

歐盟新興育種技術之管理觀點

撰文/李盼·張羽萱·余祁暉

近幾年，新興生技如 ZFN、RdDM、ODM 等，透過有別於傳統基因改造之方式，並非制式地插入所需性狀之外源基因，而可能透過誘發突變、誘導其不表現特定基因片段或帶有性別相容物種之特定基因序列等方法達成目的，因此，其是否有別於傳統基因改造生物，以及法律上之定位為何，逐漸於國際上引起討論，其中又以歐盟最為重視。

根據歐盟執委會發佈的資料，新興育種技術 (new plant breeding techniques, NPBTs) 共有八類，分別為鋅指核酸酶 (zinc finger nuclease technology, ZFN)、寡核苷酸定向突變 (oligonucleotide-directed mutagenesis, ODM)、同源基因轉殖 (cisgenesis/intragenesis)、依賴 RNA 的 DNA 甲基化 (RNA-dependent DNA methylation, RdDM)、嫁接 (grafting)、反向育種 (reverse breeding)、農桿菌滲入法 (agro-infiltration *sensu stricto*, agro-inoculation, agro-infection, floral dip) 及合成基因體學 (synthetic genomics)。本文整理近年歐盟之討論現況，並針對歐盟現有法規體制進行探討，以了解目前歐盟新興生技之法規定位及發展方向。

歐盟國內對於新興生技之討論現況

根據歐盟 2001/18/EC 指令 Article 2(2)，GMO 定義為人類以外之生物，其基因受到某些方式之改變，但其改變並非經由自然交配或自然重組所產生 (an organism, with the exception of human beings, in which the genetic material has been altered in a way

that does not occur naturally through mating and/or natural recombination)。其法規中亦分別列出基因改造技術及非基因改造技術之範圍，其中 2001/18/EC Annex IA Part 1 為基因改造技術，而 2001/18/EC Annex IA Part2 及 Annex IB 定義非基因改造技術。

2001/18/EC Annex IA Part 1 之基因改造技術包含 (1) 核酸重組：於生物序列插入原生物以外 (含任何病毒、細菌、載體、生物) 之基因片段，於自然情況下不會發生，但其產物仍具繁殖能力者；(2) 直接將其他生物之遺傳物質經由微注射、微膠囊等方式轉入生物之技術；(3) 細胞融合或雜交技術：非自然情況下活細胞遺傳物質透過兩個或以上之細胞融合而產生新組成。

而 2001/18/EC Annex IA Part2 及 Annex IB 之不屬於基改之技術，包含體外受精 (*in vitro* fertilisation)、自然發生之遺傳物質傳遞 (natural processes, 如 conjugation, transduction, transformation)、多倍體誘導 (polyploidy induction)、突變 (mutagenesis)、植物細胞融合之遺傳物質可透過傳統育種方法發生者 (cell fusion (including protoplast fusion) of plant cells of organisms which can exchange genetic material through traditional breeding methods)。由上述可知，於歐盟法規中，非自然情形下發生之基因重組、改變之產物，即視為 GMO，法規中明列為基改之技術為傳統之基因改造

技術；而明列為非基改者，則為已廣為使用之生物技術且可能於自然情況下發生。

歐盟國內自 2007 年開始對新興育種技術進行討論，討論面向包含法規定位、經濟衝擊、風險評估及檢測之可能性等，其中包含新興技術委員會 (New Techniques Working Group, NTWG)、JRC 委員會 (Joint Research Center Working Group)、歐洲食品安全局 (European Food Safety Authority, EFSA) 及歐洲科學研究院科學諮詢委員會 (European Academies Science Advisory Council, EASAC)。而歐盟原訂於 2015 年年底完成之新興植物育種技術法律意見書，現已延期至 2016 年。

(一) 新興技術委員會(NTWG)

歐盟執委會於 2007 年籌組專家組成新興技術委員會，主要任務為建立新興育種技術清單，並評估其產物之管理現況。NTWG 於 2011 年發表其結論¹，並透過科學面及技術面，歸納出各類新興技術產物是否涵蓋於歐盟 GMO 的規範，NTWG 將 ODM、ZFN、cisgenesis、基改作物嫁接、agro-infiltration、RdDM、反向育種及合成基因體學列入之報告中，即歐盟現行沿用之 8 種 NPBTs。

1. ZFN

由於 ZFN-1 及 ZFN-2 並未插入基因片段，NTWG 專家一致認為其屬於歐盟定義之非基改範圍 (2001/18/EC annex IB)，而其產物由突變而得，亦無法與自然情況下發生之突變區分，因此由技術及最終產物來看，ZFN-1 及 ZFN-2 屬於非基改範圍。ZFN-3 因會插入特定基因片段，因此 NTWG 專家一致認為其屬於歐盟定義之基改範圍 (2001/18/EC annex IA part 1)。

2. ODM

NTWG 認為 ODM 使用之寡核苷酸片段並非重組核酸，而寡核苷酸片段在細胞中不會複製或遺傳，且此技術引起的突變屬歐盟定義之非基改範圍 (2001/18/EC annex IB)，然而部分專家認為 ODM 引

起基因發生改變會遺傳至子代，但寡核苷酸來源並非生物，屬於歐盟定義之基改範疇 (2001/18/EC annex IA part 1)。

3. RdDM

NTWG 專家之討論提到某些情況下 RNA 片段表現的 DNA 插入基因組中，視為基改，然而某些情況下 RNA 片段表現的 DNA 僅短暫出現且不會插入基因組中，該植株視為基改，但產生之果實、種子或其他子代為非基改。因此，NTWG 專家一致認為 RdDM 使用之外來遺傳物質片段不會插入原有基因組之情況下，且該遺傳物質片段並不會於細胞中複製，因此由最終產物來看，由 RNA 引起之 DNA 甲基化視為非基改。

4. 反向育種

在反向育種的過程中，中間產物可能為基改，但因反向育種的目標為篩選優良 F1 親代，因此篩選過程將進行基因體的控制，以得到非基改的植株，由最終產物來看，NTWG 專家一致認為反向育種得到之植株視為非基改。

5. 農桿菌滲入法

農桿菌滲入法可分為兩種，其一為「agro-infiltration *sensu stricto*」，以非生殖細胞作為基改農桿菌作用之平台，將農桿菌送入植物細胞的主要目的並非將農桿菌之基因插入植物細胞中，而是透過農桿菌大量表現某種與目標性狀相關的物質，藉以篩選植物植株，NTWG 專家認為雖然農桿菌基因插入植物基因組的可能性極小，但仍不無可能，因此若以最終產物來看，大部分 NTWG 專家認為經農桿菌篩選之子代，經確認無人為插入特定基因片段後，即視為非基改，然而若以中間產物來看，含有基改農桿菌的植株，則視為基改。

另一種農桿菌滲入法為「floral dip」，以生殖細胞作為農桿菌作用之平台，目的為藉由農桿菌將特定基因片段插入植物基因組中，以產生帶有特定基因片段之後代，NTWG 專家一致認為由技術及最終

¹此結論仍不代表歐盟的最終立場，需透過EFSA評估。

產物來看，floral dip 屬基改範疇。

6. Cisgenesis

NTWG 專家認為 cisgenesis 技術為將重組 DNA 送入細胞，並引進植物基因組中，因此一致認為 cisgenesis 涵蓋於歐盟定義之基改範圍 (2001/18/EC annex IA part 1)，另外，專家亦提到某些情況 cisgenesis 與自我選殖 (self-cloning) 相同。

7. 嫁接

NTWG 專家一致認為將非基改之枝條嫁接於基改砧木上，整個植株嵌合體 (chimeric) 為基改範疇，然其產出之最終產物如果實、種子為非基改；但若反之以基改之枝條嫁接於非基改砧木上，則植株嵌合體及其產出之果實、種子皆視為基改。

8. 合成基因體學

由於合成基因體學範圍太廣，NTWG 專家並未討論出具體結論。

(二) JRC 委員會

JRC 委員會於 2009 年成立，為歐盟執委會內部機構，提供獨立的科學和技術相關建議，供歐盟決策參考。2011 年 JRC 多面向地分析 NPBTs 目前發展、經濟衝擊及檢測之可能性等，並表示全球許多國家近期將確定 NPBTs 的法律定位，同時暗示將 NPBTs 視為基改產物將阻礙農業新品種的發展，且各國對於認定上的不同步將導致新品種核准之困難，因此全球性的討論、法律同步及科學依據是必要的。

(三) 歐洲食品安全局(EFSA)

EFSA 為歐盟成立之獨立科學機構，主要任務為協助歐盟建立法律及施政制度等，透過風險評估，提出科學意見供歐盟政策及立法參考。EFSA 於 2012 年受歐盟執委會委託，評估當前基改安全評估指南是否適用於 NPBTs，並發表探討所得結論之科學意見。為了分析 NPBTs 之潛在風險，EFSA 成立由基改審議委員會及外部專家組成之專家小組，

並首先討論 cisgenesis 及 intragenesis，專家小組認為其適用現有 GMO 風險評估指南，除了不須指南以外之評估外，進行風險評估時，特定品項可能可簡化所需提交之資料。其後，專家小組針對 ZFN-3 進行討論，並將 ZFN-3 更名為 SDN-3(site-directed nuclease)，而專家小組認為 ZFN-3 之目的為插入外來特定基因片段，可將其視為 transgenesis，因此當前適用 transgenesis 之指南可直接套用，同樣地，專家小組認為進行風險評估時，特定品項如同時使用 ZFN-3 及 cisgenesis 技術者，可能可簡化所需提交之資料。

(四) 歐洲科學研究院科學諮詢委員會(EASAC)

EASAC 由歐盟各會員國之國家科學研究機構於 2001 年共同成立，主要任務為促進各會員國之交流合作，並有效地傳達各國學研界的意見，以提供獨立科學建議供歐盟施政參考。EASAC 於 2013 年發表報告探討改進作物基因相關技術 (crop genetic improvement technologies) 之風險及優勢，其範疇包含 NPBTs，該報告透過分析近 20 年的上千項研究計畫及發表，並未發現證據證明基改技術較傳統育種技術有較高風險。EASAC 指出農業上應規範性狀及產物，而非使用之技術，且其規範應有科學根據 (表一)。

新興生技於歐盟法規之定位探討

(一) 歐盟GMO定義

根據歐盟 2001/18/EC 指令，GMO 定義為人類以外之生物，其基因受到某些方式之改變，但其改變並非經由自然交配或自然重組所產生。而對於技術之定義分為兩部分，分別為 2001/18/EC Annex IA Part 1 之基因改造技術，及 2001/18/EC Annex IA Part 2 及 Annex IB 定義之非基因改造技術。

由歐盟現有主要法規 2001/18/EC，歸納出其基改之定義包含：

1. 為具有繁殖能力及轉移遺傳物質的生物。

表一 歐盟於新興作物育種技術之管理觀點

簡介	管理觀點	備註	
新興技術委員會 (NTWG)	由歐盟執委會籌組，主要任務為建立 NPBTs 清單，並評估其產物。	主要由NPBTs產物是否含人為插入之特定基因片段評估是否為基改。	由最終產品來看，NTWG專家一致認為屬於基改技術者為ZFN-3及 cisgenesis。
JRC委員會	為歐盟執委會內部機構，提供獨立的科學和技術建議。	主要由NPBTs產物之可檢測性評估是否為基改。	JRC於2011年發表的報告中暗示將NPBTs視為基改產物將阻礙農業新品種的發展。
歐洲食品安全局 (EFSA)	為歐盟成立之獨立科學機構，協助歐盟建立法律及施政制度，並透過風險評估提出科學意見。	NPBTs產物風險評估可較傳統GMO簡化。	目前EFSA僅針對ZFN-3、cisgenesis及intragenesis提出科學意見。
歐洲科學研究院科學諮詢委員會 (EASAC)	由歐盟各會員國之國家科學研究機構共同成立，促進各會員國之交流合作，並傳達各國學研界的意見，以提供獨立科學建議。	應規範性狀及產物，而非使用之NPBTs技術。	EASAC分析近20年的上千項研究計畫及發表，並未發現證據證明基改技術較傳統育種技術有較高風險。

資料來源：EU Perspectives on New Plant-Breeding Techniques(2014);台灣經濟研究院生物科技產業研究中心整理分析。

- 人類以外的生物。
- 遺傳物質經歷基因改造技術、過程，而該技術、過程不會於自然情況下透過交配或自然重組產生。
- 遺傳物質含有新的組合，該新的組合不會於自然情況下透過交配或自然重組產生。
- 2001/18/EC 指令Annex IA Part 1以內之情況 (Annex IA Part 1包含核酸重組、直接將其他生物之遺傳物質經由微注射、微膠囊等方式轉入生物之技術、細胞融合或雜交技術，詳前述歐盟國內對於新興生技之討論現況)。
- 2001/18/EC 指令Annex IA Part 2、Annex IB以外之情況 (Annex IA Part 2、Annex IB包含體外受精、自然發生之遺傳物質傳遞、多倍體誘導、突變、植物細胞融合之遺傳物質可透過傳統育種方法發生者，詳前述歐盟國內對於新興生技之討論現況)。

(二) 歐盟法規與新興生技之關係

由於歐盟法規對於基因改造定義的普遍及廣泛性，近年來逐漸開始發展之新興生技伴隨了許多管理問題產生，根據目前的法規闡述，部分技術可能被視為 GMO，而可能被視為基因改造技術

者，其產物亦可能不被涵蓋在目前的法規範圍內。Callebaut(2015) 分析歐盟基改法規定義中灰色地帶，其中包含基因改造字面上定義、遺傳物質之解讀、由 GMO 繁衍之後代是否視為 GMO、短暫存在及表現之遺傳物質、重組核酸分子之定義等。

1. 基因改造定義之解讀

於 2001/18/EC 指令，將 GM 定義為「人類以外之生物，其基因受到某些方式之改變，但其改變並非經由自然交配或自然重組所產生」。於 1990 年代，傳統基因改造為將生物之遺傳物質改變成新的組合，如將新的序列插入原 DNA 序列中。然而，現今許多新興技術多為輔助育種之角色，其產出之生物亦不含新的遺傳物質組合，而 DNA 的轉移有時僅為整個過程中的一小部分。此外，「非經由自然之改變」亦對於定義有所影響，於自然或是傳統育種的情況下，生物的基因組皆頻繁改變，而法規中未定義改變的程度及技術的門檻。

上述的解讀問題對於新興生技如 ODM、ZFN、反向育種、RdDM、農桿菌滲入法及 cisgenesis 之定位皆有所影響，其中反向育種、RdDM 及 agro-infiltration，雖然技術過程中涉及基因改造，但其可控制產物不含有遺傳物質之新組成，因此，其產

出之生物為在 GMO 定義之灰色地帶。另一方面，ODM、ZFN 及 cisgenesis 為非自然情況下發生之基因改造技術，然而其產出之生物在自然情況下是有可能產生的，因此若同時考量造成改變之技術或過程及受到改變之生物本身，則 ODM、ZFN 及 cisgenesis 亦無法由法規定義直接判別是否屬於基改技術。

2. 「遺傳物質」之解讀

於 2001/18/EC 指令亦列出基因改造技術之範圍，其一為直接將其他生物之遺傳物質經由微注射、微膠囊等方式送入生物細胞之技術，在目前的定義下，基因改造之遺傳物質應為會遺傳及增殖之 DNA 或 RNA。部分新興生技涉及直接轉入遺傳物質，然而該遺傳物質為輔助之性質，可能是做為模板誘導生物透過酵素自動修復，該遺傳物質雖不會遺傳至子代，其對生物造成之基因改變則會遺傳、增殖，並於後代延續。新興生技如 ODM、ZFN-1 皆會送入遺傳物質，然而該遺傳物質不一定會改變生物之基因組，亦不會遺傳至子代。

3. 由GMO繁衍之後代是否視為GMO

部分新興生技包含多個步驟的育種，而基因改造僅為其中的一個步驟，在整個新興生技的過程中，可能應用基改生物繁殖，並調控其後代之基因不含有改造之基因片段，此外，值得注意的是植物的另一個特點，即其繁衍並非一定都是有性繁殖。目前的法規未定義此問題，也沒有明確定義由 GMO 產生之子代是否屬於 GMO 之範疇，與此有關之新興生技包含反向育種及 RdDM，雖在操作過程中皆涉及 GMO 的繁衍，但可技術性選擇後代，使其不含有改造之遺傳物質。

4. 短暫存在及表現之遺傳物質

部分新興生技並不會使用持續存在的遺傳物質，而是透過短暫存在的遺傳物質影響基因表現，有些技術的遺傳物質只會持續幾個小時，然其對基因序列的改變可持續一至兩個世代。目前歐盟的法

規未定義此問題，也沒有明確定義僅短暫含有外來遺傳物質之生物是否屬於 GMO 之範疇，與此有關之新興生技包含農桿菌滲入法、ZFN 及 RdDM。其中，農桿菌滲入法將遺傳物質引入生物並誘發短暫且暫時的基因表現改變，然而該遺傳物質並不會改變生物之基因組或成為其中的一部分，並將在短暫存在後消失。另一方面，ZFN 及 RdDM 則是引入遺傳物質並導致生物自行突變，其引入之遺傳物質亦會在一段時間後自動消失。

5. 重組核酸分子之定義

目前對傳統基因改造認為造成核酸重組，並產出與原生物不同的、新的基因序列，但對於新的基因組合定義未明，如僅改變其中一個核苷酸是否包含在內，或是改變達一定的量才被納入範疇。新興生技如 ODM 及 ZFN，皆為引入合成的 DNA 序列片段，並誘發本身的基因突變而造成改變。另一方面，突變屬於 2001/18/EC 列出之非基因改造範圍，亦使 ODM 及 ZFN 之定位更加模糊。

由以上可歸納出，若由歐盟法規基改定義解讀 NPBTs，其解讀面向包含技術及產物兩方面。在技術的部分，重要的判別點為新興技術是否為歐盟定義之基改範圍 (2001/18/EC annex IA part 1) 或非基改範圍 (2001/18/EC annex IA part 2、2001/18/EC annex IB)、及新興技術造成之現象是否可能自然發生；而在產物的部分則可分為中間產物及最終產物，並由歐盟定義之 GMO 判別，或最終產物是否可能自然出現等。

義大利國家研究院學者 Giovanni Tagliabue (2015) 表示，歐盟對於基因改造的定義過於模糊，無法準確判斷其規範之範圍，使得各界若由法規定義討論 NPBTs 的定位皆難有結果，因此建議歐盟先確立根本的定義，再探討 NPBTs 的所屬範圍。而相關的認定應有科學依據，進行風險評估時應針對個別最終產物的潛在風險，而非其生物技術過程，避免過度限縮新興生技之應用及發展性。

結論

綜合上述，由於歐盟現有 8 種 NPBTs 原理不盡相同，若由歐盟基改法規定義探討，可由新興技術本身、中間產物及最終產物等面向探討，雖歐盟各界對於 NPBTs 已進行許多討論，然而由於現有定義有許多灰色地帶，因此尚無法得到單一結論(表二)。

而在新興生技之管理上，可分為管理模式及判別原則討論，並應先確定管理模式，始得進行後續的判別原則討論(圖一)。管理模式指管理之範疇，

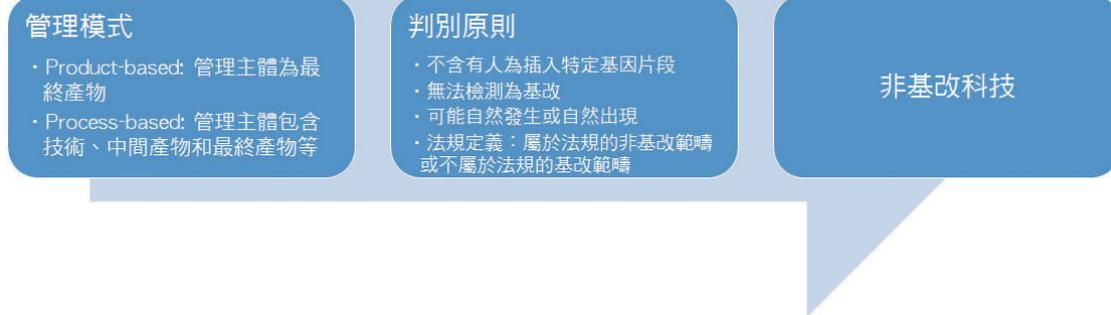
第一種為以產物為管理主體 (product-based)，則以最終產物為管理重點，第二種為以新興生技之技術過程為管理主體 (process-based)，則將涵蓋技術、中間產物及最終產物。確立管理模式後，再由判別原則分析是否為非基改，判別原則包含是否不含有人為插入的特定基因片段、是否無法檢測為基改、是否可能自然發生或自然出現、是否屬於法規的非基改範疇或不屬於法規的基改範疇等，進而將新興生技或其中的某些技術明確定位為非基改科技。

表二 NPBTs之討論結果綜合整理

NPBTs	視為非基改之原因	視為基改之原因
鋅指 核酸 酶 (ZFN)	ZFN-1 ZFN-2 ZFN-3	- - -
寡核苷酸定點突變 (ODM)	由技術來看，其引起的突變屬歐盟定義之非基改範圍；由最終產物來看，最終產物不會插入特定基因片段	由技術來看，寡核苷酸來源並非生物，屬於歐盟定義之基改範疇
依賴RNA的DNA甲基化(RdDM)	由最終產物來看，某些情況產生之果實、種子或其他子代不會插入特定基因片段	由中間產物來看，某些情況下RNA片段表現的DNA僅短暫出現且不會插入基因組中；由最終產物來看，某些情況RNA片段表現的DNA插入基因組
反向育種(reverse breeding)	由最終產物來看，篩選過程進行基因體的控制，以得到無插入特定基因片段的植株	由中間產物來看，在反向育種的過程中會使用基改植株
農桿菌滲入法(agro-infiltration)	agro-infiltration sensu stricto-由最終產物來看，經確認無人為插入特定基因片段後	agro-infiltration sensu stricto-以中間產物來看，含有基改農桿菌的植株 floral dip-由技術來看，將特定基因片段插入植物基因組中；由最終產物來看，產生之後代插入特定基因片段
同源基因轉殖(cisgenesis)	由最終產物來看，最終產物可能自然出現	由技術來看，將重組DNA送入細胞，並引進植物基因組中，屬歐盟定義之基改範圍；由最終產物來看，最終產物會插入特定基因片段
嫁接(grafting)	以非基改之枝條嫁接於基改砧木，由最終產物如果實、種子來看，不會插入特定基因片段	以非基改之枝條嫁接於基改砧木，由中間產物來看，整個植株嵌合體(chimeric)為基改範疇 以基改之枝條嫁接於非基改砧木上，由中間產物及最終產物來看，植株嵌合體及其產出之果實、種子皆視為基改
合成基因體學(synthetic genomics)	範圍太廣，NTWG專家並未討論出具體結論	

資料來源：NTWG(2012);EU Perspectives on New Plant-Breeding Techniques(2014);Callebaut(2015);台灣經濟研究院生物科技產業研究中心整理分析。

新興生技之管理模式及屬於非基改科技判別原則



資料來源：NTWG(2012); Callebaut(2015); JRC(2012); 台灣經濟研究院生物科技產業研究中心整理分析。

圖一 新興生技之管理模式及屬於非基改科技之判別原則整理

建議

在 process-based 管理模式中，管理範疇包含技術、中間產物及最終產物，歐盟目前乃採此模式，因法規涵蓋產物及技術，致使各界討論難達共識，以執委會設立 NTWG 進行新興技術管理評估來看，其在 2007 年召集成立，四年後於 2011 年得出初步結論，而歐盟原先預計於 2015 年年底完成之新興植物育種技術法律意見書，現已延期至 2016 年。可見 process-based 管理模式因考量面向複雜，面對爭議較多，達成共識所需討論時間將較久。

另一方面，根據歐盟 JRC 之報告可知，最終

產品基於科學之基改檢測性亦須納入決定管理範疇之考量因素，而 EASAC(2013) 及 Giovanni Tagliabue(2015) 之發表皆提及，針對最終產品進行規範較有利於政府管理，亦較不會阻礙新興生技產業的發展。由此可知，product-based 之管理模式較為明確，管理可行性亦較高，因此若以最終產品為管理範疇，並將「非基改」育種技術定義為：最終產物可能於自然界發生且於最終產物中無法測得外來基因之技術，便可在科學基礎下進行有效管理。

AqBIO

李盼	台灣經濟研究院	生物科技產業研究中心	專案經理
張羽萱	台灣經濟研究院	生物科技產業研究中心	助理研究員
余祁暉	台灣經濟研究院	生物科技產業研究中心	總監

參考文獻

1. Callebaut, S. (2015) *New developments in modern biotechnology: A survey and analysis of the regulatory status of plants produced through New Breeding Techniques*.
2. Lusser, M., Parisi, C., Plan, D., and Rodriguez-Cerezo, E. (2011) *New plant breeding techniques*. JRC reference reports.
3. Schiemann, J. and Hartung F. (2014) *EU perspectives on new plant-breeding techniques*. New DNA-Editing Approaches: Methods, Applications and Policy for Agriculture: 201-210.
4. Tagliabue, G. (2015) *The meaningless pseudo-category of "GMOs"*. EMBO reports: 1-4.
5. Schiemann, J. and Hartung F. (2014) *EU perspectives on new plant-breeding techniques*. New DNA-Editing Approaches: Methods, Applications and Policy for Agriculture: 201-210.
6. Tagliabue, G. (2015) *The meaningless pseudo-category of "GMOs"*. EMBO reports: 1-4.
7. Waltz, E. (2016) *Gene-edited CRISPR mushroom escapes US regulation*. Nature 532:293.