

# 簡介美國基因轉殖水產 生物安全評估規範-以 *AquAdvantage* 鮭魚為例

撰文/陸振岡

## 前言

水產養殖在臺灣與亞洲地區是一個主要的產業。由於人們生活的改進，對水產品的需求越來越多，這將需要生產更多高品質的水產養殖種類。基因工程為一有效的工具，可在水產養殖培育新品種的過程中扮演重要角色。我國在 90 年代即開始進行基因轉殖魚的研究，用以改進成長率、改善抗病力與抗環境緊迫等目的，臺灣也是世界上首先將基因轉殖觀賞魚商品化的國家之一。

由於基因轉殖產品的特性，基因轉殖魚應用在觀賞、食品和醫學上具有其特殊意義。臺灣業者已利用基因轉殖技術將水母、珊瑚的螢光轉殖入觀賞魚類受精卵，產生綠色、紅色或者螢光色的小型與中大型觀賞魚種；另外，新加坡大學所研發的螢光斑馬魚也銷售到美國各州，但加州以安全理由，至今仍未允許基因轉殖魚在該州上市。

目前所研發中的基因轉殖水產生物大都仍具有繁殖能力，一旦逃脫至自然水域地區，若無有效的管理，將會造成對自然環境衝擊的疑慮。因此，在政府準備發展基因轉殖水產生物產業之際，建立科學化的風險評估和針對基因轉殖動物對非目標物種的影響、基因佈流 (gene flow) 和基因轉殖水產生

物對當地生態衝擊等管理是有必要的，這將可保護人類健康與維護水中生態環境和水生生物的遺傳資源。

## 基因轉殖鮭魚之發展歷程

基因轉殖技術雖然具有很多優點，但國際間對這項科技之安全性仍有不少保留的觀點，理由主要在於基因轉殖技術涉及遺傳物質在不同物種間移植，這種超越自然現象的科技，有可能導致生態與食品安全問題。除了對人體健康的安全疑慮之外，國際間對於基改產品的關切還包括生態環境方面，而其危害可能是轉殖基因本身所引起的，或者因為生產轉殖生物的操作所引起之疑慮。在基因轉殖水產動物之疑慮即是一旦當轉殖生物外逃到自然界，可能會變成強勢化且具交配優勢，但其壽命較短，結果可能反造成當地野生種滅絕（即特洛伊基因效應 (Trojan gene effect)）。基改鮭魚之所以引起強烈的反彈，就是擔心基改魚的生長勢太強，一旦外逃會導致當地野生鮭魚族群因競爭力小而受到絕種的威脅。

*AquAdvantage*<sup>®</sup> 鮭魚 (AAS) 是一種利用基因工程 (Genetic Engineering, GE) 技術所培育之快速

增長型的大西洋鮭魚 (*Salmo salar*)，適合於商業水產養殖中使用。*AquAdvantage*<sup>®</sup> 鮭魚的開發已經持續約 15 年，開發公司 Aqua Bounty Technologies (ABT) 正在尋求監管部門美國食品及藥物管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 的獸醫醫學中心 (Center for Veterinary Medicine, CVM) 批准其動物新藥申請 (New Animal Drug Application, NADA)。為了解決 *AquAdvantage*<sup>®</sup> 鮭魚潛在的環境風險與緩解各界對於基因轉殖水產動物的食品安全與環境風險等疑慮，日前 ABT 公司提出一份環境評估 (Environmental Assessment, EA) 報告書，列舉出基因轉殖水產動物生物安全評估與風險評估策略，並且逐步提出科學證據，以期獲得該 NADA 申請。

### 基因轉殖鮭魚之安全評估

依據第 187 號 GE 規範文件 (CVM, 2009) 所述，GE 動物需受新版聯邦藥物、食品與化妝品法案 (FFDCA) 中的動物新藥之規定，此外，CVM 建立了基於風險的分層方法揭露其安全性與有效性，此與 FFDCA(21 USC 321 et seq.) 及其授權法規 (21 CFR 511 & 514) 的精神是一致的。有關環境生態風

險評估過程 (圖一)，是以產品定義開始，逐步審查可能發生的危害，包括重組基因結構、基因轉殖動物譜系、基因轉殖動物基因型與表現型經久性，這些資訊都是 CVM 作為評斷基因轉殖動物對動物、人類與環境造成可能的或潛在的嚴重影響。

#### (一) 風險評估執行依據

環境生態風險評估原則為環境美國環保局 (EPA, 1998) 參考國家研究委員會 (NRC, 2002) 基因改造生物原則規範而修訂。風險是指暴露時的連帶風險概率及暴露時發生傷害的制約概率。在這種情況下，國家研究委員會概述了這些風險分析的步驟 (NRC, 2002)：

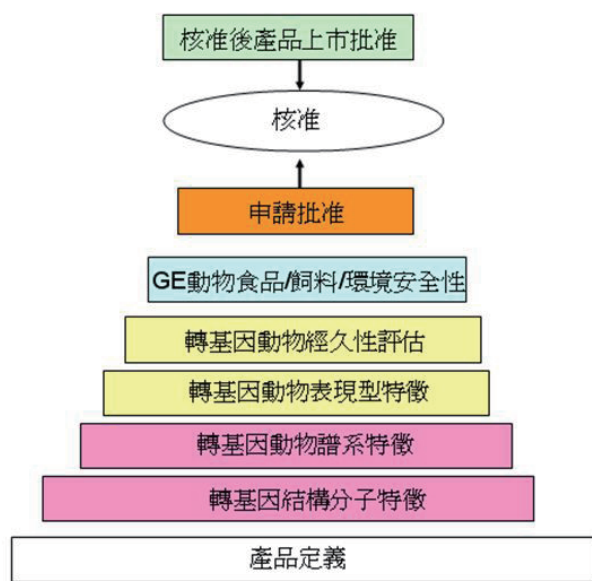
1. 找出潛在危害的可能性，不論可能發生的機率。
2. 找出導致這些危害的所有潛在風險來源。
3. 定義基改生物體的暴露意義和可能的暴露。
4. 量化基改動物暴露風險時可能發生的危害。
5. 結合基改動物因而發生的概率來描述風險。

#### (二) 風險評估定義

風險評估可以被定義為「一個評估過程包括了驗明參與者不確定性，與驗明發生在人或環境其暴露在特定環境下或一個危險源中的可能性和反效果的嚴重性 / 事件」，其中包括危害鑑定、危害特徵、可能暴露的評估和風險特徵。危害 (hazard) 是引起一個反效果的潛在風險來源，在 GMOs 的風險評估過程的後續步驟是鑑定引起此反效果的特性、評估他們的潛在後續效應、評估風險發生的可能性，和評估所提出的每個基改生物的風險。

#### (三) 比較分析

風險評估策略首先展開尋找合適的處理方法，並比較 GE 動物產品與它的非基因轉殖物種；在任何不論是有意或無意的差異鑑定上，這個比較是後續安全評估的起點。為了建立並且成為有效力



圖一 基因改造動物環境生態風險評估過程

的法案，應該使用合適統計技術的數據分析，同時使用方法的檢測極限應該加以說明。需分析這次插入的提供者外源基因和其他相關 DNA，導致那些寄主的生物個體與其親代不盡相同。因此，風險評估處理則專注於以合適的比較組合，來比較經基因轉殖過程後的結果。為此目的，經濟合作開發組織 (The Organization For Economic Cooperation and Development, OECD) 開發了「相似關係」和「實質等同」等的概念，並且更進一步由世界衛生組織 (WHO) 及聯合國糧農組織 (FAO) 闡明 GMO 的環境安全評估與基因改造食品的安全評估。

### 1. 相似關係(similarity)的概念

相似的概念基於創始設計的事實，大多數的基改生物是從已知的生物體，例如農作物或其他生物所發展出來的。生物體本身沒有所謂風險或安全性問題，但是相似性使風險評估者可利用過去的知識和經驗，將相似的生物，包括基改農作物引入至環境。在任何新品系或者農作物大規模引入至特別環境之前，來自過去的知識和經驗之相似性可以用作從事風險及安全性分析。

### 2. 實質等同(substantial equivalence)的概念

實際相等的概念係基於一個概念，即現有的生物體已具有作為安全食品及飼料使用的歷史，便可當作基改食物及飼料之比較對象。

## 基因轉殖鮭魚之風險評估的具體資料

本文以下以 ABT 公司的生長快速鮭魚產品 *AquAdvantage*<sup>®</sup> 鮭魚為例，ABT 向美國 FDA 的獸醫中心所提出的生物安全評估報告書列舉出：

### (一) 基因轉殖水產動物遺傳特性評估

水產動物之繁殖特性、生殖方式(卵生、卵胎生動物)、配子傳播途徑等特性甚為多樣化，如外源基因之特性、交配親合性配子之活力、孵化率、壽命等，因水生動物種類不同而有所差異，且基因產物可能存在之毒性亦因而有所不同。因此，基因轉



圖片由右至左依序為前中央研究院動物研究所臨海研究站郭欽明主任、前行政院農業委員會李健全副主任委員、Roddie Milton (hatchery manager)、筆者。

參訪位於加拿大愛德華王子島 Aqua Bounty Technologies 公司

殖水產動物遺傳特性之調查包括：(1) 基因轉殖動物之繁殖特性及一般性狀表現繁殖特性;(2) 一般特性。

### (二) 基因操作的安全性評估

基因操作的安全性評估項目，包括：

1. 關於基因提供者和接受者之生物體的資料。
2. 用於基因轉殖的方法。
3. 關於在轉殖過程中使用DNA資料。
4. 關於實際上轉殖插入/ 刪除的DNA序列。
5. 關於插入物的表示的資料。
6. 關於轉基因的遺傳性和穩定度。
7. 外源基因在基因轉殖動物之表現部位及其穩定性。
8. 外源基因在基因轉殖動物之基因產物毒性分析等項目。

### (三) 環境的風險評估

環境的風險評估主要係針對基因佈流 (gene



AquAdvantage 鮭魚養殖設施

flow) 的風險評估，主要原則和目的在比較基因轉殖魚和他們的同種野生動物上的繁殖特性，並鑑別基因轉殖魚和野生種的親源關係是否屬於種間或種內關係，因為雜交可能性與生殖能力將直接影響同種野生動物外源物體基因基因流布，藉以保護養殖水域的生態，和免於破壞漁業資源，如此一來可保持魚種的遺傳穩定性，並保證基因轉殖水產動物所製成食品、藥物和材料的永續發展。

ABT 公司對美國 FDA 的獸醫中心 (CMV) 提出以三倍體、全雌的 AquAdvantage<sup>®</sup> 鮭魚卵的生產方式，其養殖方式實質上等同於普通養殖的大西洋鮭魚。以養殖單性鮭魚的育種策略，顯示是 100% 有效，使用不孕技術可有效的誘導產生三倍體的基因轉殖鮭魚個體，使外逃基因轉殖鮭魚無法繁殖。不孕技術可降低基因轉殖個體在同源野生種之間的基因流布風險，而 AquAdvantage<sup>®</sup> 的不孕成功率超過 99%。

#### (四) 基因轉殖水產動物之生態適應力評估

在基因轉殖水產動物之生態適應力評估所要求進行的試驗，是著重於發現主要風險因素，比較正常魚和基因轉殖魚的競爭能力，包括食物掠奪、生長條件、活存率、在數種不同的環境下的生產力。透過生態對基因轉殖魚做出改變的評估，可協助我們理解基因轉殖水產動物對養殖地區生態系統的影響。

##### 1. 比較基因轉殖魚的親魚和非基因轉殖魚之間的环境適應能力(Fitness)

根據生理特徵和水域狀態(包含溫度、鹽分、鹼性、pH 值、溶氧量)，進行基因轉殖魚的雌性親魚和非基因轉殖魚之間的环境適應能力比較。試驗主要目的在於確定在封閉式養殖環境中，各種風險因素和基因轉殖魚的环境適應力。

##### 2. 比較轉基因雌性親魚和正常的魚生產力(Prolificacy)

以指定水域(封閉與開放)水體中，研究基因轉殖與非基因轉殖魚的生產力 (prolificacy)。根據此地區的養殖密度標準，放養足夠的同年齡基因轉殖魚與相同體重和數目之非基因轉殖魚，瞭解其相似習性並攜帶可辨識之標記；同時，評估時需確認性成熟的年齡與產卵數目。

#### (五) 基因轉殖魚對非目標物種影響(non-target effect)的評估

若將基因轉殖魚作為一種食品，則將有可能直接或者間接影響人體。根據在管理基因轉殖魚過程中的「實質等同」原則，進行非目標影響評估 (non-target effect assesment) 和常規的毒理學試驗是必要的。考慮到基因轉殖魚的特性，基因轉殖魚對非目標影響的評估與「食品安全中毒物評估的檢驗步驟與方法 (Procedures and methods for toxicological assessment on food safety)」有些不同，該評估大部分著重於飼料檢驗。以基因轉殖魚餵食小白老鼠和

大鼠做毒理學實驗，包括一般的毒性（老鼠急性毒性、老鼠慢性毒性）以及生殖力的毒性（F2 老鼠的生殖力實驗）。在獲得生理學試驗和實驗動物的生物化學數值之後，即能評估基因轉殖水產生物作為人類和其他動物的食品、藥物和材料的影響。

*AquAdvantage*<sup>®</sup> 鮭魚是以當地的大西洋鮭魚為模式魚，並用於商業銷售和人類消費。這代表 *AquAdvantage*<sup>®</sup> 鮭魚是有潛在的環境影響，而環境風險主要發生在以下數種情形：

1. 在加拿大生產的發眼卵(eyed-eggs) (可發育的魚卵)。
2. 將發眼卵運輸至巴拿馬。
3. 在巴拿馬養成並加工 *AquAdvantage*<sup>®</sup> 鮭魚。
4. 在巴拿馬將 *AquAdvantage*<sup>®</sup> 鮭魚包裝/裝箱並運輸美國零售/銷售。

*AquAdvantage*<sup>®</sup> 鮭魚對環境的影響主要可為基改魚外逃，並散佈到其他地區。但如果這些可能性事件發生的機率為零或接近於零，在傳統的暴露風險評估模式下，*AquAdvantage*<sup>®</sup> 鮭魚對環境的影響則不是問題。換句話說，如果沒有逃走，就沒有風險。為阻止 *AquAdvantage*<sup>®</sup> 鮭魚逃跑、繁殖、基因佈流的可能性，將以許多遏制措施 (containment) 共同組成，其中包括物理、化學、地理環境、生物等措施，以及發眼卵生產，養成和處置。透過這些不同的組合方法可以算是一個非常高效率的控制模式。

#### （六）轉基因水產動物設施的風險管理

風險管理的具體措施將透過下列原則而確認包括：生物遏制措施、物理遏制措施、化學遏制措施和緊急的措施，主要包含：類型、目的、設備和措施的認證方法。

##### 1. 物理遏制措施

養殖設備一定要非常穩固，並且在排水門裡應該有 3 層以上的保護網。具有自然災害控制的設備，例如防洪設施應該設置在轉基因魚養殖區內。

##### 2. 生物學遏制措施

在基因轉殖魚養殖池的排水系統中，建立一個掠食魚類的動物養殖池塘。當排水門的 3 層保護網失效時，這個掠食魚類的動物養殖池塘可在防止基因轉殖魚逃走時，產生一定作用。另外，就是發展基因轉殖子代之不孕技術。

##### 3. 化學遏制措施

在生物控制區下游建立一個封閉式蓄水池，當物理和生物學控制設備失效時，可加入高濃度生石灰，毒殺基因轉殖魚，達成防止基因轉殖魚逃走之目的。

##### 4 緊急措施

- (1) 防止基因轉殖魚逃走，應該建立緊急回報措施。一旦外逃的情況發生，應立即向所屬上級報告或國家管理部門報告。
- (2) 確定基因轉殖動物安全的網路通信的通暢。
- (3) 建立安全焚燬基因轉殖魚的設備。

#### 結語

針對基改鮭魚 *AquAdvantage*<sup>®</sup> Salmon 之食用安全評估，美國 FDA 於 2010 年 9 月 3 日公布一份初步分析報告表示，該基改鮭魚作為食物與傳統大西洋鮭魚一樣安全。基於 ABT 公司提出的多種養殖防護措施，並僅出售不孕雌魚的情況下，FDA 也認為基改鮭魚逃脫或干擾生態的機率非常渺小。FDA 後於 2010 年 9 月 19-21 日，召開諮詢委員會及公聽會，將委員會及公眾意見納入考量，之後再研議是否核准基改鮭魚上市。然而，2011 年 6 月 22 日，美國眾議院透過投票禁止 FDA 批准基因轉殖鮭魚供人食用的決議。面對已開發 15 年的 *AquAdvantage*<sup>®</sup> Salmon 是否能順利商品化，美國各界仍持續討論之中。

AgBIO

陸振岡 國立臺灣海洋大學 水產養殖學系 副教授

### 參考文獻

1. Aqua Bounty Technologies, Inc. (2010) *Environmental Assessment for AquAdvantage Salmon. Submitted to the Center for Veterinary Medicine US Food and Drug Administration For Public Display*. P 1-84.
2. Berdal, K.G. and Holst-Jensen, A. (2001) *RoundupReadyR soybean event specific real-time quantitative PCR assay and estimation of the practical detection and quantification limits in GMO analyses*. Eur. Food Res. Technol. 213:432-438.
3. Busch, U., Muhlbauer, B., Schulze, M. & Zagon, J. (1999) *Screening-und spezifische Nachweismethode fur transgene Tomaten (Zeneca) mit der Polymeraskettenreaktion*. Deutsche Lebensmittelrundscha, Heft 2: 52-56.
4. Ehlers, B., Strauch, E., Goltz, M., Kubsch, D., Wagner, H., Maidhof, H., Bendiek, J., Appel, B. and Buhk, H. J. (1997) *Nachweis gentechnischer Veranderungen in Mais mittels PCR*. Bundesgesundhbl. 4: 118-121.
5. Hardegger, M., Brodmann, P. & Herrmann, A. (1999) *Quantitative detection of the 35S promoter and the NOS terminator using quantitative competitive PCR*. Eur. Food Res. Technol. 209: 83-87.
6. Hupfer, C., Hotzel, H., Sachse, K. and Engel, K.-H. (1998) *Detection of the genetic modification in heat treated products of Bt maize by polymerase chain reaction*. Lebensm. Unters. Forsch. 206: 203-207.
7. Matsuoka, T., Kuribara, H., Akiyama, H., Miura, H., Goda, Y., Kusakabe, Y., Isshiki, K., Toyoda, M. and Hino, A. (2001) *A multiplex PCR method of detecting recombinant DNAs from five lines of genetically modified maize*. J. Food Hyg. Soc. Japan 42: 24-32.
8. Meyer, R., Chardonens, F., Hubner, P. and Luthy, J. (1996) *Polymerase chain reaction (PCR) in the quality and safety assurance of food: detection of soya in processed meat products*. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 203: 339-344.
9. Pietsch, K., Waiblinger, H. U., Brodmann, P. and Wurz, A. (1997) *Screeningverfahren zur Identifizierung "gentechnisch veränderter" pflanzlicher Lebensmittel*. Deutsche Lebensm. Rundsch. 93: 35-38.
10. Studer, E., Rhyner, C., Luthy, J. and Hubner, P. (1998) *Quantitative competitive PCR for the detection of genetically modified soybean and maize*. Z. Lebensm. Unters. Forsch. A. 207: 207-213.
11. Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G. and Bouvet, J. (1991) *Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA*. Plant Mol. Biol. 17: 1105-1109.
12. Taverniers, I., Wiendels, P., Van Bockstaele, E. and De Loose, M. (2001) *Use of cloned DNA fragments for event specific quantification of genetically modified organisms in pure and mixed food products*. Eur. Food Res. Technol. 213:417-424.
13. Terry, C. & Harris, N. (2001) *Event specific detection of RoundupReady soya using two different real time PCR detection systems*. Eur. Food Res. Technol. 213:425-431.
14. Vaitilingom, M., Pijnenburg, H., Gendre, F. and Brignon, P. (1999) *Real-time quantitative PCR detection of genetically modified maximizer maize and RoundupReady soybean in some representative foods*. J. Agric. Food Chem. 47: 5261-5266.
15. Van den Eede, G., Lipp, M., Eyquem, F. and Anklam, E. (2000) *Validation of a double competitive polymerase chain reaction method for the quantification of GMOs in raw materials*. Report published by the European Commission, Joint Research Centre, IHCP, Ispra, Italy. pp40.
16. Zimmermann, A., Liniger, M., Luthy, J. and Pauli, U. (1998) *A sensitive detection method for genetically modified MaisGard? corn using a nested PCR-system*. Lebensm.-Wiss. u. Technol. 31: 664-667.
17. Zimmermann, A., Luthy, J. and Pauli, U. (2000) *Event specific transgene detection in Bt11 corn by quantitative PCR at the integration site*. Lebensm.-Wiss. u. Technol. 33: 210-216.