农业部办公厅文件

农办科〔2017〕5号

农业部办公厅关于印发《农业转基因生物(植物、动物、动物用微生物)安全评价指南》的通知

各有关单位:

为进一步规范农业转基因生物安全评价工作,根据《农业转基因生物安全管理条例》和《农业转基因生物安全评价管理办法》,我部修订了《转基因植物安全评价指南》《动物用转基因微生物安全评价指南》,制定了《转基因动物安全评价指南》,并经2017年农业部第1次常务会议批准,现予印发,请遵照执行。

附件:1. 转基因植物安全评价指南

2. 转基因动物安全评价指南

3. 动物用转基因微生物安全评价指南

农业部办公厅

2017 年 1 月 23 日

附件 1

转基因植物安全评价指南

本指南适用于《农业转基因生物安全管理条例》规定的农业转基因植物,即利用基因工程技术改变基因组构成,用于农业生产或者农产品加工的植物及其产品。

一、总体要求

(一)分子特征

从基因水平、转录水平和翻译水平,考察外源插入序列的整合和表达情况。

1. 表达载体相关资料

(1)载体构建的物理图谱

详细注明表达载体所有元件名称、位置和酶切位点。

(2)目的基因

详细描述目的基因的供体生物、结构(包括基因中的酶切位点)、功能和安全性。

供体生物:如 Bt 基因 cry1A 来源于苏云金芽孢杆菌 XX 菌株。

结构:完整的 DNA 序列和推导的氨基酸序列。

功能:生物学功能及性状,如抗鳞翅目昆虫。

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

(3)其他主要元件

启动子:供体生物来源、大小、DNA 序列(或文献)、功能、安全应用记录。

终止子:供体生物来源、大小、DNA 序列(或文献)、功能、安全应用记录。

标记基因:供体生物来源、大小、DNA 序列(或文献)、功能、安全应用记录。

报告基因:供体生物来源、大小、DNA 序列(或文献)、功能、安全应用记录。

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

2. 目的基因在植物基因组中的整合情况

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

外源插入序列的转化体特异性 PCR 检测:具有序列名称、引物序列、扩增产物长度、PCR 条件、扩增产物电泳图谱(含图题、分子量标准、阴性对照、阳性对照、泳道标注)。

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

对照、泳道标注。

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

3. 外源插入序列的表达情况

（1）转录水平表达（RNA）

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

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

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

（2）翻译水平表达（蛋白质）

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

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

Western 免疫印记：相关抗体名称、特异性蛋白条带的大小、

Western 免疫印记条件、免疫印记图谱(含图题、分子量标准、阴性对照、阳性对照、泳道标注、样品和阳性对照的加样量)。

(二)遗传稳定性

1. 目的基因整合的稳定性

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

2. 目的基因表达的稳定性

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

3. 目标性状表现的稳定性

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

(三)环境安全

1. 生存竞争能力

提供与受体或亲本植物比较,转基因植物种子数量、重量、活力和休眠性,越冬越夏能力,抗病虫能力,生长势,生育期,落粒性,自生苗等试验数据和结论。

若受体植物为多年生(如饲草、制种用的草坪草)、无性繁殖或目标性状增强生存竞争力(如抗旱、耐盐等),应根据个案分析

的原则提出有针对性的补充资料。

2. 基因漂移的环境影响

(1)受体物种的相关资料

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

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

(2)外源基因漂移风险

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

3. 功能效率评价

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

抗性效率指抗有害生物转基因植物所产生的抗性物质对靶标生物综合作用的结果,一般通过转基因品种与受体品种在靶标生物数量变化、危害程度、植物长势及产量等方面的差别进行评价。抗病虫转基因植物需提供在室内和田间试验条件下,转基因植物

对靶标生物的抗性生测报告、靶标生物在转基因品种及受体品种田季节性发生危害情况和种群动态的试验数据与结论。

4. 有害生物抗性转基因植物对非靶标生物的影响

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

5. 对生态系统群落结构和有害生物地位演化的影响

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

6. 靶标生物的抗性风险

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

（四）食用安全

按照个案分析的原则，评价转基因植物与非转基因植物的相对安全性。

传统非转基因对照物选择：无性繁殖的转基因植物，以非转基

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

1.新表达物质毒理学评价

(1)新表达蛋白质资料

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

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

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

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

(2)新表达蛋白质毒理学试验

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

喂养试验资料,则应说明理由。

(3)新表达非蛋白质物质的评价

新表达的物质为非蛋白质,如脂肪、碳水化合物、核酸、维生素及其它成分等,其毒理学评价可能包括毒物代谢动力学、遗传毒性、亚慢性毒性、慢性毒性/致癌性、生殖发育毒性等方面。具体需进行哪些毒理学试验,采取个案分析的原则。

(4)摄入量估算

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

2. 致敏性评价

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

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

提供新表达蛋白质与已知致敏原氨基酸序列的同源性分析比较资料。

提供新表达蛋白质热稳定性试验资料,体外模拟胃液蛋白消化稳定性试验资料。

对于供体含有致敏原的,或新蛋白质与已知致敏原具有序列

同源性的，应提供与已知致敏原为抗体的血清学试验资料。

受体植物本身含有致敏原的，应提供致敏原成分含量分析的资料。

3. 关键成分分析

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

提供同一物种对照物各关键成分的天然变异阈值及文献资料等。

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

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

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

(4)其他成分。如水分、灰分、植物中的其他固有成分。

(5)非预期成分。因转入外源基因可能产生的新成分。

4.全食品安全性评价

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

5.营养学评价

如果转基因植物在营养、生理作用等方面有改变的,应提供营养学评价资料。

(1)提供动物体内主要营养素的吸收利用资料。

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

6.生产加工对安全性影响的评价

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

7.按个案分析的原则需要进行的其它安全性评价

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

对耐除草剂的转基因植物,需提供目标除草剂残留量的评价资料。

二、阶段要求

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

根据安全评价需要和转基因植物的特殊性，农业转基因生物技术检测机构的检测指标增减遵循个案分析的原则确定。

检测指标暂无农业转基因生物技术检测机构开展检测的，由农业部指定相关机构进行检测。

（一）申请实验研究

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

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

产量性状改良：指改良株高、株型、籽粒数量、籽粒大小、棉铃数量等。

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

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

杂种优势改良：指雄性不育、育性恢复以及改良育性恢复能力等。

抗逆：指改良抗旱性、耐涝性、耐寒性、耐盐性等。

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

4. 实验年限：一般为一至两年。

（二）申请中间试验

1. 提供外源插入序列的分子特征资料。

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

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

4. 提供新表达蛋白质的分子和生化特征等信息，以及提供新表达蛋白质与已知毒蛋白质、抗营养因子和致敏原氨基酸序列相似性比较的资料。

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

（三）申请环境释放

1. 申请中间试验提供的相关资料，以及中间试验结果的总结报告。

2. 提供每个转基因株系中目的基因和标记基因整合进植物基

因组的 Southern 杂交图和插入拷贝数，或提供每个转基因株系转化体特异性 PCR 检测图，并注明转基因株系的代别和编号。

3. 提供目的基因在转录水平或翻译水平表达的资料。

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

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

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

7. 提供靶标害虫对新抗虫植物和已商业化种植的抗虫植物交互抗性的研究资料。

8. 提供对可能影响的非靶标生物（至少 1 种非靶标植食性生物和 2 种有益生物）的室内生物测定资料。

9. 提供目标性状和功能效率的评价资料。如，抗虫植物应明确靶标生物种类并提供室内或田间生测报告。

（四）申请生产性试验

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

1. 转化体申请生产性试验

（1）提供所申报转基因植物样品、对照样品及检测方法。样

品要求:种子(单一纯合体的,纯度大于99%);方法要求:提供外源插入序列信息及转化体特异性核酸检测方法等。

(2)申请环境释放提供的相关资料,以及环境释放结果的总结报告。

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

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

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

(6)提供该转化体个体生存竞争能力的资料。

(7)提供该转基因植物基因漂移的资料。

(8)提供目标性状和功能效率的评价资料。如,抗虫植物应提供靶标生物在转基因植物及受体植物田季节性发生危害情况和种群动态的试验数据。

(9)提供靶标生物对抗病虫转基因植物的抗性风险评价资料。

(10)提供对非靶标生物、对生态系统群落结构和有害生物地位演化影响的评价资料。

(11)提供新表达蛋白质体外模拟胃液蛋白消化稳定性、热稳

定性试验资料。

(12)必要时提供全食品毒理学评价资料。

(13)提供农业转基因生物技术检测机构出具的检测报告,包括:①确认转化体身份的核酸检测;②抗病虫等转基因植物对特定非靶标生物的影响、转基因抗旱(逆)植物的生存竞争力等;③新表达产物在植物可食部分的表达量及新表达蛋白质体外模拟胃液蛋白消化稳定性等。

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

(1)提供所申报转基因植物样品、对照样品及检测方法。样品要求:种子(单一纯合体的,纯度大于99%);方法要求:提供外源插入序列信息及转化体特异性核酸检测方法等。

(2)已取得农业转基因生物安全证书的转化体综合评价报告及相关附件资料。

(3)提供亲本名称及其选育过程的资料。

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

(五)申请安全证书

分为农业转基因生物安全证书(生产应用)和农业转基因生物安全证书(进口用作加工原料)两种类型。其中,农业转基因生物安全证书(生产应用)包括转化体申请生产证书,以及用取得农

业转基因生物安全证书的转化体与常规品种杂交获得的衍生品系申请安全证书两种情况。

类型1：申请农业转基因生物安全证书（生产应用）

1. 转化体申请安全证书

（1）汇总以往各试验阶段的资料，提供环境安全和食用安全综合评价报告。

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

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

（4）提供该转化体个体生存竞争能力、自然延续或建立种群能力的资料。

（5）提供该转基因植物基因漂移的资料。

（6）提供至少2代对目标性状和功能效率的田间评价资料。

（7）提供对至少6种非靶标生物影响的评价资料。

（8）提供至少2代对生物多样性影响的评价资料，以及对生态系统群落结构和有害生物地位演化影响的风险评估报告。

（9）提供靶标生物对转基因植物所产生抗病/虫物质的敏感性基线资料，抗性风险评估的依据和结论；拟采取的靶标生物综合

治理策略、抗性监测方案和治理措施等。

(10)提供完整的毒性、致敏性、营养成分、抗营养因子、耐除草剂作物目标除草剂的残留量等食用安全资料。

(11)提供农业转基因生物技术检测机构出具的检测报告,包括:①转化体的分子特征;②目标性状功能效率评价、对非靶标生物的影响;③新表达蛋白质与已知毒蛋白质、抗营养因子和致敏原氨基酸序列相似性比较;④急性毒性试验、营养成分分析、大鼠90天喂养等。

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

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

(1)申请生产性试验提供的相关资料,以及生产性试验的总结报告。

(2)提供亲本名称及其选育过程的资料。

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

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

的资料。

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

(6)提供目标性状和功能效率的评价资料。如,抗虫植物应提供靶标生物在转基因植物及受体植物田季节性发生危害情况和种群动态的试验数据。

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

类型2:申请农业转基因生物安全证书(进口用作加工原料)

(1)提供所申报转基因植物样品、对照样品及检测方法。样品要求:种子(单一纯合体的,纯度大于99%);方法要求:提供外源插入序列信息及转化体特异性核酸检测方法等。

(2)提供环境安全和食用安全综合评价报告。

(3)农业转基因生物技术检测机构出具的环境安全和食用安全检测报告,环境安全检测报告一般包括确认转化体身份的核酸检测、生存竞争能力、基因漂移的环境影响、对非靶标生物和生物多样性影响的评价资料等;食用安全检测报告一般包括确认转化体身份的核酸检测、抗营养因子分析、全食品安全性评价(大鼠90天喂养试验)等。对于新性状、新类型的转基因植物的检测内容根据个案原则确定。

(4)提供外源插入序列整合进植物基因组的资料。包括能明确外源片段(如转化载体骨架、目的基因和标记基因等)整合拷贝

数并具有转化体特异性的分子杂交图谱，整合进植物基因组的外源片段的全长DNA序列和插入位点两端的边界序列，以及转化体特异性PCR检测图等。

（5）提供完整的毒性、致敏性、营养成分、抗营养因子、耐除草剂作物目标除草剂的残留量等食用安全资料。

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

附件 2

转基因动物安全评价指南

转基因动物是指通过显微注射、电穿孔、粒子轰击、细胞转化、病毒导入等基因操作技术，将外源片段导入受体或定向改造受体基因得到的用于农业生产或者农产品加工的动物及其产品，包括用于如下用途的畜禽、水生动物和节肢动物等。

（一）产量性状改良：改良生长发育速度、消化吸收率和饲料转化率等；

（二）品质性状改良：改良营养成分、减少致敏原、用于观赏等；

（三）繁殖性状改良：调控动物的繁殖力和性别；

（四）抗逆：改良动物对环境条件、疾病和化学物质的抗性；

（五）环境指示：对环境质量变化有指示性作用；

（六）生物反应器：药用、工业用以及用于功能性食品的动物。

一、总体要求

（一）分子特征

从基因水平、转录水平和翻译水平，考察外源基因或片段的整合和表达情况。

1. 表达载体相关资料

(1)目的基因与载体构建的物理图谱

详细注明表达载体所有组件名称、位置和酶切位点。

(2)目的基因或片段

详细描述目的基因或片段的供体生物、结构(包括基因中的酶切位点)、功能和安全性。

供体生物:如 Fat1 基因来源于线虫。

结构:完整的 DNA 或 cDNA 序列和推导的氨基酸序列。

功能:生物学功能,如提高猪肉中 ω-3 脂肪酸的含量。

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

(3)表达载体其他主要组件

启动子:供体生物来源、大小、DNA 序列(或文献)、功能、安全应用记录。

终止子:供体生物来源、大小、DNA 序列(或文献)、功能、安全应用记录。

标记基因:供体生物来源、大小、DNA 序列(或文献)、功能、安全应用记录。

报告基因:供体生物来源、大小、DNA 序列(或文献)、功能、安全应用记录。

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

2. 目的基因在动物基因组中的整合情况

采用 PCR、Southern 杂交等方法，分析外源插入序列在动物基因组中的整合情况，包括目的基因和标记基因的拷贝数，标记基因、报告基因或其它调控序列删除情况，整合位点等。

外源插入序列的 PCR 检测：应有序列名称、引物序列、扩增产物大小、PCR 条件、扩增产物电泳图谱（含图题、分子量标准、阴性对照、阳性对照、泳道标注等）。

外源插入序列的 Southern 杂交：采用两种以上限制性内切酶分别消化动物基因组总 DNA，获得能明确整合拷贝数的、具有特异性条带的分子杂交图谱。文字表述至少包括探针序列位置、内切酶名称、特异性条带的大小、图题、分子量标准、阴性对照、阳性对照、泳道标注。

外源插入序列的全长 DNA 序列分析：实际插入受体动物基因组的全长 DNA 序列和插入位点的两端边界序列（大于 300bp）。提供特异性 PCR 验证时相应引物名称、序列及其扩增产物大小。

3. 外源插入序列在动物体中的表达情况

（1）转录水平（RNA）

采用 RT-PCR 或 Northern 杂交等方法，分析主要插入序列（如目的基因、标记基因等）的转录表达情况，包括表达的主要组织、器官（如乳腺、肝、肺、肾、肌肉等）和细胞。

RT-PCR 检测：引物序列、扩增产物大小、RT-PCR 条件、扩增

产物电泳图谱(含图题、分子量标准、阴性对照、阳性对照、泳道标注)。

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

(2)翻译水平(蛋白质)

采用 Western-Blot、ELISA 等免疫血清学方法,从蛋白质水平分析外源基因或片段(如目的基因、标记基因等)的表达情况,包括表达的主要组织、器官(如乳腺、肝、肺、肾、肌肉等)和细胞。

Western-Blot 检测:描述相关抗体名称、特异性条带的大小、Western-Blot 条件、Western-Blot 图谱(含图题、分子量标准、阴性对照、阳性对照、泳道标注、样品和阳性对照的加样量)。

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

4. 其他

以育种为目的且与食用相关的转基因动物,应在环境释放阶段提供已删除标记基因和报告基因的试验资料。

(二)遗传稳定性

主要考察转基因动物世代之间目的基因的整合与表达情况。

1. 目的基因整合的稳定性

用 Southern、PCR 等方法检测目的基因在转基因动物中的整合

情况,明确转基因动物中目的基因的拷贝数以及在后代中的分离情况,提供不少于连续2代的试验数据。

2. 目的基因表达的稳定性

用Northern、RT-PCR 、Western-Blot等方法分析目的基因在转基因动物不同世代在转录(RNA)和(或)翻译(蛋白质)水平表达的稳定性(包括不同生长阶段与不同组织、器官和细胞的表达情况),提供不少于连续2代的试验数据。

3. 目标性状表现的稳定性

用适宜的观察手段考察目标性状在转基因动物不同世代的表现情况,提供不少于连续2代的试验数据。

(三)健康状况

用一般指标、生理学指标以及其他适合的指标评价转基因动物的健康状况。

1. 一般指标

包括行为(精神、反应、采食等)、外貌特征(头、体表器官、毛色、皮肤、肢体、关节、体尺指标等)等。

2. 生理学指标

包括常规生理指标、血液指标、生化指标等,必要时提供解剖学指标。

3. 其他指标

根据转基因动物与外源基因的特点,确定适合的特异性指标。

4. 水生生物、节肢动物等转基因动物还应根据个案分析的原则提交有针对性的试验数据。

(四)功能效率评价

提供常规条件下转基因动物目标性状有效性的试验数据。对于为人类提供产品的转基因动物还应提供产肉(瘦肉率、背膘厚、肌内脂肪等)、产奶(产奶量、奶品质)、产蛋(蛋产量、蛋品质)、产毛(毛产量、毛品质)等生产性能的试验数据。

(五)环境适应性

对转基因畜禽,评价其在常规饲养条件下的存活能力(存活率、存活时间),生长发育速度(初生重、成年体重、日增重、生长率等),繁殖能力(例如发情周期、妊娠、精液品质、产仔数、产仔成活率等),对疾病的抵抗能力(发病率、死亡率)以及对温度、湿度等物理因素的适应能力。

对转基因水生动物,评价其在常规养殖条件下的存活能力(存活率、存活时间),运动转移能力,生长发育速度(不同发育阶段的体重和生长率等),摄食能力(食量、食谱和捕食、防御等),繁殖能力,对疾病的抵抗能力(发病率、死亡率),以及对温度、盐度、pH值、可溶性氧等物理因素的适应能力。

对转基因节肢动物,评价每个虫态的历期和存活率,性成熟的历期和存活率,交配优势和产卵量,雄性育性和交配率,运动能力,寄主范围,危害或寄生能力,对杀虫剂的敏感性,以及对温度、湿度

等物理因素的适应能力。

(六)转基因动物逃逸(释放)及其对环境的影响

1. 转基因动物逃逸的可能性

评价转基因动物繁殖和生长发育阶段的安全控制措施,分析转基因动物的逃逸以及逃逸后捕捉的可能性。

2. 转基因动物存活的可能性

评价转基因动物逃逸后可能进入生态环境的状况和转基因动物的适应性,分析转基因动物逃逸后存活的可能性。

3. 转基因动物扩散的可能性

评价转基因动物逃逸后在自然环境中繁殖的可能性。如果存在可交配的动物类型,分析转基因动物与其交配繁殖的可能性。特别是,如果存在可交配的野生型动物,提供野生型动物的分布状况和生物学特性,分析转基因动物与野生型动物交配繁殖的可能性。

4. 转基因动物对环境的影响

分析转基因动物逃逸(释放)对环境的影响,包括对野生型动物的适应性和入侵性的影响,以及其他相关影响等。

(七)食用安全

1. 表达产物毒理学评价

(1)表达产物资料

提供表达产物(包括目的基因和标记基因所表达的产物)的

分子和生化特征等信息，包括分子量、氨基酸序列、结构、翻译后的修饰、功能等资料。表达产物若为酶，应提供酶活性、酶活性影响因素（如 pH、温度、离子浓度）、底物特异性、反应产物等。

表达产物在动物可食部位的表达量，根据典型人群的食物消费量，估算人群最大可能接触水平。进入摄入量评估时需考虑加工过程对表达产物含量的影响。

提供基因供体是否含有已知毒蛋白和抗营养因子的资料。

提供新表达产物与已知毒蛋白和抗营养因子氨基酸序列相似性比较的资料。

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

若用体外表达的产物作为安全性评价的试验材料，需提供体外表达产物与动物表达产物的等同性分析（如分子量、结构、氨基酸序列、免疫原性、蛋白活性等）的资料。

（2）新表达产物毒理学试验

当新表达产物无安全食用历史，安全性资料不足时，必须提供经口急性毒性资料，28 天喂养试验毒理学资料视该产物在动物中的表达水平和人群可能摄入水平而定，必要时应进行免疫毒性检测评价。若不提供新表达产物的经口急性毒性和 28 天喂养试验资料，则应说明理由。

新表达产物毒理学试验还包括代谢动力学、遗传毒性、亚慢性毒性、慢性毒性/致癌性、生殖发育毒性等方面。具体需进行的毒理学试验，采取个案分析的原则。

2. 致敏性评价

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

提供基因供体是否含有已知致敏原的资料。

提供新表达蛋白质与已知致敏原氨基酸序列的同源性分析比较资料。

提供新表达蛋白质热稳定性试验资料，体外模拟胃液蛋白消化稳定性试验资料。

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

必要时利用相应的动物模型对其致敏性进行评价。

3. 关键成分分析

提供转基因动物肉、乳、蛋等可食部分的主要营养成分，以及可能的有害物质、抗营养因子等的检测数据。

4. 全食品安全评价

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

5. 营养学评价

如果转基因动物在营养、生理作用等方面有改变，应提供营养学评价资料。包括试验动物体内主要营养素的吸收利用资料、人群营养素摄入水平的资料以及最大可能摄入水平对人群膳食模式影响评估的资料。

6. 生产加工对安全性影响的评价

应提供与非转基因对照相比，生产加工、贮运过程是否可改变转基因动物产品特性的资料，包括加工过程中对转入蛋白质的降解、消除、变性等影响的资料。

7. 其他

按个案分析的原则，对转基因动物可能导致的兽药残留、重金属、毒素等主要污染物的蓄积进行评价。

二、阶段要求

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

根据安全评价需要和转基因动物的特殊性，农业转基因生物技术检测机构的检测指标增减遵循个案分析的原则确定。

检测指标暂无农业转基因生物技术检测机构开展检测的，由农业部指定相关机构进行检测。

（一）申请实验研究

1. 外源基因：包括目的基因、标记基因、报告基因以及启动

子、终止子和其他调控序列。外源基因名称应当是按国际通行规则正式命名的名称或 GenBank 中的序列号，未正式命名或无 GenBank 序列号的应提供基因序列。

2. 目标性状：包括产量性状改良、品质性状改良、繁殖性状改良、抗逆、环境指示、生物反应器、其他七种类型。

产量性状改良：改良生长发育速度、消化吸收率和饲料转化率等；

品质性状改良：改良营养成分、减少致敏原、用于观赏等；

繁殖性状改良：调控动物的繁殖力和性别；

抗逆：改良动物对环境条件、疾病和化学物质的抗性；

环境指示：对环境质量变化有指示性作用；

生物反应器：药用、工业用以及用于功能性食品的动物。

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

4. 实验年限：一般为一至两年。

（二）申请中间试验

1. 提供外源插入序列的分子特征资料。

2. 提供每个转基因动物个体的代别，及相应代别目的基因和标记基因 PCR 检测的资料。

3. 提供基因供体是否含有毒蛋白、致敏原和抗营养因子的资料。

4. 提供表达产物的分子和生化特征等信息，以及提供新表达产物与已知毒蛋白质和抗营养因子氨基酸序列相似性比较的资料。

5. 提供转基因动物一般健康和性能的资料。

（三）申请环境释放

1. 转基因动物具有一定的群体规模，提供详细的群体建立报告。

2. 申请中间试验提供的相关资料，以及中间试验结果的总结报告。

3. 提供每个转基因动物中目的基因和标记基因整合进动物基因组的 Southern 杂交图和插入拷贝数，或提供每个转基因动物的特异性 PCR 检测图，并注明转基因个体的代别和编号。

4. 提供目的基因在转录水平或翻译水平表达的资料。

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

6. 提供转基因动物健康状况的资料。

7. 提供转基因动物功能效率评价的资料。

8. 提供表达产物在转基因动物食用部位表达量的资料。

（四）申请生产性试验

分为两种类型，一是转基因动物申请生产性试验，二是用取得农业转基因生物安全证书的转基因动物与常规品种杂交获得的含

有转基因成分的动物申请生产性试验。

1. 转基因动物申请生产性试验

(1)提供所申报转基因动物样品、对照样品及检测方法。样品要求:动物血样或动物组织。方法要求:提供外源插入序列信息及转化体特异性核酸检测方法等。

(2)申请环境释放提供的相关资料,以及环境释放结果的总结报告。

(3)提供转基因动物外源插入序列(如转化载体骨架、目的基因和标记基因等)整合进动物基因组的 Southern 杂交图和插入拷贝数,或提供转化体特异性 PCR 检测图,并注明供试材料的名称和代别。

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

(5)提供该转基因动物遗传稳定性的资料,包括目的基因和标记基因整合的稳定性、表达的稳定性和表现性状的稳定性。

(6)提供转基因动物健康状况的资料。

(7)提供转基因动物功能效率评价的资料。

(8)提供转基因动物环境适应性的资料。

(9)提供关键成分分析的资料。

(10)提供新表达蛋白体外模拟胃液蛋白消化稳定性试验

资料。

(11)必要时提供全食品毒理学评价资料。

(12)提供农业转基因生物技术检测机构出具的检测报告,包括确认转化体身份的核酸检测。

2. 用取得农业转基因生物安全证书的转基因动物与常规品种杂交获得的含有转基因成分的动物申请生产性试验

(1)提供所申报转基因动物样品、对照样品及检测方法。样品要求:动物血样或动物组织。方法要求:提供外源插入序列信息及转化体特异性核酸检测方法等。

(2)已取得农业转基因生物安全证书的转化体综合评价报告及相关附件资料。

(3)提供亲本名称及其选育过程的资料。

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

(五)申请安全证书

分为两种类型,一是转基因动物申请安全证书,二是用取得农业转基因生物安全证书的转基因动物与常规品种杂交获得的含有转基因成分的动物申请安全证书。

1. 转基因动物申请安全证书

(1)汇总以往各试验阶段的资料,提供环境安全和食用安全

综合评价报告。

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

(3)提供转基因动物遗传稳定性不少于连续2代的资料,包括目的基因整合的稳定性、表达的稳定性和表现性状的稳定性。

(4)提供不少于连续2代转基因动物健康状况的资料。

(5)提供不少于连续2代转基因动物功能效率评价的资料。

(6)提供不少于连续2代转基因动物环境适应性的资料。

(7)提供转基因动物的逃逸(释放)及其对环境影响的资料。

(8)提供完整的食用安全资料。

(9)提供农业转基因生物技术检测机构出具的检测报告,包括:①转化体的分子特征;②新表达蛋白质与已知毒蛋白质、抗营养因子和致敏原氨基酸序列相似性比较;③急性毒性试验、营养成分分析、大鼠90天喂养等。

(10)如为续申请,则需要提供上次批准期限内的转基因动物商业化养殖数量、规模及生产性能数据。

2. 用取得农业转基因生物安全证书的转基因动物与常规品种杂交获得的含有转基因成分的动物申请安全证书

(1)申请生产性试验提供的相关资料,以及生产性试验的总结报告。

(2)提供亲本名称及其选育过程的资料。

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

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

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

(6)提供功能效率评价的资料。

(7)如为续申请,则需要提供上次批准期限内的转基因动物商业化养殖数量、规模及生产性能数据。

附件 3

动物用转基因微生物安全评价指南

一、定义和分类

动物用转基因微生物，是指利用基因工程技术改变基因组构成，在农业生产或者农产品加工中用于动物的重组微生物及其产品。动物用转基因微生物主要分为基因工程亚单位疫苗、基因工程重组活载体疫苗、基因缺失疫苗、核酸疫苗、基因工程激素类疫苗及治疗制剂、饲料用转基因微生物、基因工程抗原与诊断试剂盒等。

（一）基因工程亚单位疫苗

是指利用细菌、病毒、哺乳动物细胞、酵母、植物等体系表达的病原微生物保护性抗原蛋白制备的疫苗。该疫苗可以是纯化的抗原蛋白，也可以是未纯化的灭活混合物，其特点是含有目的抗原蛋白，无复制特性。

（二）基因工程重组活载体疫苗

是指利用基因重组技术将病原微生物的保护性抗原蛋白基因插入到低毒或无毒的细菌、病毒、支原体等载体微生物基因组中获得的活载体疫苗。该疫苗的特点是在体内可复制，且低毒或无毒。

（三）基因缺失疫苗

是指利用同源重组技术将病原微生物的致病或（和）毒力相

关的、且复制非必需的基因或基因片段全部或部分删除后获得的低毒或无毒微生物制备的疫苗。该疫苗的特点是带有基因缺失的遗传标记,可以据此区分疫苗毒株和野生毒株。

(四)核酸疫苗

是指将病原微生物的主要保护性抗原基因插入到真核表达质粒(含真核启动子)中形成DNA重组体,纯化获得的重组质粒即为核酸疫苗。核酸疫苗的特点是质粒DNA,而非蛋白,质粒DNA进入细胞后表达抗原蛋白,可以诱导机体免疫反应。

(五)基因工程激素类疫苗及治疗制剂

是指利用基因工程技术体外表达的激素(如生长激素、生长抑素等)、细胞因子(如干扰素、白细胞介素、肿瘤坏死因子等)和其它具有重要生物活性的因子。这些制剂的特点是和正常动物体内相应因子的生物学功能相似或相同,在机体内可发挥调节、干扰、或增强相应的生理功能。

(六)饲料用转基因微生物

是指利用细菌、病毒、哺乳动物细胞、酵母、植物等体系表达的功能性蛋白或肽类(如植酸酶、抗菌肽等)作为饲料添加剂。转基因微生物产品可以是纯化蛋白、活性转基因微生物或灭活转基因微生物。

(七)基因工程抗原与诊断试剂盒

是指利用基因工程技术,通过细菌、病毒、哺乳动物细胞、酵母、植物等体系表达的病原微生物功能蛋白,以此蛋白作为诊断抗

原建立诊断方法,并组装诊断试剂盒。此类制剂的特点是不含有病原微生物,只含有病原微生物的一种或几种蛋白;不用于动物体内,只用于体外检测。

(八)其它

无法纳入上述7类的其他动物用转基因微生物,如利用反向遗传操作技术体系构建的疫苗。

二、申报程序

(一)基本要求

1. 根据《农业转基因生物安全管理条例》和《农业转基因生物安全评价管理办法》规定,农业转基因生物安全评价试验,一般应当经过中间试验、环境释放、生产性试验三个阶段。

2. 中外合作、合资或者外方独资在中华人民共和国境内从事农业转基因生物研究与试验的,应当在实验研究开始前向农业部申请。

3. 首次申请农业转基因生物生产性试验和安全证书的,应提供所申报转基因微生物活性样品及检测方法。样品要求:病毒(10^2 $TCID_{50}$/ml以上)各3管,细菌(10^3 CFU/ml以上)各3管。方法要求:提供外源插入基因或缺失基因的检测方法。

4. 农业转基因生物试验结束后,可以申请农业转基因生物安全证书。在申请安全证书时提交的资料中,应包括由农业转基因生物技术检测机构出具的检测报告:确认动物用转基因微生物身份的核酸检测。

5. 不同类别动物用转基因微生物的申报程序可参照如下要求进行。

(二)各类动物用转基因微生物申报要求

1. 基因工程亚单位疫苗

(1)利用基因工程技术表达的抗原并经纯化后制备的基因工程亚单位疫苗,在中间试验结束后,可直接申请安全证书。

(2)利用基因工程技术表达的抗原未经纯化后制备的基因工程亚单位疫苗,在中间试验和环境释放结束后,依据安全评价情况,可直接申请安全证书。

2. 基因工程重组活载体疫苗

(1)利用已知的、安全的载体与已知的、安全的外源基因构建的基因工程重组活载体疫苗,在中间试验和环境释放结束后,可直接申请安全证书。

(2)利用新型的、安全性不明的载体或外源基因制备的基因工程重组活载体疫苗,应按中间试验、环境释放、生产性试验、安全证书四个阶段申报安全评价。

3. 基因缺失疫苗

(1)基因缺失活疫苗应按中间试验、环境释放、生产性试验、安全证书四个阶段申报安全评价。

(2)基因缺失灭活疫苗在中间试验结束后,可直接申请安全证书。

4. 核酸疫苗

应按中间试验、环境释放、生产性试验、安全证书四个阶段申报安全评价。

5. 基因工程激素类疫苗及治疗制剂

(1)表达蛋白作为激素使用的,在中间试验和环境释放结束后,依据安全评价情况,可直接申请安全证书。

(2)以核酸疫苗应用的激素应按中间试验、环境释放、生产性试验、安全证书四个阶段申报安全评价。

(3)用活载体表达的激素应按中间试验、环境释放、生产性试验、安全证书四个阶段申报安全评价。

(4)以纯化表达蛋白使用且安全的基因工程治疗制剂(如细胞因子和其它具有重要生物活性的因子),在中间试验结束后,可直接申请安全证书。

6. 饲料用转基因微生物

(1)利用转基因微生物的表达产物(如植酸酶、抗菌肽)或代谢物,以及转基因微生物灭活制备的产品,在中间试验和环境释放结束后,依据安全评价情况,可直接申请安全证书。

(2)利用活性转基因微生物制备的产品,应按中间试验、环境释放、生产性试验、安全证书四个阶段申报安全评价。

7. 基因工程抗原与诊断试剂盒

中间试验结束后,可直接申请安全证书。

8. 其他

(1)利用反向遗传操作技术体系构建的基因组序列与原毒株

一致且无基因插入或缺失的弱毒活疫苗，在中间试验结束后，可直接申请安全证书。

(2)利用反向遗传操作技术体系构建的经基因缺失、插入或重组制备的活疫苗，应按中间试验、环境释放、生产性试验、安全证书四个阶段申报安全评价。

(3)凡是经过基因操作的毒株，终产品为灭活的，在中间试验结束后，可直接申请安全证书。

三、总体要求

(一)分子特征

从基因水平和翻译水平，考察外源基因插入和表达情况。

1. 表达载体相关情况

(1)目的基因与载体构建的物理图谱

详细注明表达载体所有元件名称、位置和酶切位点。

(2)目的基因

详细描述目的基因的供体微生物、结构(包括基因中的酶切位点)、功能和安全性。

供体微生物：如 VP1 基因来源于口蹄疫病毒 XX 毒株。

结构：完整的 DNA 或 cDNA 序列和推导的氨基酸序列。

功能：生物学功能，如免疫原性、致病性。

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

(3)表达载体其他主要元件

启动子：供体（微）生物来源、大小、DNA 序列（或文献）、功能、安全应用记录。

标记基因和（或）报告基因：供体（微）生物来源、大小、DNA 序列（或文献）、功能、安全应用记录。

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

2. 目的基因在微生物基因组中的插入或缺失情况

采用 PCR 扩增外源基因片段，进行扩增产物的序列测定，分析外源基因片段的插入情况或分析微生物基因缺失情况。

3. 目的基因在微生物体中的表达情况

采用 Western-Blot 等血清学方法，从蛋白质水平分析外源基因的表达情况。

（二）遗传稳定性

评价转基因微生物菌（毒）种的遗传稳定性和目的基因在转基因微生物中表达的稳定性。

1. 目的基因整合的稳定性

用 Southern 或 PCR 技术检测目的基因在转基因微生物菌（毒）种中的整合情况，提供不少于 5 代的试验数据。

2. 目的基因表达的稳定性

用 Western-Blot 等血清学方法分析目的基因在转基因微生物菌（毒）种中蛋白水平表达的稳定性，提供不少于 5 代的试验数据。

（三）转基因微生物的生物学特性

转基因微生物的生长或培养特性、理化特性(细菌)、致病性与免疫特性。

(四)转基因微生物对动物的安全性

转基因微生物对靶动物和非靶动物的安全性、高剂量使用对靶动物的安全性、对妊娠动物的安全性。

(五)转基因微生物对人类的安全性

评价转基因微生物对人类的感染性和致病性。以提供资料为主,涉及到人兽共患病病原应提供在历史上有无对人类感染或致病记录,必要时应提供人体细胞、特定模型动物和灵长类动物感染性试验报告。

(六)转基因微生物对生态环境的安全性

评价转基因微生物在应用环境中的存活情况,在靶动物之间的水平和垂直传播能力,以及与其他相近微生物发生遗传重组的可能性,对动物体内正常菌群和环境微生物的影响。

四、各类动物用转基因微生物安全评价要求

动物用转基因微生物安全评价应按照《农业转基因生物安全评价管理办法》的规定撰写申报书,并参照如下要求提供各类动物用转基因微生物安全评价材料。

申请动物用转基因微生物实验研究的,项目名称应包含目的基因名称、受体微生物名称、实验研究所在省(市、自治区)名称和实验研究阶段等内容,如"表达新城疫病毒 HA 基因的重组鸡痘病毒基因工程疫苗在江苏省的实验研究"。一份申报书只能包含同

一种受体微生物和相同的基因。外源基因包括目的基因、标记基因、报告基因以及启动子、终止子和其他调控序列。外源基因名称应当是按国际通行规则正式命名的名称或 GenBank 中的序列号，未正式命名或无 GenBank 序列号的应提供基因序列。实验年限一般为一至两年。

(一)基因工程亚单位疫苗

1. 申请中间试验

(1)提供前期研究报告，包括表达载体的构建、外源基因的表达和蛋白纯化工艺等。

(2)评价产品对靶动物的安全性，重点是产品用于靶动物后的临床反应。

2. 申请环境释放

(1)提交中间试验阶段安全性试验的总结报告。

(2)未经纯化的产品用于靶动物后，产品中抗性质粒在环境中的转移情况。

3. 申请安全证书

提交各阶段的安全评价试验总结报告。

(二)基因工程重组活载体疫苗

1. 申请中间试验

(1)提供前期研究报告，包括重组活载体疫苗的构建、外源基因的表达、重组微生物的遗传稳定性、生物学特性等。

(2)评价产品对靶动物致病性，以及产品用于非靶动物后的

临床反应。

2. 申请环境释放

(1)提交中间试验阶段安全性试验的总结报告。

(2)评价疫苗毒株的水平传播和垂直传播能力;检测疫苗毒株在应用环境中的存活能力,以及疫苗毒株在靶动物的存留和排毒情况。

(3)涉及人兽共患病病原的产品,还应评价产品对人类的安全性,以及疫苗毒株与其他微生物发生遗传重组的可能性。

3. 申请生产性试验

(1)提交中间试验和环境释放阶段安全性试验的总结报告。

(2)继续检测疫苗毒株在应用环境中的存活能力,以及疫苗毒株在靶动物的存留和排毒情况。

4. 申请安全证书

提交各阶段的安全评价试验总结报告。

(三)基因缺失疫苗

1. 申请中间试验

(1)提供前期研究报告,包括基因缺失疫苗的构建、遗传稳定性和生物学特性等。

(2)基因缺失活疫苗:评价基因缺失疫苗毒株对靶动物致病性,以及用于非靶动物后的临床反应;提供实验室内基因缺失毒株与野生毒株重组获得缺失致病基因能力的研究报告。

(3)基因缺失灭活疫苗:评价产品对靶动物的安全性,重点是

产品用于靶动物后的临床反应。

2. 申请环境释放

(1)提交中间试验阶段安全性试验的总结报告。

(2)评价基因缺失疫苗毒株在靶动物体内的增殖、分布和存活情况;评价基因缺失疫苗毒株水平传播和垂直传播能力。

(3)涉及人兽共患病病原的产品,还应评价产品对人类的安全性,以及疫苗毒株与其他微生物发生遗传重组的可能性。

3. 申请生产性试验

(1)提交中间试验和环境释放阶段安全性试验的总结报告。

(2)继续观察基因缺失疫苗毒株的水平传播和垂直传播能力。监测缺失毒株与野生毒株重组获得缺失致病基因的能力。

4. 申请安全证书

提交各阶段的安全评价试验总结报告。

(四)核酸疫苗

1. 申请中间试验

(1)提供前期研究报告,包括核酸疫苗的构建、外源基因的表达、制备工艺等。

(2)评价核酸疫苗质粒 DNA 在靶动物注射部位存留情况,以及在靶动物体内相关组织分布情况;监测靶动物血液中质粒 DNA 的存在和持续时间;评价重组质粒与宿主细胞染色体(基因组)的整合情况。

2. 申请环境释放

(1)提供中间试验阶段安全性试验的总结报告。

(2)监测靶动物粪便中核酸疫苗质粒 DNA 的存在;检测重组质粒 DNA 抗性基因向环境微生物(如以大肠杆菌作为指示菌)中转移的可能性。

3. 申请生产性试验

(1)提供中间试验和环境释放阶段安全性试验的总结报告。

(2)继续检测重组质粒 DNA 抗性基因向环境微生物(如以大肠杆菌作为指示菌)中转移的可能性。

4. 申请安全证书

提交各阶段的安全评价试验总结报告。

(五)基因工程激素类疫苗及治疗制剂

1. 申请中间试验

(1)提供前期研究报告,包括表达载体构建、外源基因的表达、重组微生物的遗传稳定性等。

(2)在实验室可控条件下,检测靶动物的临床安全性、生理学和病理学变化;监测产品在体内的代谢(消长规律)。

(3)以核酸疫苗应用的应评价质粒 DNA 在靶动物注射部位存留情况,以及在体内相关组织分布情况;监测靶动物血液中质粒 DNA 的存在和持续时间;评价重组质粒与宿主细胞染色体(基因组)的整合情况。

2. 申请环境释放

(1)提交中间试验阶段安全性试验的总结报告。

(2)分析靶动物的食用安全性;检测靶动物的生理学和病理学变化。

(3)以核酸疫苗应用的应监测靶动物粪便中核酸疫苗质粒DNA的存在;检测重组质粒DNA抗性基因向环境微生物(如以大肠杆菌作为指示菌)中转移的可能性。

(4)以活载体疫苗应用的应评价疫苗毒株的水平传播和垂直传播能力;检测疫苗毒株在应用环境中的存活能力,以及疫苗毒株在靶动物的存留和排毒情况。涉及人兽共患病病原的产品,还应评价产品对人类的安全性,以及疫苗毒株与其他微生物发生遗传重组的可能性。

3.申请生产性试验

(1)提交中间试验和环境释放阶段安全性试验的总结报告。

(2)继续检测靶动物的生理学和病理学变化。

(3)以核酸疫苗应用的继续检测重组质粒DNA抗性基因向环境微生物(如以大肠杆菌作为指示菌)中转移的可能性。

(4)以活载体疫苗应用的继续检测疫苗毒株在应用环境中的存活能力,以及疫苗毒株在靶动物的存留和排毒情况。

4.申请安全证书

提交各阶段的安全评价试验总结报告。

(六)饲料用转基因微生物

1.申请中间试验

(1)提供前期研究报告,包括重组微生物的构建、外源基因的

表达、遗传稳定性等。

(2)在实验室可控条件下,检测产品对靶动物的安全性,重点是产品用于靶动物后的临床反应,以及产品的食用安全性(如分析产品对小鼠的急性毒性)。

2. 申请环境释放

(1)提交中间试验阶段安全性试验的总结报告。

(2)检测产品对靶动物的安全性;分析产品中抗性质粒在环境中的转移情况。

(3)以活载体微生物应用的应评价重组微生物的水平传播和垂直传播能力;检测重组微生物在应用环境中的存活能力,以及重组微生物在靶动物的存留和排毒情况。涉及人兽共患病病原的产品,还应评价产品对人类的安全性,以及重组微生物与其他微生物发生遗传重组的可能性。

3. 申请生产性试验

(1)提交中间试验和环境释放阶段安全性试验的总结报告。

(2)继续检测产品对靶动物的安全性。继续分析产品中抗性质粒在环境中的转移情况。

(3)以活载体微生物应用的继续检测重组微生物在应用环境中的存活能力,以及重组微生物在靶动物的存留和排毒情况。

4. 申请安全证书

提交各阶段的安全评价试验总结报告。

(七)基因工程抗原与诊断试剂盒

1. 申请中间试验

提供前期研究报告，包括表达载体的构建、外源基因的表达、蛋白纯化工艺等。

2. 申请安全证书

提交中间试验安全评价总结报告。

（八）其它

1. 利用反向遗传操作技术体系构建的基因组序列与原毒株一致而且无基因插入或缺失的弱毒活疫苗，中间试验仅进行基因操作评价。

2. 利用反向遗传操作技术体系构建的经基因缺失、插入或重组制备的活疫苗，按基因缺失疫苗安全评价要求进行评价。

3. 凡是经过基因操作的毒株，终产品为灭活的，按基因工程亚单位疫苗安全评价要求进行评价。

农业部办公厅　　2017 年 1 月 24 日印发