decision Documents](#)
- [Contacts](#)

Plant Health and Production Division,  
Plant Biosafety Office

Decision Document 1999-33:  
Determination of the Safety of Monsanto Canada Inc.'s  
Roundup Ready™ Corn(Zea mays L.) Line GA21

This Decision Document has been prepared to explain the regulatory decision reached under the guidelines [Dir94-08 Assessment Criteria for Determining Environmental Safety of Plants with Novel Traits](#) and its companion document [Dir94-11 The Biology of Zea mays L. \(Corn/Maize\)](#) and the guidelines [Dir95-03 Guidelines for the Assessment of Livestock Feed from Plants with Novel Traits](#).

The Canadian Food Inspection Agency (CFIA), specifically the Plant Biotechnology Office (PBO) of the Plant Health and Production Division and the Feed Section of the Animal Health and Production Division, with input from the Plant Health Risk Assessment Unit, has evaluated information submitted by Monsanto Canada Inc. This information is in regard to the glyphosate tolerant corn line GA21. The CFIA has determined that this plant with a novel trait does not present altered environmental interactions or pose concerns for the safety of livestock consuming feed derived from this PNT, when compared to currently commercialized corn varieties in Canada.

Unconfined release into the environment and use as livestock feed of the corn line GA21 is therefore authorized as of April 23, 1998. Any other *Zea mays* lines and intraspecific hybrids resulting from the same transformation event and all their descendants, may also be released into the environment and used as livestock feed, provided no inter-specific crosses are performed, provided the intended use is similar, provided it is known following thorough characterization that these plants do not display any additional novel traits and are substantially equivalent to currently grown corn, in terms of their potential environmental impact and livestock feed safety.

The GA21 corn line is subject to the same phytosanitary import requirements as its unmodified counterparts.

Please note that, while determining the livestock feed and environmental safety of plants with novel traits are critical steps in the commercialization of these plant types, other requirements still need to be addressed, such as the evaluation of food safety (Health Canada).

Table of Contents

I. [Brief Identification of the Plant with a Novel Trait \(PNT\)](#)

II. [Background Information](#)

III. [Description of the Novel Traits](#)

1. [Glyphosate Tolerance](#)

2. [Development Method](#)

3. [Stable Integration into the Plant's Genome](#)

1999 年 10 月

新食品信息——食品生物技术

抗草甘膦除草剂玉米，GA21

Health Canada 对孟山都加拿大有限公司的转基因玉米品系 GA21 用于食品没有任何异议，GA21 为抗草甘膦除草剂 Roundup<sup>®</sup>特性。有关部门根据《新食品安全评估指南》（1994 年 9 月）的规定对 GA21 做了全面的评估。指南是基于国际承认的有关转基因生物食品安全的规定。

**背景：**

有关孟山都加拿大有限公司对 Health Canada 的通告的摘要如下，其中不包含商业机密信息（CBI）。

**1. 引言**

GA21 品系玉米（*Zea mays* L.）为通过特定的基因改造表现出对草甘膦除草剂产生抗性。此新品种来源于在自交系 AT 玉米品种中插入一个拷贝玉米 5-烯醇丙酮酸莽草酸-3-磷酸合成酶（mEPSPS）编码的基因，用于芳香族氨基酸（苯丙氨酸，酪氨酸，色氨酸）的生物合成。此酶存在于植物，细菌和真菌中，不存在于动物中，并不影响动物自身芳香族氨基酸的合成。并且，EPSPS 普遍存在于来自植物和微生物的产生的食物中。改造过的玉米品系允许农民使用草甘膦除草剂，如 Roundup<sup>®</sup>，用于控制玉米耕作期间杂草。

## NOVEL FOOD INFORMATION - FOOD BIOTECHNOLOGY

### GLYPHOSATE TOLERANT CORN, GA21

Health Canada has notified Monsanto Canada Inc. that it has no objection to the food use of the transgenic corn line GA21, which has been developed to be tolerant to glyphosate containing herbicides, specifically Roundup®. The Department conducted a comprehensive assessment of line G21 according to its *Guidelines for the Safety Assessment of Novel Foods* (September 1994). These guidelines are based upon internationally accepted principles for establishing the safety of foods derived from genetically modified organisms.

#### **BACKGROUND:**

The following provides a summary regarding the Monsanto Canada Inc. notification to Health Canada and contains no confidential business information.

#### **1. Introduction**

The GA21 line of corn (*Zea mays* L.) was developed through a specific genetic modification to be tolerant to glyphosate containing herbicides. The novel variety was developed from the inbred AT corn variety by insertion of an additional copy of the maize 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) encoding gene, which had been modified to be glyphosate tolerant. Glyphosate specifically binds to and inactivates EPSPS, which is involved in the biosynthesis of the aromatic amino acids tyrosine, phenylalanine and tryptophan. This enzyme is present in all plants, bacteria and fungi, but not in animals, which do not synthesize their own aromatic amino acids. Thus, EPSPS is normally present in food derived from plant and microbial sources. The modified corn line permits farmers to use glyphosate containing herbicides, such as Roundup®, for weed control in the cultivation of corn.

#### **2. Development of the Modified Plant**

The GA21 corn line was created through direct DNA transformation by microparticle bombardment of plant cells with DNA-coated gold particles and regeneration of plants by tissue culture on selective medium. The DNA restriction fragment used for transformation contained a copy of the EPSPS encoding gene originally isolated from maize and subsequently modified to be insensitive to inactivation by glyphosate. Constitutive expression of the mEPSPS encoding gene was controlled by inclusion of sequences from the rice actin promoter and the 3'-polyadenylation signal of the nopaline synthase (*nos*)

---

This Novel Food Information document has been prepared to summarize the opinion regarding the subject product provided by the Food Directorate, Health Protection Branch, Health Canada. This opinion is based upon the comprehensive review of information submitted by the petitioner according to the *Guidelines for the Safety Assessment of Novel Foods*.

(Également disponible en français)

For further information, please contact:

Office of Food Biotechnology  
Food Directorate  
Health Protection Branch  
Health Canada  
Tunney's Pasture  
Ottawa, Ontario K1A 0L2

Telephone: (613) 941-5535  
Facsimile: (613) 952-6400

## 巴西国家生物安全技术委员会（CTNBio）——食用、饲用、种植（翻译部分）

### 第 1597/2008 号技术意见 – 转基因玉米 GA21 的商业化释放 第 1597/2008 号技术意见

项目：01200.00.000062/2006-21

申请人：先正达种子有限公司

法人税号：49.156.326/0001-00

地址：Avenida Nações Unidas, 1801, 4º Andar, 04795-900 São Paulo, SP。

事件：转基因玉米的商业化释放。

之前的摘录：421/2006，2006 年 2 月 21 日发布。

会议：第 116 次国家生物安全技术委员会（CTNBio）例会，2008 年 9 月 18 日召开。

决定：同意。

继与抗草甘膦转基因玉米（GA21 品系 GA21 玉米）、GA21 转基因玉米的所有子代、GA21 玉米与非转基因玉米杂交产生的衍生品以及世系携带 GA21 品系基因的玉米群落商业化释放有关的技术意见申请被批准之后，国家生物安全技术委员会（CTNBio）支持根据本技术意见的条件作出的同意决定。

先正达种子有限公司向 CTNBio 申请提供自由登记、使用、试验、测试、播种、运输、储存、销售、消费、进口、释放和丢弃抗草甘膦玉米（*Zea mays*, L.）的技术意见。GA21 玉米是借助悬浮细胞培养物通过基因枪法培育的，所用的质粒 pDPG434 来自分子生物学领域常用的载体 pSK，后者又是通过 pUC19 获得的。基因中的插入元件被包含在 NotI 限制性酶切片段中，该酶切片段含有用于培育 GA21 玉米的表达盒。GA21 玉米含：充当启动子的水稻 *actin 1* 基因，编码 mEPSPS 蛋白和对草甘膦除草剂产生抗性的 *mepsps* 基因（改良玉米 *epsps* 基因），负责转录终止的 *nos* 基因，负责分解 mEPSPS 蛋白使其进入叶绿体的 OTP 序列。该基因构建体被用于将 *mepsps* 基因插入玉米基因组中，它是通过稳固插入让作物对草甘膦除草剂具有抗性的该基因的一个功能性拷贝获得的。GA21 玉米中表达的 mEPSPS 酶氨基酸序列与常规玉米内源酶氨基酸序列有 99.3% 相同，而后的表达量明显低于 GA21 玉米的 mEPSPS 蛋白。在 GA21 品系玉米的大多数组织中已检测出可定量的 mEPSPS 蛋白。据知，在 GA21 玉米中引入的序列或其供体的序列对人或动物均无致病作用。EPSPS 蛋白普遍存在于自然界，存在于用植物和微生物制造的食品中，包含在人类和动物每天的饮食中。科学家已对玉米籽粒不同的营养成分进行了食品学实验和定量实验。分析表明，被测成分含量的波动范围没有超出玉米营养成分含量的自然波动范围。对于 *mepsps* 基因被转入或表达之后，玉米籽粒或秸秆的组成成分或营养价值是否出现有生物学意义的变化，没有出现所有样品一致表明它们发生了有生物学意义的变化情况。分析 mEPSPS 酶中插入的氨基酸表明，这些氨基酸与对哺乳动物有毒的蛋白质无任何同源性，预计对人不会有毒性作用。利用高剂量提纯蛋白在动物身上开展的实验也证明转基因蛋白没有毒性。在 GA21 品系玉米中表达的 mEPSPS 酶没有已知过敏原的典型特征。比较转基因蛋白的序列与已知过敏原的序列，发现二者没有同源区。所提交的数据不仅表明食用该转基因玉米时通过肠粘膜吸收完整蛋白质的可能性极小，也表明转基因蛋白与作为引起过敏反应主要原因的抗体（包括 IgE 抗体）具有化学免疫亲和力的可能性极小。此



外，mEPSPS 酶被加在类似于胃液和肠液的溶液中时，在酸解或酶解作用下被迅速降解。根据 GA21 玉米与常规近等基因系玉米的营养和成分等同性研究数据，GA21 玉米没有代谢物有可能在食物链中聚集，包括被广泛种植的常规玉米代谢物在内。在巴西，自然环境中没有玉米的同源物种。然而，当地的自由传粉品种可能发生基因漂流，而且这种基因漂流与市场上现有的商用基因型造成的基因漂流一样危险。从农艺学的角度上讲，常规玉米（改良或本土品种）与转基因玉米的品种共存是有可能的。转基因植物变成杂草以及 GA21 玉米与其他玉米杂交产生杂草的可能性可以忽略不计，这一方面是由玉米的生物学特性决定的，另一方面是因为玉米无法在没有人为干预的情况下生存。因此，预计 GA21 玉米的环境行为类似于常规玉米。转基因植物的 *mepsps* 基因迁移到其他生物体内的可能性在现实中是不存在的。*epsps* 基因是植物、真菌和微生物体内的常见基因，广泛存在于自然界中，不会对土壤微生物群造成重大风险。除此之外，有证据表明，在自然条件下植物基因有时可被转移到细菌体内。草甘膦已在巴西农牧食品供给部（MAPA）和环境部（MMA）登记，草甘膦专题论文已被国家卫生监督局（ANVISA）批准。在 GA21 作物中使用草甘膦除草剂应遵守相关规定，比如 1989 年 7 月 11 日颁布的第 7,802 号法律（农业防御法案）。CTNBio 得出的结论是，种植和食用 GA21 玉米不是造成环境发生重大退化的潜在原因，也不会危及人类和动物健康。鉴于这些原因，该玉米及其衍生品的使用将不再受到限制，除非是在 2007 年 3 月 21 日颁布的第 11,460 号法律提到的地方。从农艺学的角度上讲，常规玉米（改良或本土品种）与转基因玉米的品种共存是可能的，它们应符合 CTNBio 第 4 号裁定决议的规定。申请人应根据 CTNBio 第 3 号裁定决议实施商业化释放后监控计划，还应根据 CTNBio 2008 年 3 月 12 日发布的第 5 号裁定决议附件 1 中的规定，从本技术意见被发布之日起三十（30）日内提交其拟定的商业化释放后监控计划。根据第 11,105/2005 号法律第 14 条，CTNBio 认为本申请符合旨在保证生物体对环境、农业及人类与动物健康安全性的相关法律法规。

具体英文内容见网站，

<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/12781.html>

### Extrato de Parecer 1597/2008

**Ano:** 2008  
**Número:** 1597  
**Tipo do Extrato:** de Parecer  
**Data de Publicação no DOU:** 14/10/2008  
**Número da Seção no DOU:** 1  
**Página no DOU:** 3

**Texto:** O Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 116ª Reunião Ordinária, ocorrida em 18 de setembro de 2008, a CTNBio apreciou e emitiu parecer técnico para o seguinte processo:

Processo nº: 01200.000062/2006-21  
Requerente: Syngenta Seeds Ltda.  
CNPJ: 049.156.326/0001-00  
Endereço: Av. das Nações Unidas 1801 - 4º andar – São Paulo – SP – CEP 04795-900  
Assunto: Liberação Comercial de Milho Geneticamente Modificado  
Extrato Prévio: 421/2006, publicado em 21/02/2006  
Decisão: DEFERIDO

A CTNBio, após apreciação do pedido de Parecer Técnico para liberação comercial de milho geneticamente modificado tolerante ao glifosato (Milho GA21, Evento GA21), bem como de todas as progênies provenientes do evento de transformação GA21 e suas derivadas de cruzamento de linhagens e populações não transgênicas de milho com linhagens portadoras do evento GA21, concluiu pelo seu DEFERIMENTO nos termos deste parecer técnico conclusivo. A Syngenta Seeds Ltda. solicitou à CTNBio Parecer Técnico para o livre registro, uso, ensaios, testes, semeadura, transporte, armazenamento, comercialização, consumo, importação, liberação e descarte de milho (*Zea mays*, L.) tolerante ao herbicida glifosato. O evento GA21 foi produzido via bombardeamento com microprojéteis de uma suspensão de células de cultura, utilizando-se o plasmídeo pDPG434, derivado do vetor pSK, o qual é comumente usado em biologia molecular e é derivado do pUC19. Os elementos destinados a inserção do gene de interesse estão contidos dentro do fragmento de restrição NotI, contendo o cassete de expressão usado para a geração do evento GA21. O milho GA21 contém o gene da actina 1 de arroz, que age como promotor; o gene mepsps (modificado do gene epsps de milho), que codifica a proteína mEPSPS e confere tolerância ao herbicida glifosato; o gene nos, responsável pela terminação da transcrição; e sequências OTP, responsáveis por dirigir a proteína mEPSPS ao cloroplasto. A construção gênica utilizada para inserir o gene mepsps em milho resultou na inserção estável de uma cópia funcional desse gene, a qual proporcionou tolerância das plantas ao herbicida glifosato. A sequência de aminoácidos da enzima mEPSPS expressa no milho GA21 é 99,3% idêntica à sequência da enzima endógena do milho convencional, que é expressa em uma concentração significativamente mais baixa do que a proteína mEPSPS do evento GA21. Concentrações quantificáveis da proteína mEPSPS foram detectadas na maior parte dos tecidos de plantas derivadas do evento GA21. Nenhuma das sequências introduzidas no evento GA21 ou de seus doadores são conhecidas como patogênicas para os seres humanos ou animais. As proteínas EPSPS são ubíquas na natureza e estão naturalmente presentes em alimentos

derivados de fontes vegetais e microbianas presentes na dieta normal de humanos e animais. Foram realizadas análises bromatológicas e quantificação de diversos componentes nutricionais do grão de milho. Tais análises indicaram que os níveis de componentes mensurados não haviam mudado além da variação natural no milho. Nenhum padrão consistente emergiu que sugerisse que mudanças biologicamente significativas na composição ou valor nutritivo do grão ou forragem ocorreram em consequência da transformação ou expressão do transgene mepsps. A análise de aminoácidos inserida na enzima mEPSPS não apresenta homologia com proteínas tóxicas para mamíferos e não se julga que apresente potencial tóxico para humanos. A ausência de toxicidade também foi comprovada com estudos em animais empregando-se altas doses de proteína purificada. A enzima mEPSPS expressa no milho com evento GA21 não possui características típicas de alérgenos conhecidos. Não há regiões de homologia quando a sequência introduzida é comparada com sequências de alérgenos conhecidos. Os dados apresentados indicaram uma probabilidade extremamente baixa desta proteína intacta ser absorvida através da mucosa intestinal durante o consumo e estabelecer afinidade imunoquímica por anticorpos, incluindo os anticorpos IgE, primariamente responsáveis pelas reações alérgicas. Além disso, a enzima mEPSPS é rapidamente degradada por hidrólise ácida e enzimática quando exposta a fluidos que se assemelham aos fluidos gástricos ou intestinais. De acordo com os dados sobre equivalência nutricional e composicional do milho GA21 em relação a sua versão isogênica convencional, nenhum metabólito do milho GA21 tem potencial para se concentrar na cadeia alimentar, além daquele já esperado para o milho convencional amplamente cultivado. No Brasil, não existem espécies aparentadas do milho em distribuição natural. Contudo, o fluxo gênico para variedades locais de polinização aberta é possível, mas apresenta o mesmo risco causado pelos genótipos comerciais disponíveis no mercado. É possível a coexistência entre cultivares de milho convencional (melhoradas ou crioulas) e transgênico, do ponto de vista agrônomo. A possibilidade da planta transgênica se tornar uma espécie daninha, bem como o cruzamento do milho GA21 com outras plantas de milho, originar uma planta daninha é desprezível, em virtude das características biológicas da espécie e ao fato de que o milho não sobrevive bem sem a intervenção humana. Assim, espera-se que o milho GA21 tenha um comportamento ambiental semelhante ao milho comum. A possibilidade do gene mepsps da planta transgênica passar para outros organismos é praticamente nula. O gene epsps é comum a plantas, fungos e microrganismos, ocorre abundantemente na natureza, não resultando em risco significativo para a microbiota do solo. Adicionalmente, não há evidências de que genes de plantas tenham sido alguma vez transferidos a bactérias nas condições naturais. O glifosato está registrado no Brasil no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, no Ministério do Meio Ambiente – MMA e possui monografia aprovada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. O uso do herbicida glifosato em lavouras de milho GA21 deve observar normas pertinentes, como por exemplo, a Lei 7.802, de 11 de julho de 1989 (Lei de Agrotóxicos). A CTNBio concluiu que o cultivo e o consumo do milho GA21 não são potencialmente causadores de significativa degradação do meio ambiente ou de riscos à saúde humana e animal. Por essas razões, não há restrições ao uso deste milho ou seus derivados, exceto nos locais contemplados pela Lei 11.460, de 21 de março de 2007. A coexistência entre cultivares de milhos convencionais (melhoradas ou crioulas) e cultivares transgênicas de milhos é possível do ponto de vista agrônomo e deve seguir o disposto na Resolução Normativa nº 4 da CTNBio. A requerente deverá conduzir monitoramento

pós-liberação comercial nos termos da Resolução Normativa nº 3 da CTNBio e terá o prazo de 30 (trinta dias) a partir da publicação deste Parecer Técnico, para adequar sua proposta de plano de monitoramento pós-liberação comercial, conforme o Anexo I da Resolução Normativa nº 5, de 12 de março de 2008. No âmbito das competências do art. 14 da Lei 11.105/05, a CTNBio considerou que o pedido atende às normas e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, da agricultura e da saúde humana e animal.

A CTNBio esclarece que este extrato não exime a requerente do cumprimento das demais legislações vigentes no país, aplicáveis ao objeto do requerimento.

A íntegra deste Parecer Técnico consta do processo arquivado na CTNBio. Informações complementares ou solicitações de maiores informações sobre o processo acima listado deverão ser encaminhadas por escrito à Secretaria Executiva da CTNBio.

**Dr. Walter Colli**  
**Presidente da CTNBio**

## 阿根廷农林水产省（MAFF）——食用、饲用、种植

### GA21 附件一

农业、畜牧和渔业部

农业、畜牧和渔业秘书处

2005 年 8 月 22 日，布宜诺斯艾利斯

根据经济和生产部下属农业、畜牧和渔业秘书处登记管理处颁发的第 S01:0266422/2004 号文件，其中详细阐明了上述秘书处于 2003 年 7 月 11 日做出的第 39 号决议的全部内容。

鉴于：

经济和生产部下属前农业、畜牧、渔业和食品秘书处，于 1998 年 10 月 8 日做出的第 79 号决议的第一条，批准种植具备草甘磷除草剂耐受性的 GA21 品系转基因玉米种子，但未授予经营许可。

要获得该批准，必须提交国家农业生物技术咨询委员会（CONABIA）要求的全部文件，以供审批。

根据对所提交研究报告的评价和修订，可以得出结论，除基因改良转殖项之外，这种玉米，或者 GA21 品系产品，与任何其他非转基因玉米之间并无实质性差异。

原生产部下属前农业、畜牧、渔业和食品秘书处辖下权力下放单位，国家农业食品卫生质量管理局（SENASA），在于 2001 年 7 月 3 日发布的第 121 号通知中表明其意见，不反对批准将 GA21 转基因玉米供人类和动物食用。

上述秘书处下属农业和食品政策处国家市场部，已同意销售该转基因玉米种子以及有关产品和副产品。

向经济和财政部法务总部汇报工作的农业、畜牧、渔业和食品行业法务部，已经采取了相应的举措。

署名人有能力按照于 2003 年 5 月 27 日颁发的第 25 号行政命令中阐明的规定，以及于 2004 年 10 月 5 日颁布的第 1359 号类似行政命令的修改，做出该决定。

因此，农业、畜牧和渔业秘书处现做出以下决议：

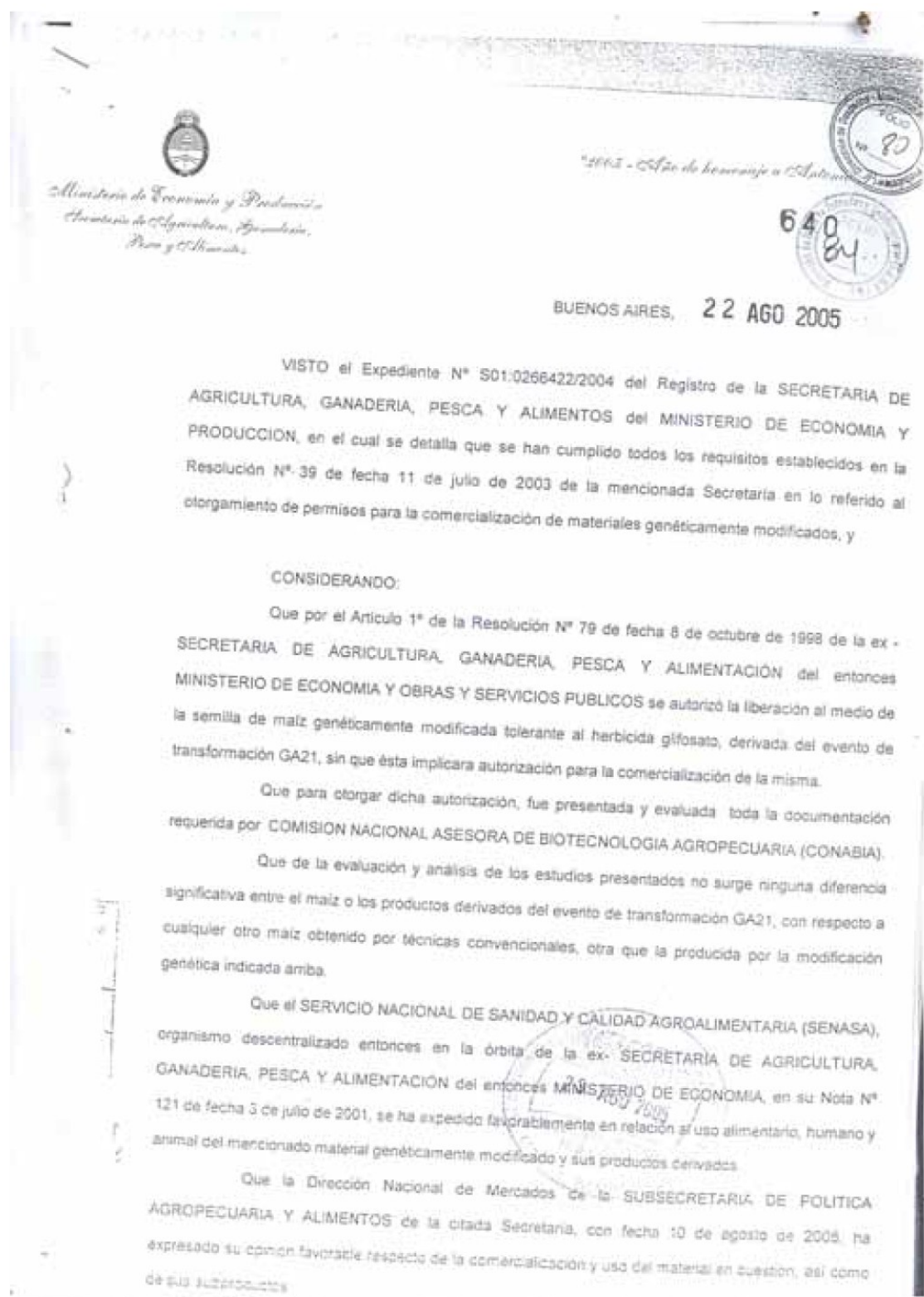
第一条：应先正达公司请求，特此批准其生产和销售仅含 **GA21** 性状的、具备草甘磷除草剂耐受性的转基因玉米及其杂交品种的种子以及有关产品和副产品。

第二条：应当向国家登记管理局披露、公开和递交本决议并由其归档。

第 640 号决议。

[签字] 农业、畜牧和渔业秘书处秘书长 Ing. Agr. Miguel Santiago Campos.

原件:





Ministerio de Economía y Producción  
Secretaría de Agricultura, Ganadería,  
Pesca y Alimentos

2003 - Año de homenaje a Salvador



640 85

Que la Dirección de Legales del Área de AGRICULTURA, GANADERIA, PESCA Y ALIMENTOS dependiente de la Dirección General de Asuntos Jurídicos del MINISTERIO DE ECONOMIA Y PRODUCCION, ha tomado la intervención que le compete.

Que el suscrito es competente para dictar el presente acto, en virtud de lo dispuesto en el Decreto N° 25 del 27 de mayo de 2003, modificado por su similar N° 1.359 del 5 de octubre de 2004.

Por ello,

EL SECRETARIO DE AGRICULTURA, GANADERIA, PESCA Y ALIMENTOS

RESUELVE:

ARTICULO 1°.- Autorízase la producción y comercialización de la semilla y de los productos y subproductos derivados de ésta, proveniente de variedades e híbridos de maíz genéticamente modificado tolerante al herbicida glifosato, solicitada por la empresa SYNGENTA SEEDS S.A. derivada del evento de transformación GA21.

ARTICULO 2°.- Comuníquese, publíquese, dese a la Dirección Nacional del Registro Oficial y archívese.

RESOLUCION N° 640

*[Handwritten signature]*

*[Handwritten signature]*  
Ing. Agr. MIGUEL SANTIAGO CAMPOS  
Secretario de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos





## 欧盟-委员会（EU-commission）——食用、饲用、加工

### 欧盟委员会的决定

2008年3月28日

根据 欧洲议会和理事会第1829/2003号法规（EC），含有转基因玉米GA21（MON-00021-9）及由该玉米组成或制造的产品被允许投放市场

（在第C(2008) 1112号文件中通知）

（以法文本为准）

（2008/280/EC）

欧盟委员会参照了《成立欧洲共同体条约》及欧洲议会和理事会2003年9月22日就转基因食品和饲料（1）颁布的第1829/2003号法规（EC），尤其是第7(3)条和第19(3)条，

### 第一条

#### 转基因生物和标识符

根据第65/2004号法规（EC），本决议附件(b)项中所述的转基因玉米GA21被分配的标识符为MON-00021-9。

### 第二条

#### 许可

以下产品被允许根据本决议中规定的条件，用于实现第1829/2003号法规（EC）第4(2)条和第16(2)条所述的目的：(a) 含有MON-00021-9玉米或由该玉米组成或制造的食品和食品添加剂；(b) 含有MON-00021-9玉米或由该玉米组成或制造的饲料；(c) 除食品和饲料之外、含有MON-00021-9玉米或由该玉米组成的、用途（除种植外）与任何其他玉米相同的产品。

### 第三条

#### 标签

1. 鉴于第1829/2003号法规（EC）第13(1)和25(2)条及第1830/2003号法规（EC）第4(6)条规定的标签要求，“生物名称”应为“玉米”。

2. 含有或由第2(b)和(c)条所述的MON-00021-9玉米组成的产品标签及相关文件上应该有“不适合种植”的字样。

### 第四条

#### 环境影响监测

1. 被许可人应保证落实和实施附件(h)项所述的环境影响监测计划。
2. 被许可人应就监测计划中提出的项目实施情况和成果向欧盟委员会提交年度报告。

### 第五条

#### 欧盟登记簿

根据第1829/2003号法规（EC）第28条的规定，本决议附件中所述的信息应被输入到欧盟转基因食品和饲料登记簿中。

#### *第六条*

#### **被许可人**

被许可人应为代表瑞士先正达作物保护公司的法国先正达种子有限公司。

#### *第七条*

#### **有效期**

本决议的有效期为十年，从通知之日开始算起。

#### *第八条*

#### **收件人**

本决议被寄至Syngenta Seeds S.A.S., Chemin de l'Hobit 12, BP 27, F-31790 Saint-Sauveur, France。

2008年3月28日在布鲁塞尔完成。

*代表欧盟*

Androulla VASSILIOU

*欧盟委员会成员*

- (9) Similarly, the EFSA opinion does not justify the imposition of specific conditions or restrictions for the placing on the market and/or specific conditions or restrictions for the use and handling, including post-market monitoring requirements, or of specific conditions for the protection of particular ecosystems/environment and/or geographical areas, as provided for in point (e) of Articles 6(5) and 18(5) of Regulation (EC) No 1829/2003.

- (10) All relevant information on the authorisation of the products should be entered in the Community register of genetically modified food and feed as provided for in Regulation (EC) No 1829/2003.

- (11) Article 4(6) of Regulation (EC) No 1830/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending directive 2001/18/EC<sup>(1)</sup>, lays down labelling requirements for products consisting of or containing GMOs.

- (12) This Decision is to be notified through the Biosafety Clearing House to the Parties to the Cartagena Protocol on Biosafety to the Convention on Biological Diversity, pursuant to Article 9(1) and Article 15(2)(c), of Regulation (EC) No 1946/2003 of the European Parliament and of the Council of 15 July 2003 on transboundary movements of genetically modified organisms<sup>(2)</sup>.

- (13) The Standing Committee on the Food Chain and Animal Health did not deliver an opinion within the time limit laid down by its Chairman. The Commission therefore submitted to the Council a proposal relating to these measures.

- (14) At its meeting on 18 February 2008, the Council was unable to reach a decision by qualified majority either for or against the proposal. The Council indicated that its proceedings on this file were concluded and that the Commission could finalise the decision-making process. It is accordingly for the Commission to adopt the measures,

HAS ADOPTED THIS DECISION:

#### Article 1

##### Genetically modified organism and unique identifier

Genetically modified maize (*Zea mays* L.) GA21, as specified in point (b) of the Annex to this Decision, is assigned the unique identifier MON-ØØØ21-9, as provided for in Regulation (EC) No 65/2004.

#### Article 2

##### Authorisation

The following products are authorised for the purposes of Articles 4(2) and 16(2) of Regulation (EC) No 1829/2003, in accordance with the conditions set out in this Decision:

- (a) foods and food ingredients containing, consisting of, or produced from MON-ØØØ21-9 maize;
- (b) feed containing, consisting of, or produced from MON-ØØØ21-9 maize;
- (c) products, other than food and feed, containing or consisting of MON-ØØØ21-9 maize for the same uses as any other maize with the exception of cultivation.

#### Article 3

##### Labelling

1. For the purposes of the labelling requirements laid down in Articles 13(1) and 25(2) of Regulation (EC) No 1829/2003 and in Article 4(6) of Regulation (EC) No 1830/2003, the 'name of the organism' shall be 'maize'.

2. The words 'not for cultivation' shall appear on the label of and in documents accompanying products containing or consisting of MON-ØØØ21-9 maize referred to in Article 2(b) and (c).

#### Article 4

##### Monitoring for environmental effects

1. The authorisation holder shall ensure that the monitoring plan for environmental effects, as set out in the point (h) of the Annex, is put in place and implemented.

<sup>(1)</sup> OJ L 268, 18.10.2003, p. 24.

<sup>(2)</sup> OJ L 287, 5.11.2003, p. 1.

- (9) Similarly, the EFSA opinion does not justify the imposition of specific conditions or restrictions for the placing on the market and/or specific conditions or restrictions for the use and handling, including post-market monitoring requirements, or of specific conditions for the protection of particular ecosystems/environment and/or geographical areas, as provided for in point (e) of Articles 6(5) and 18(5) of Regulation (EC) No 1829/2003.

- (10) All relevant information on the authorisation of the products should be entered in the Community register of genetically modified food and feed as provided for in Regulation (EC) No 1829/2003.

- (11) Article 4(6) of Regulation (EC) No 1830/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending directive 2001/18/EC<sup>(1)</sup>, lays down labelling requirements for products consisting of or containing GMOs.

- (12) This Decision is to be notified through the Biosafety Clearing House to the Parties to the Cartagena Protocol on Biosafety to the Convention on Biological Diversity, pursuant to Article 9(1) and Article 15(2)(c), of Regulation (EC) No 1946/2003 of the European Parliament and of the Council of 15 July 2003 on transboundary movements of genetically modified organisms<sup>(2)</sup>.

- (13) The Standing Committee on the Food Chain and Animal Health did not deliver an opinion within the time limit laid down by its Chairman. The Commission therefore submitted to the Council a proposal relating to these measures.

- (14) At its meeting on 18 February 2008, the Council was unable to reach a decision by qualified majority either for or against the proposal. The Council indicated that its proceedings on this file were concluded and that the Commission could finalise the decision-making process. It is accordingly for the Commission to adopt the measures,

HAS ADOPTED THIS DECISION:

#### Article 1

##### Genetically modified organism and unique identifier

Genetically modified maize (*Zea mays* L.) GA21, as specified in point (b) of the Annex to this Decision, is assigned the unique identifier MON-ØØØ21-9, as provided for in Regulation (EC) No 65/2004.

#### Article 2

##### Authorisation

The following products are authorised for the purposes of Articles 4(2) and 16(2) of Regulation (EC) No 1829/2003, in accordance with the conditions set out in this Decision:

- (a) foods and food ingredients containing, consisting of, or produced from MON-ØØØ21-9 maize;
- (b) feed containing, consisting of, or produced from MON-ØØØ21-9 maize;
- (c) products, other than food and feed, containing or consisting of MON-ØØØ21-9 maize for the same uses as any other maize with the exception of cultivation.

#### Article 3

##### Labelling

1. For the purposes of the labelling requirements laid down in Articles 13(1) and 25(2) of Regulation (EC) No 1829/2003 and in Article 4(6) of Regulation (EC) No 1830/2003, the 'name of the organism' shall be 'maize'.

2. The words 'not for cultivation' shall appear on the label of and in documents accompanying products containing or consisting of MON-ØØØ21-9 maize referred to in Article 2(b) and (c).

#### Article 4

##### Monitoring for environmental effects

1. The authorisation holder shall ensure that the monitoring plan for environmental effects, as set out in the point (h) of the Annex, is put in place and implemented.

<sup>(1)</sup> OJ L 268, 18.10.2003, p. 24.

<sup>(2)</sup> OJ L 287, 5.11.2003, p. 1.

2. The authorisation holder shall submit to the Commission annual reports on the implementation and the results of the activities set out in the monitoring plan.

*Article 5*

**Community register**

The information set out in the Annex to this Decision shall be entered in the Community register of genetically modified food and feed, as provided for in Article 28 of Regulation (EC) No 1829/2003.

*Article 6*

**Authorisation holder**

The authorisation holder shall be Syngenta Seeds S.A.S., France, representing Syngenta Crop Protection AG, Switzerland.

*Article 7*

**Validity**

This Decision shall apply for a period of 10 years from the date of its notification.

*Article 8*

**Addressee**

This Decision is addressed to Syngenta Seeds S.A.S., Chemin de l'Hobit 12, BP 27, F-31790 Saint-Sauveur, France.

Done in Brussels, 28 March 2008.

*For the Commission*

Androulla VASSILIOU

*Member of the Commission*

## 澳大利亚/新西兰食品标准局（FSANZ）——食用

### 标准 A18

#### 采用转基因技术生产的食品

##### 目的

本标准第一条就卫生和安全要求，对采用转基因技术生产的食品，而不是添加剂和加工助剂，的销售作出了相关规定。除第二条附表中列明的食品以及符合表中规定的任何特殊条件的食品之外，本标准禁止销售和使用任何该等食品。

在将之纳入该表之前，澳大利亚新西兰食品局将评价每一种采用转基因技术生产的食品或此类食品的人类食用安全性。将按照经澳大利亚新西兰食品局批准的安全评价标准，执行安全评价。

采用转基因技术生产的添加剂和加工助剂不在本标准第一条的管辖之列。本法规的其他标准就添加剂和加工助剂作出了规定，这些物质在上市前须经审批。

本标准第二条规定了对采用转基因技术生产的食品的标签及其他信息要求，包括食品添加剂和加工助剂。

##### 条款目录

#### 第一条 销售和使用采用转基因技术生产的食品

1. 解释
2. 关于销售和使用采用转基因技术生产的食品的一般禁止
3. 关于销售和使用的一般禁止的除外事项

#### 第二条 对采用转基因技术生产的食品的标签等要求

4. 解释和运用
5. 转基因食品标签
6. 非转基因食品标签
7. 其他标签/信息要求

#### 第一条 销售和使用采用转基因技术生产的食品

## 1. 解释

在本标准中

采用转基因技术生产的食品系指，从转基因体制得的食品。

### 编者按：

本定义不包含从用采用转基因技术生产的食品喂养的动物或其他生物制得的食品，除非该动物或生物本身是转基因技术的产品。

转基因技术系指，改变活细胞或生物体的遗传基因物质的 DNA 重组技术。

## 2. 关于销售和使用采用转基因技术生产的食品的一般禁止

除被规定为食品添加剂或加工助剂的之外，采用转基因技术生产的食品，一律不得作为任何食品的原料或成分进行销售或使用，但本条款附表第一列中列明的食品，以及符合该表第二列中规定的任何特殊条件的食品除外。

### 第二条附表

第一列	第二列
采用转基因技术生产的食品	特殊条件
从抗草甘膦除草剂加拿大油菜株系 GT73 制得的食用油	
从抗草甘膦除草剂玉米株系 GA21 制得的食品	
从抗草甘膦除草剂大豆株系 40-3-2 制得的食品	
从高油酸大豆株系 G94-1、G94-19 和 G168 制得的食品	对于从高油酸大豆株系 G94-1、G94-19 和 G168 制得的食品，必须在其包装上的标签或随附说明书中，作出关于该食品是转基因食品，含有高浓度油酸的声明。
从抗虫害和抗马铃薯卷叶病毒马铃薯株系 RBMT21-129、RBMT21-350 和 RBMT22-82 制得的食品	
从抗虫害和抗马铃薯 Y 病毒马铃薯株系 RBMT15-101、SEM15-02 和 SEM15-15 制得的食品	
从抗虫害玉米株系 Bt-176 制得的食品	



从抗虫害玉米株系 <b>MON 810</b> 制得的食品	
从抗虫害、抗草铵膦玉米株系 <b>Bt-11</b> 制得的食品	
从抗虫害马铃薯株系 <b>BT-06</b> 、 <b>ATBT04-06</b> 、 <b>ATBT04-31</b> 、 <b>ATBT04-36</b> 和 <b>SPBT02-05</b> 制得的食品	
从抗除草剂棉花株系 <b>1445</b> 制得的食用油和棉绒（译注：此句部分被遮住）	
从抗虫害棉花株系 <b>531</b> 、 <b>757</b> 和 <b>1076</b> 制得的食用油和棉绒	



(扫描原件)

NZFA: A18 Food produced using Gene Technology

[About ANZFA](#) [Food Standards](#) [Recalls & Safety](#) [What's in Food](#) [Media Releases & Publications](#)



Food Standards

Search

## Food Standards

### OLD Food Standards Code - Contents

- Commentary
- Glossary of Units
- Preliminary Provisions
- Part A - General Standards
- Part B - Cereals and Cereal Products
- Part C - Meat, Canned Meat and Products Thereof
- Part D - Fish and Fish Products
- Part E - Eggs and Egg Products
- Part F - Vegetables
- Part G - Edible Fats and Oils and Related Products
- Part H - Milk and Other Dairy Products
- Part I - Gelatine and Jelly Products
- Part J - Spices, Condiments, Sauces, Vinegar and Pickles
- Part K - Sugar and Related Products, Honey, Confectionery and Icing Mixture
- Part L - Ice Cream and Related Products
- Part M - Nuts and Nut Products
- Part N - Fruits and Fruit Products
- Part O - Non Alcoholic Beverages
- Part P - Alcoholic Beverages
- Part Q - Tea, Coffee, Chicory, Cocoa and Related Products
- Part R - Special Purpose Foods
- Part S - Miscellaneous Provisions
- Part T - Temporary Standards

## STANDARD A18

### FOOD PRODUCED USING GENE TECHNOLOGY

#### Purpose

Division 1 of this Standard addresses health and safety requirements, regulating the sale of food produced using gene technology, other than additives and processing aids. The Standard prohibits the sale and use of these foods unless they are included in the Table to clause 2 and comply with any special conditions in that Table.

The Authority will assess the safety for human consumption of each food produced using gene technology or such class of food prior to its inclusion in the Table. The safety assessment will be performed according to the Authority's approved safety assessment criteria.

Additives and processing aids which are produced using gene technology are not regulated in Division 1 of this Standard. Other Standards in this Code regulate additives and processing aids and require pre-market approval for these substances.

Division 2 of this Standard specifies labelling and other information requirements for foods, including food additives and processing aids, produced using gene technology.

#### Table Of Provisions

##### Division 1 - Sale and use of food produced using gene technology

- 1 Interpretation
- 2 General prohibition on the sale and use of food produced using gene technology
- 3 Exemption to general prohibition on sale and use

##### Division 2 - Labelling etc of food produced using gene technology

- 4 Interpretation and Application
- 5 Labelling of genetically modified food
- 6 Labelling of food which is not genetically modified
- 7 Additional labelling/information requirements

- Amendment History
- Index to the Food Standards Code
- User Guides
- Frequently Asked Questions
- Standards WorkPlan
- Novel Foods App Guide
- Information for Submitters
- Information for Applicants
- Recent Standards Development
- Purchasing a hard copy of the Food Standards Code and User Guides
- Labelling Provisions

## Division 1 - Sale and use of food produced using gene technology

### 1 Interpretation

For the purposes of this Standard -

**a food produced using gene technology** means a food which has been derived or developed from an organism which has been modified by gene technology.

#### **Editorial note:**

This definition does not include a food derived from an animal or other organism which has been fed food produced using gene technology, unless the animal or organism itself is a product of gene technology.

**gene technology** means recombinant DNA techniques that alter the heritable genetic material of living cells or organisms.

### 2 General prohibition on the sale and use of food produced using gene technology

A food produced using gene technology, other than a substance regulated as a food additive or processing aid, must not be sold or used as an ingredient or component of any food unless it is listed in Column 1 of the Table to this clause and complies with the conditions, if any, specified in Column 2.

#### Table to clause 2

##### Column 1

##### Column 2

#### **Food produced using gene technology Special conditions**

Oil derived from glyphosate-tolerant

canola line GT73

Food derived from glyphosate-tolerant

corn line GA21

Food derived from glyphosate-tolerant

soybean line 40-3-2

Food derived from high oleic acid soybean lines G94-1, G94-19 and G168

The label on or attached to a package of a food derived from high oleic acid soybean lines G94-1, G94-19 and G168 must include a statement to the effect that the food has been genetically modified to contain high levels of oleic acid

Food derived from insect- and potato

leafroll virus-protected potato lines

RBMT21-129, RBMT21-350, and

RBMT22-82.

Food derived from insect- and potato virus

Y-protected potato lines RBMT15-101,

SEM15-02 and SEM15-15.

Food derived from insect-protected Bt-176

corn.

Food derived from insect-protected corn

line MON 810

Food derived from insect-protected,

glufosinate ammonium-tolerant Bt-11

corn.

Food derived from insect-protected potato

lines BT-06, ATBT04-06, ATBT04-31,

ATBT04-36, and SPBT02-05

## 附件 10 审查所需的其它相关资料

附件 10.1 微生物表达的（GA21-0104）与 GA21 玉米表达的 mEPSPS 蛋白的等同性分析

附件 10.2 mEPSPS 蛋白的小鼠急性口服毒性试验

附件 10.3 GA21 玉米中 mEPSPS 蛋白的热稳定性研究

附件 10.4 mEPSPS 蛋白在模拟哺乳动物胃液环境下的体外消化情况分析

附件 10.5 mEPSPS 蛋白与已知或假定毒素蛋白的氨基酸序列同源性评估

附件 10.6 mEPSPS 蛋白与已知或假定过敏原蛋白的氨基酸序列同源性评估

附件 10.7 GA21 玉米的田间农艺性状调查

附件 10.8 GA21 玉米籽粒及秸秆的成分分析

附件 10.9 转基因玉米 GA21 国内生态风险评估报告（2003 年）

附件 10.10 转基因玉米 GA21 国内食用安全检测报告（2004 年）

## 七、本单位农业转基因生物安全小组审查意见

该项目所使用的 GA21 转基因玉米已经在 10 多个国家获得了商业化生产或者环境释放许可，并在中国获得了进口作为加工原料的安全证书。经过全面系统的安全评价，我们认为该转基因玉米对人类、动物和生态环境是安全的，同意向中国农业部递交本次申请。

小组组长（签章）

2013 年 10 月 30 日

## 八、本单位审查意见

本申报书提供的资料均符合试验数据与事实，故此同意向中国政府有关部门提出申请计划。如经批准，承诺严格执行中国有关法规法令。

单位公章

负责人（签章）

2013 年 10 月 30 日

## 九、所在省（市、自治区）的农业行政主管部门的审查意见

（本申请仅涉及该转基因玉米进口作为加工原材料，按照中国法规要求，本节从略）

单位公章

负责人（签章）

日期：        年    月    日