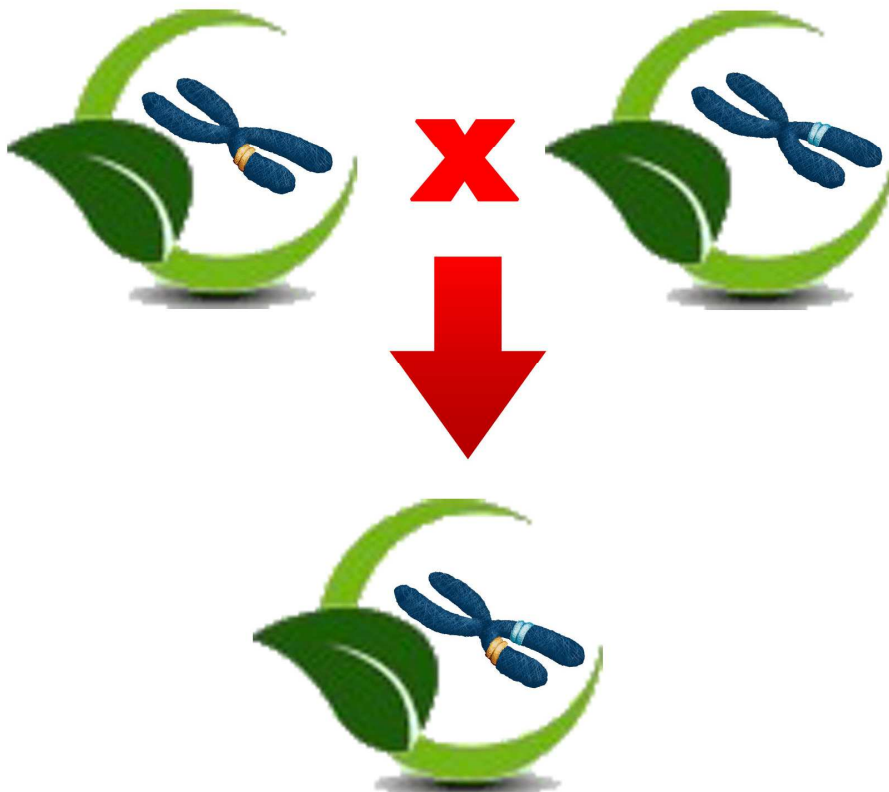


แนวทางปฏิบัติในการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพ ของพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนและผลิตภัณฑ์



โดย

คณะกรรมการเทคนิคด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ
ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

แนวทางปฏิบัติในการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพ
ของพืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนและผลิตภัณฑ์

คณะกรรมการเทคนิคด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ
ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

2556

คำนำ

พืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน (stacked genes) เกิดจากการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติ (conventional breeding) ของพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ที่เป็นพืชตัดแปลงพันธุกรรมเข้าด้วยกัน เพื่อให้เกิดการรวมยีนมากกว่าหนึ่งลักษณะที่ต้องการในรุ่นลูก นับเป็นพืชตัดแปลงพันธุกรรมใหม่ที่มีการนำมาใช้ในเชิงพาณิชย์มากขึ้น พืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนมักถูกพัฒนาขึ้นจากพ่อ - แม่พันธุ์ที่ได้รับการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพหรือมีการใช้ในเชิงพาณิชย์แล้วในหลายประเทศ แนวทางในการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพของพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนเหล่านี้ จึงมีความแตกต่างจากการประเมินความปลอดภัยของพืชตัดแปลงพันธุกรรมโดยทั่วไป คณะกรรมการเทคนิคด้านความปลอดภัยทางชีวภาพตระหนักถึงความจำเป็นในการกำหนดแนวทางปฏิบัติในการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพเฉพาะสำหรับพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน เพื่อเตรียมรับการใช้ประโยชน์จากพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนและผลิตภัณฑ์ที่อาจเกิดขึ้นในอนาคต

คณะกรรมการฯ หวังเป็นอย่างยิ่งว่าแนวทางปฏิบัติฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพของพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน หากมีข้อคิดเห็นประการใด คณะกรรมการฯ ยินดีน้อมรับ เพื่อนำไปประกอบการพิจารณาปรับปรุงต่อไป สุดท้ายนี้ คณะกรรมการฯ ขอขอบคุณคณะอนุกรรมการเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพด้านพืช และคณะอนุกรรมการเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพด้านอาหารที่กรุณาให้ความคิดเห็น ข้อมูล และมีส่วนร่วมในการจัดทำแนวทางการประเมินจนสมบูรณ์



(นางสาวกัญญวิมว์ กীরติกร)

ผู้อำนวยการศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ
ประธานคณะกรรมการเทคนิคด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ
ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ





สารบัญ

คำนำ.....	ก
คำจำกัดความ	จ
บทที่ 1 ขอบเขตแนวทางปฏิบัติ.....	1
บทที่ 2 การประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านสิ่งแวดล้อม.....	3
บทที่ 3 การประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านอาหาร.....	7
เอกสารอ้างอิง.....	11
ภาคผนวกที่ 1 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพ ของพืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนและผลิตภัณฑ์.....	13
ภาคผนวกที่ 2 การประเมินปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีนและโปรตีนชนิดใหม่ ของพืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนและผลิตภัณฑ์.....	15





คำจำกัดความ

พืชดัดแปลงพันธุกรรม (genetically modified crop) หมายถึง พืชที่มีการเปลี่ยนแปลงรหัสทางพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอ โดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ (modern biotechnology) เพื่อให้ได้ลักษณะตามต้องการ ซึ่งโดยธรรมชาติพืชนั้นไม่มีลักษณะดังกล่าว

พืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน (stacked event) หมายถึง พืชดัดแปลงพันธุกรรมที่เกิดการผสมพันธุ์โดยวิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบปกติ (conventional breeding) จากพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ที่เป็นพืชดัดแปลงพันธุกรรม

เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ (modern biotechnology) หมายถึง

1. การใช้เทคนิคกรดนิวคลีอิกในหลอดทดลอง (*in vitro*) หรือสภาพของห้องปฏิบัติการ รวมถึงการใช้สารพันธุกรรมลูกผสม และการสอดใส่กรดนิวคลีอิกเข้าไปเป็นส่วนหนึ่งของสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต หรือ
2. การรวมตัวกันของเซลล์ (fusion of cell) นอกวงศ์ (family) ทางอนุกรมวิธาน

ทั้งนี้ กรณีตาม 1 และ 2 ต้องข้ามขอบเขตไปจากการผสมพันธุ์หรือการหลอมรวมกันตามธรรมชาติ และไม่ใช้เทคนิคที่ใช้ในการขยายพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์แบบดั้งเดิม

การปรับปรุงพันธุ์แบบปกติ (conventional breeding) หมายถึง การสร้างหรือพัฒนาพันธุ์สิ่งมีชีวิตให้มีลักษณะทางพันธุกรรม (genotype) และลักษณะทางการแสดงออก (phenotype) ที่ต้องการ ด้วยการผสมพันธุ์ และการคัดเลือกในรุ่นลูก (progeny selection)

การรวมยีน (gene stacking) หมายถึง การรวมเอาลักษณะที่ต้องการหลายลักษณะมาไว้ในสายพันธุ์เดียว โดยวิธีการถ่ายฝากยีนมากกว่าหนึ่งชนิดเข้าไปในนิวเคลียสของเซลล์ ด้วยวิธีการทางพันธุวิศวกรรมหรือการนำสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมสองชนิดมาผสมข้ามด้วยวิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบปกติ และได้ลูกผสมที่มียีนใหม่มากกว่าหนึ่งชนิด

คู่เปรียบที่เหมาะสม (counterpart) หมายถึง คู่เปรียบที่ใช้เปรียบเทียบในการประเมินความเสี่ยง ได้แก่ พืชดัดแปลงพันธุกรรมสายพันธุ์พ่อแม่ (transgenic parental line) หรือพืชสายพันธุ์พ่อแม่ที่ไม่ได้ผ่านการดัดแปลงพันธุกรรม (non transgenic parental line) หรือลูกผสมระหว่างพืชสายพันธุ์พ่อแม่ที่ไม่ได้ผ่านการดัดแปลงพันธุกรรม (conventional hybrid of non transgenic parental line)

หน่วยงานที่รับผิดชอบ หมายถึง หน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่ในการดำเนินการเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมหรือความปลอดภัยทางชีวภาพตามพระราชบัญญัติที่เกี่ยวข้อง

หน่วยงานที่ได้รับมอบหมาย หมายถึง หน่วยงานที่ได้รับมอบหมายจากหน่วยงานที่รับผิดชอบให้ดำเนินการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพ





บทที่ 1 ขอบเขตแนวทางปฏิบัติ

แนวทางปฏิบัติฉบับนี้ครอบคลุมการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพของพืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนและผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นพืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนเป็นพืชดัดแปลงพันธุกรรมที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างพ่อและแม่ที่เป็นพืชดัดแปลงพันธุกรรม ครอบคลุมทั้งการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านสิ่งแวดล้อมและด้านอาหาร ทั้งนี้ หากเป็นกรณีการประเมินผลิตภัณฑ์อาหารจากพืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนหรือการประเมินเมล็ด (grain) พืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร สามารถประเมินเฉพาะความปลอดภัยทางชีวภาพด้านอาหาร และใช้ผลการทดสอบของต่างประเทศประกอบการพิจารณาได้ สำหรับกรณีเป็นเมล็ดพันธุ์ (seed) ต้องประเมินทั้งด้านสิ่งแวดล้อมและด้านอาหาร โดยใช้ข้อมูลผลการทดสอบด้านสิ่งแวดล้อมภายในประเทศเท่านั้น หลักการในการประเมินพืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนจะแยกเป็น 2 กรณี ดังนี้

กรณีที่ 1 ลูกผสมระหว่างพืชดัดแปลงพันธุกรรมที่พ่อพันธุ์ หรือ แม่พันธุ์ ยังไม่ผ่านการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพโดยหน่วยงานที่รับผิดชอบ หรือหน่วยงานที่ได้รับมอบหมาย ให้ทำการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพเต็มรูปแบบเช่นเดียวกับพืชดัดแปลงพันธุกรรมปกติ โดยอาจใช้ข้อมูลของพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ เพื่อนำมาใช้เชื่อมโยงประกอบการพิจารณาเป็นกรณีๆ ไป

กรณีที่ 2 ลูกผสมระหว่างพืชดัดแปลงพันธุกรรมที่พ่อพันธุ์ และ แม่พันธุ์ ผ่านการประเมินว่ามีความปลอดภัยโดยหน่วยงานที่รับผิดชอบ หรือหน่วยงานที่ได้รับมอบหมาย สามารถใช้ข้อมูลของพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์มาประกอบการพิจารณาประเมินความปลอดภัยได้เป็นกรณีๆ ไป โดยพิจารณาถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีนและโปรตีนชนิดใหม่ของพืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน (ลูกผสม) เป็นหลัก

บทที่ 2

การประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านสิ่งแวดล้อม

กรณีที่ 1 ลูกผสมระหว่างพืชตัดแปลงพันธุกรรมที่พ่อพันธุ์ หรือ แม่พันธุ์ ยังไม่ผ่านการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพโดยหน่วยงานที่รับผิดชอบ หรือหน่วยงานที่ได้รับมอบหมาย

กรณีที่ทั้งพ่อพันธุ์หรือแม่พันธุ์ยังไม่เคยผ่านการรับรอง หรือผ่านการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านสิ่งแวดล้อมมาก่อน จะต้องดำเนินการประเมินความปลอดภัยของลูกผสมเต็มรูปแบบในทุกประเด็นเช่นเดียวกับพืชตัดแปลงพันธุกรรมใหม่ โดยสามารถใช้ข้อมูลของพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ มาเชื่อมโยงประกอบการพิจารณาได้เป็นกรณีๆ ไป

กรณีที่ 2 ลูกผสมระหว่างพืชตัดแปลงพันธุกรรมที่พ่อพันธุ์ และ แม่พันธุ์ ผ่านการประเมินว่ามีความปลอดภัยโดยหน่วยงานที่รับผิดชอบ หรือหน่วยงานที่ได้รับมอบหมาย

การประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านสิ่งแวดล้อมของลูกผสม ซึ่งพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์เคยผ่านการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพมาแล้ว ให้ดำเนินการศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้ตัวอย่างจากพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน (ลูกผสม) ในประเด็นต่างๆ ดังนี้

1. ข้อมูลชีววิทยาระดับโมเลกุล (molecular biology)

เป็นการประเมินคุณสมบัติระดับโมเลกุล (molecular characterization) ของยีนเป้าหมาย และโปรตีนที่ได้จากการแสดงออกของยีนเป้าหมาย โดยมีรายละเอียด ดังนี้

1.1 คุณสมบัติระดับโมเลกุล (molecular characterization) ของยีนเป้าหมาย: มีวัตถุประสงค์เพื่อพิจารณาขนาด โครงสร้าง และจำนวนชุดของยีนเป้าหมาย ตลอดจนการแสดงออกของยีนของพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนกับคู่เปรียบที่เหมาะสม โดยใช้เทคนิค southern blot analysis หรือ เทคนิคทางวิทยาศาสตร์ที่ได้รับการยอมรับ

1.2 การแสดงออกของยีนเป้าหมาย (gene expression): มีวัตถุประสงค์เพื่อพิจารณาการคงอยู่ระดับการแสดงออกของยีนเป้าหมายที่สอดคล้องและขนาดโดยประมาณของโปรตีนที่ได้จากการแสดงออกของพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนกับคู่เปรียบที่เหมาะสม โดยใช้เทคนิค western blot analysis หรือ เทคนิคทางวิทยาศาสตร์ที่ได้รับการยอมรับ ทั้งนี้ การเก็บตัวอย่างของพืชเพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์ควรเป็นช่วงที่นำพืชมาใช้ประโยชน์ หรือช่วงที่พืชมีอายุพร้อมเก็บเกี่ยว และเก็บจากส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์

หากข้อมูลการแสดงออกของโปรตีนจากยีนที่สอดคล้องในพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน มีรูปแบบแตกต่างจากพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ ให้ศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลเพิ่มเติมโดยใช้เทคนิคที่เหมาะสม อาทิ

- ELISA หรือการวิเคราะห์ mRNA เพื่อศึกษาระดับหรือปริมาณของโปรตีนที่ได้จากการแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อต่างๆ ตามช่วงอายุของการเจริญเติบโต
- Enzyme assay เพื่อศึกษาข้อมูลระดับความสามารถของโปรตีนที่ได้จากการแสดงออกของยีนเป้าหมาย
- Metabolic analysis เพื่อศึกษาข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของ metabolic pathway ในกรณีที่ยีนเป้าหมายเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ หรือเกี่ยวข้องกับการผิดปกติของ metabolic pathway จากการได้รับยีนใหม่ หรือเกี่ยวข้องกับการมีปฏิสัมพันธ์ของยีนที่ได้จากพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์

ในกรณีที่มีข้อมูลชี้แนะว่าการสอดแทรกของยีนเป้าหมายอาจก่อให้เกิดผลที่ไม่เจตนา (unintended effect) ให้มีการพิจารณาข้อมูลที่ได้จากเทคนิคทางวิทยาศาสตร์ที่ได้รับการยอมรับ เช่น open reading frame (ORF), flanking sequence, western blot analysis, Northern blot analysis, quantitative PCR analysis, ELISA, protein function analysis และ enzyme analysis ในพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ เพิ่มเติมตามความเหมาะสมตามแต่กรณี

2. ลักษณะที่แสดงออกของพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน (phenotypic characterization)

เป็นการประเมินลักษณะทางสัณฐาน และลักษณะอื่นๆ ที่พบในพืชตัดแปลงพันธุกรรม แบบรวมยีน เปรียบเทียบกับคู่เปรียบที่เหมาะสม โดยต้องเป็นข้อมูลเปรียบเทียบการปลูกในพื้นที่และฤดูกาลต่างๆ ตามหลักการทางสถิติที่เหมาะสม

ทั้งนี้ หากการประเมินในข้อ 1 และ 2 พบว่า พืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนมีการแสดงออกในรูปแบบเดียวกันกับคู่เปรียบ รวมทั้ง ยีนหรือโปรตีนของพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน ให้ยกเว้นการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านสิ่งแวดล้อมในประเด็นอื่นๆ ได้ แต่หากการประเมินในข้อ 1 และ 2 มีความแตกต่างจากคู่เปรียบ ให้พิจารณาประเมินโดยใช้ข้อมูลจากพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนในประเด็นต่างๆ เพิ่มเติม ดังนี้

3. ข้อมูลด้านความปลอดภัยของโปรตีนหรือสารที่สร้างขึ้นใหม่ (protein safety evaluation)

หากโปรตีนที่แสดงออกจากยีนที่สอดแทรกในพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนมีปฏิสัมพันธ์กัน หรือยีนที่สอดแทรกมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาของโปรตีน โดยเฉพาะโปรตีนที่มีการแสดงออกแบบจำเพาะต่อเนื้อเยื่อ หรืออวัยวะส่วนใดส่วนหนึ่ง ต้องประเมินเพื่อให้ทราบองค์ประกอบและสารใหม่ที่ถูกสร้างขึ้น เปรียบเทียบกับคู่เปรียบที่เหมาะสม โดยควรพิจารณาประเมินเพิ่มเติมเป็นกรณีๆ ไปในประเด็นต่างๆ ดังนี้

3.1 น้ำหนักโมเลกุล

3.2 ลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโน

3.3 การทำปฏิกิริยาทางด้านภูมิคุ้มกัน

3.4 โอกาสการเกิด glycosylation หรือการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนหลังการสังเคราะห์

3.5 บทบาทหรือหน้าที่ของโปรตีนที่อาจเหมือนหรือคล้ายกับโปรตีนอื่น

4. ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

ประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในประเด็นต่างๆ เช่นเดียวกับพืชดัดแปลงพันธุกรรมปกติ โดยพิจารณารายละเอียดเป็นกรณีๆ ไปในประเด็นต่างๆ ดังนี้

- 4.1 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐาน (morphological performance) และลักษณะทางพืชไร่ (agronomic performance)
- 4.2 การทดสอบ bioefficacy ของพืชดัดแปลงพันธุกรรม
- 4.3 ศักยภาพในการเคลื่อนย้ายยีนไปยังสิ่งมีชีวิตอื่นที่ไม่มีความใกล้ชิด (horizontal gene transfer)
- 4.4 โอกาสในการกลายเป็นวัชพืช (weediness)
- 4.5 ผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมาย (non target organisms)
- 4.6 ตรวจสอบในประเด็นอื่นๆ (ถ้ามี)

บทที่ 3

การประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านอาหาร

กรณีที่ 1 ลูกผสมระหว่างพืชตัดแปลงพันธุกรรมที่พ่อพันธุ์ หรือ แม่พันธุ์ ยังไม่ผ่านการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพโดยหน่วยงานที่รับผิดชอบ หรือหน่วยงานที่ได้รับมอบหมาย

กรณีนี้ทั้งพ่อพันธุ์หรือแม่พันธุ์ยังไม่เคยผ่านการรับรอง หรือผ่านการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านอาหารมาก่อน จะต้องดำเนินการประเมินความปลอดภัยของลูกผสมเต็มรูปแบบในทุกประเด็น เช่นเดียวกับพืชตัดแปลงพันธุกรรมใหม่ โดยสามารถใช้ข้อมูลของพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ มาเชื่อมโยงประกอบการพิจารณาได้เป็นกรณีๆ ไป

กรณีที่ 2 ลูกผสมระหว่างพืชตัดแปลงพันธุกรรมที่พ่อพันธุ์ และ แม่พันธุ์ ผ่านการประเมินว่ามีความปลอดภัยโดยหน่วยงานที่รับผิดชอบ หรือหน่วยงานที่ได้รับมอบหมาย

การประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านอาหารของลูกผสม ซึ่งพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์เคยผ่านการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพมาแล้ว ให้ดำเนินการศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้ตัวอย่างจากพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน (ลูกผสม) ในประเด็นต่างๆ ดังนี้

1. ข้อมูลชีววิทยาระดับโมเลกุล (molecular biology)

เป็นการประเมินคุณสมบัติระดับโมเลกุล (molecular characterization) ของยีนเป้าหมาย และโปรตีนที่ได้จากการแสดงออกของยีนเป้าหมาย โดยมีรายละเอียด ดังนี้

1.1 คุณสมบัติระดับโมเลกุล (molecular characterization) ของยีนเป้าหมาย: มีวัตถุประสงค์เพื่อพิจารณาขนาด โครงสร้าง และจำนวนชุดของยีนเป้าหมาย ตลอดจนการแสดงออกของยีนของพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนกับคู่เปรียบที่เหมาะสม โดยใช้เทคนิค southern blot analysis หรือ เทคนิคทางวิทยาศาสตร์ที่ได้รับการยอมรับ

1.2 การแสดงออกของยีนเป้าหมาย (gene expression): มีวัตถุประสงค์เพื่อพิจารณาการคงอยู่ระดับการแสดงออกของยีนเป้าหมายที่สอดคล้องและขนาดโดยประมาณของโปรตีนที่ได้จากการแสดงออกของพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนกับคู่เปรียบที่เหมาะสม โดยใช้เทคนิค western blot analysis หรือ เทคนิคทางวิทยาศาสตร์ที่ได้รับการยอมรับ ทั้งนี้ การเก็บตัวอย่างของพืชเพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์ควรเป็นช่วงที่นำพืชมาใช้ประโยชน์ หรือช่วงที่พืชมีอายุพร้อมเก็บเกี่ยว และเก็บจากส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์

หากข้อมูลการแสดงออกของโปรตีนจากยีนที่สอดคล้องในพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน มีรูปแบบแตกต่างจากพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ ให้ศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลเพิ่มเติมโดยใช้เทคนิคที่เหมาะสม อาทิ

- ELISA หรือการวิเคราะห์ mRNA เพื่อศึกษาระดับหรือปริมาณของโปรตีนที่ได้จากการแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อต่างๆ ตามช่วงอายุของการเจริญเติบโต
- Enzyme assay เพื่อศึกษาข้อมูลระดับความสามารถของโปรตีนที่ได้จากการแสดงออกของยีนเป้าหมาย
- Metabolic analysis เพื่อศึกษาข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของ metabolic pathway ในกรณีที่ยีนเป้าหมายเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ หรือเกี่ยวข้องกับการผิดปกติของ metabolic pathway จากการได้รับยีนใหม่ หรือเกี่ยวข้องกับการมีปฏิสัมพันธ์ของยีนที่ได้จากพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์

ในกรณีที่มีข้อมูลชี้แนะว่าการสอดแทรกของยีนเป้าหมายอาจก่อให้เกิดผลที่ไม่เจตนา (unintended effect) ให้มีการพิจารณาข้อมูลที่ได้จากเทคนิคทางวิทยาศาสตร์ที่ได้รับการยอมรับ เช่น open reading frame (ORF), flanking sequence, western blot analysis, Northern blot analysis, quantitative PCR analysis, ELISA, protein function analysis และ enzyme analysis ในพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ เพิ่มเติมตามความเหมาะสมตามแต่กรณี

2. ลักษณะที่แสดงออกของพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน (phenotypic characterization)

เป็นการประเมินลักษณะทางสัณฐาน และลักษณะอื่นๆ ที่พบในพืชตัดแปลงพันธุกรรม แบบรวมยีนเปรียบเทียบกับคู่เปรียบที่เหมาะสม โดยต้องเป็นข้อมูลเปรียบเทียบการปลูกในพื้นที่และฤดูกาลต่างๆ ตามหลักการทางสถิติที่เหมาะสม

3. การวิเคราะห์องค์ประกอบของอาหาร (compositional analysis)

เป็นการประเมินองค์ประกอบและปริมาณในอาหาร เช่น สารโภชนาการ สารต้านโภชนาการ สารเมแทบอลิท์ และสารพิษธรรมชาติในพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนเปรียบเทียบกับคู่เปรียบที่เหมาะสม โดยต้องเป็นข้อมูลเปรียบเทียบการปลูกในพื้นที่และฤดูกาลต่างๆ ตามหลักการทางสถิติที่เหมาะสม

ทั้งนี้ หากการประเมินในข้อ 1 - 3 พบว่า พืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนไม่มีการสร้างโปรตีนชนิดใหม่ นอกเหนือจากโปรตีนเป้าหมาย และปริมาณโปรตีนเป้าหมายไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ รวมทั้ง ยีนหรือโปรตีนของพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน สามารถใช้ข้อมูลพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านอาหารในประเด็นการก่อพิษและการก่อภูมิแพ้ได้ แต่หากพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนมีการสร้างโปรตีนนอกเหนือจากโปรตีนเป้าหมาย หรือปริมาณโปรตีนเป้าหมายมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ หรือยีน/โปรตีนของพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์มีปฏิสัมพันธ์กัน ให้พิจารณาประเมินโดยใช้ข้อมูลจากพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนในประเด็นต่างๆ เพิ่มเติม ดังนี้

4. การประเมินการก่อพิษ (toxicology)

เป็นการประเมินการก่อพิษจากข้อมูลรายละเอียดโปรตีนใหม่หรือโปรตีนที่เปลี่ยนแปลง ซึ่งเกิดจากการแสดงออกของยีนเป้าหมาย โดยใช้ตัวอย่างการวิเคราะห์จากพีซีดีดีแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน ในประเด็นต่างๆ ดังนี้

- 4.1 น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่แสดงออกจากยีนเป้าหมายในพีซีดีดีแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน
- 4.2 ลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโน
- 4.3 ความคงทนต่อความร้อน (heat stability)
- 4.4 การย่อยได้ (digestibility)
- 4.5 ความเหมือนของลำดับ (sequence homology) กรดอะมิโนของโปรตีนหรือสารที่เกิดขึ้นใหม่กับสารพิษที่อยู่ในฐานข้อมูลที่เป็นปัจจุบัน ตามแนวทางปฏิบัติของ Codex alimentarius ๖ (FAO /WHO, 2009)
- 4.6 การทดสอบความเป็นพิษของโปรตีนพีซีดีดีแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนในสัตว์ทดลองที่เหมาะสม เช่น หนู ด้วยวิธีการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (acute toxicity test) และผลกระทบในระยะสั้น (short term study) อย่างน้อย 90 วัน หากมีข้อบ่งชี้ว่าอาจมีความเสี่ยงให้ทำการศึกษาผลกระทบในระยะยาว (long term study) มากกว่า 6 เดือนต่อไป

5. การประเมินการก่อภูมิแพ้ (allergenicity)

เป็นการประเมินการก่อภูมิแพ้จากข้อมูลรายละเอียดโปรตีนใหม่หรือโปรตีนที่เปลี่ยนแปลง ซึ่งเกิดจากการแสดงออกของยีนเป้าหมาย โดยใช้ตัวอย่างการวิเคราะห์จากพีซีดีดีแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน ในประเด็นต่างๆ ดังนี้

- 5.1 น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่แสดงออกจากยีนเป้าหมายในพีซีดีดีแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน
- 5.2 ลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโน
- 5.3 ความคงทนต่อความร้อน (heat stability)
- 5.4 การย่อยได้ (digestibility)
- 5.5 ความเหมือนของลำดับ (sequence homology) กรดอะมิโนของโปรตีนหรือสารที่เกิดขึ้นใหม่กับสารก่อภูมิแพ้ที่อยู่ในฐานข้อมูลที่เป็นปัจจุบัน ตามแนวทางปฏิบัติของ Codex alimentarius (2003) หรือ FAO /WHO (2001) ในกรณีที่เกิด sequence homology จะต้องมีข้อมูลที่แสดงรายละเอียดเพิ่มเติม ได้แก่ การทดสอบปฏิกิริยากับ IgE ในเซรัมของผู้ป่วย หรือการทดสอบอื่นๆ ตามความเหมาะสม
- 5.6 การเกิด glycosylation หรือการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนหลังการสังเคราะห์

เอกสารอ้างอิง

- คณะกรรมการเทคนิคด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ. 2555. แนวทางปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพ สำหรับการดำเนินงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่หรือพันธุวิศวกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 7. 194 หน้า
- Bureau of Plant Industry, Department of Agriculture, Philippines. 2005. Risk Assessment For Stacked Gene Products Imported for Direct Use as Food and Feed or Processing. DA Memorandum Circular No. 8, Series of 2005.
- Bureau of Plant Industry, Department of Agriculture, Philippines. 2004. Risk Assessment of Plants Carrying Stacked Genes For Release Into the Environment. DA Memorandum Circular No. 6, Series of 2004.
- Canadian Food Inspection Agency. 2008. Plant Biosafety. Available: <http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/pbobbve.shtml>. October 2008
- Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC. *Official Journal of the European Communities* L106: 1-39. http://europa.eu.int/eur-lex/pri/en/oj/dat/2001/L_106/L_10620010417en00010038.pdf
- EFSA. 2004. Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. September 2004. *The EFSA Journal* (2004) 99, 1-93.
- EFSA. 2004. Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. September 2004. *The EFSA Journal* 99: 1-93.
- Kuiper, H. A., Kleter, G. A., Noteborn, H. P. J. M., & Kok, E. J. (2001). Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. *Plant Journal*, 27, 503e528.
- Regulation (EC) 65/2004 establishing a system for the development and assignment of unique identifiers for genetically modified organisms. *Official Journal of the European Communities* L10: 5-10. http://europa.eu.int/eur-lex/pri/en/oj/dat/2004/L_010/L_01020040116en00050010.pdf
- Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22. September 2003 on genetically modified food and feed. *Official Journal of the European Communities* L268: 1-23. http://europa.eu.int/eur-lex/pri/en/oj/dat/2003/L_268/L_26820031018en00010023.pdf
- Secretariat of the Convention on Biological Diversity. 2000. Cartagena protocol on Biosafety to the convention on biological diversity. Montreal, Canada: Cartagena Biosafety Protocol.
- SSC. 2003 Guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. Prepared for the Scientific Steering Committee by The Joint

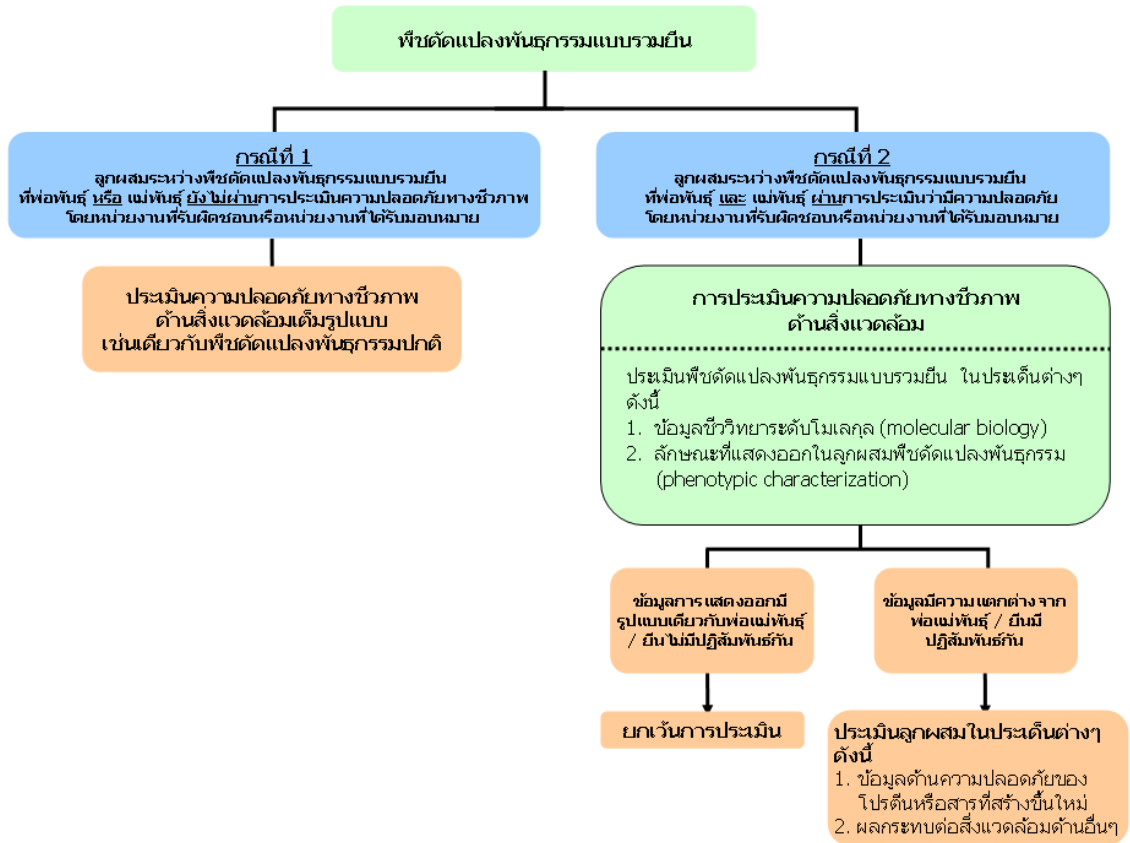
Working Group on Novel Foods and GMOs. http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/out327_en.pdf

TAG. 2008. Consensus Papers. Technical Advisory Group of the Plant Biotechnology Unit at EuropaBio. Safety Assessment of GM Crops: Document 5 – Evaluation of crops containing GM events combined by traditional breeding. 7 p. Available: <http://www.europabio.org/relatedinfo/CP12.pdf> October 2008.

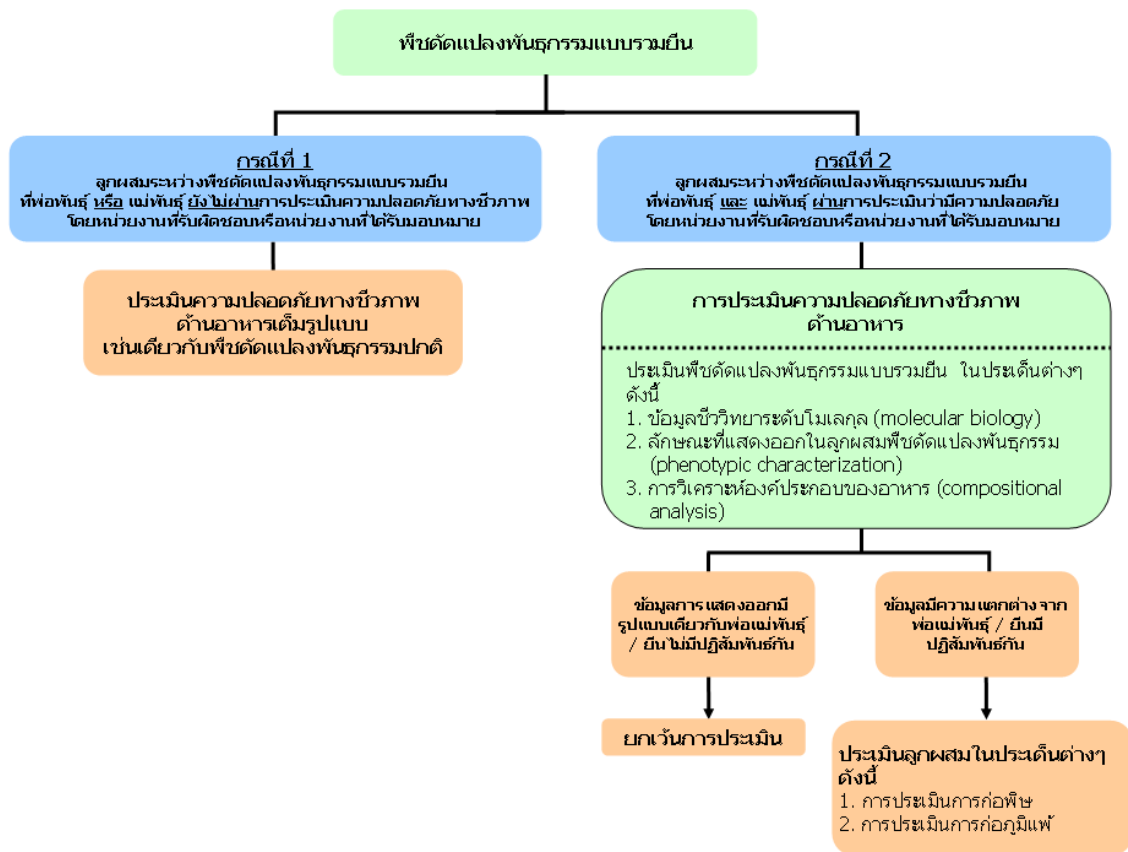
FAO/WHO. 2009. Guideline for the Conduct of Food Safety Assessment of Foods Derived from Recombinant-DNA Plants, pp. 7 - 19. In: Codex Alimentarius Commission: Foods Derived From Biotechnology. 2nd edition. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Rome.

FAO/WHO. 2009. Principles for the Risk Analysis of Foods Derived from Modern Biotechnology, pp. 1 - 5. In Codex Alimentarius Commission: Foods Derived From Biotechnology. 2nd edition. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Rome.

ภาคผนวกที่ 1
แผนภูมิแสดงขั้นตอนการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพ
ของพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนและผลิตภัณฑ์



รูปที่ 1 แผนภูมิขั้นตอนการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านสิ่งแวดล้อมของพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนและผลิตภัณฑ์



รูปที่ 2 แผนภูมิขั้นตอนการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านอาหารของพืชตัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนและผลิตภัณฑ์

ภาคผนวกที่ 2

การประเมินปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีนและโปรตีนชนิดใหม่ของพืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน

รายละเอียด	ใช่	ไม่ใช่	หมายเหตุ
ก. ปฏิสัมพันธ์ของยีน (Gene Interaction)			
1. การเกิดปฏิสัมพันธ์ของผลิตภัณฑ์พืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนสามารถก่อให้เกิดผลิตรสชาติหรือสารก่อพิษใหม่หรือไม่?			
2. การรวมยีนมีผลกระทบต่อคุณสมบัติของโปรตีนใหม่หรือไม่?			
3. การรวมยีนจะมีผลต่อลักษณะที่แสดงออก (phenotype) ของพืชหรือไม่?			
ข. วิถีเมแทบอลิซึม (Metabolic Pathways)			
1. สามารถอธิบายของกลไกการทำงาน (mode of action) ของผลิตภัณฑ์จากยีนได้ทั้งหมดหรือไม่?			
2. กลไกการทำงานของผลิตภัณฑ์จากยีนในแต่ละตัวมีความแตกต่างกันหรือไม่?			
3. ผลิตภัณฑ์จากยีนมีความเกี่ยวข้องในวิถีเมแทบอลิซึมเดียวกันหรือไม่?			
ค. การแสดงออกและความเสถียรของยีน (Gene Expression and Stability)			
<p>ยีนในพืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนแสดงออกเหมือนกับในสายพันธุ์พ่อแม่หรือไม่? โดยประเมินประเด็นต่างๆ ดังนี้</p> <p>1. การแสดงออกของยีน (gene expression) (และ/หรือ 2)</p> <p>1.1 ระดับการแสดงออกของโปรตีนแต่ละชนิดของพืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีน เหมือนกับในสายพันธุ์พ่อแม่หรือไม่?</p> <p>1.2 ยีนเครื่องหมายคัดเลือกมีการถ่ายทอดและแสดงออกในพืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนหรือไม่?</p>			
<p>2. ผลการทดสอบประสิทธิภาพในภาคสนาม (field performance)</p> <p>2.1 การทดสอบประสิทธิภาพในภาคสนามของพืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนได้ผลเทียบเท่ากับการทดสอบในพืชดัดแปลงพันธุกรรมสายพันธุ์พ่อแม่หรือไม่?</p> <p>2.2 ลักษณะทางการเกษตรของพืชดัดแปลงพันธุกรรมแบบรวมยีนมีความเทียบเท่ากับลักษณะทางการเกษตรของพืชดัดแปลงพันธุกรรมสายพันธุ์พ่อแม่หรือไม่?</p> <p>2.3 การแสดงออกของลักษณะต่างๆ เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพในภาคสนามมีความสม่ำเสมอเช่นเดียวกับการแสดงออกในพืชดัดแปลงพันธุกรรมสายพันธุ์พ่อแม่หรือไม่?</p>			

รายละเอียด	ใช่	ไม่ใช่	หมายเหตุ
ง. การจัดการด้านการเกษตร (Agricultural Management)			
1. ลักษณะที่ปรากฏจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการจัดการ การปลูกของพืชตัดแปลงพันธุกรรมหรือไม่? ถ้าตอบใช่ โปรด อธิบายการเปลี่ยนแปลง			
จ. ประเด็นอื่นๆ (ถ้ามี)			



ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ
สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
113 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย
ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง
จังหวัดปทุมธานี 12120
โทรศัพท์ 0-2564-6700 โทรสาร 0-2564-6703
<http://www.biotec.or.th>