

1. บทสรุปผู้บริหาร

ข้าวโพด MON810 เป็นข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม ที่มียีน *cry1Ab* จากแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* strain HD-1 ซึ่งทำหน้าที่ สร้างโปรตีน Cry1Ab มีฤทธิ์ในการกำจัดแมลงในกลุ่ม Lepidopteran

ข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม MON810 ถูกพัฒนาขึ้นโดยการถ่ายยีน *cry1Ab* เข้าสู่โครโมโซมของข้าวโพดโดยใช้เครื่องยิงอนุภาค (microparticle bombardment method) โดยใช้พลาสมิดดีเอ็นเอ DNA 2 ชุด ประกอบด้วย PV-ZMBK07 ที่มีชุดยีน *cry1Ab* และ PV-ZMBK10 ที่มีชุดยีน *cp4 epsps* และยีน *gox* ซึ่งใช้เป็นยีนคัดเลือกเซลล์ข้าวโพดที่ได้รับการถ่ายยีน ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคด้านชีววิทยาระดับโมเลกุล โดยการวิเคราะห์ Southern Blot พบชุดยีน *cry1Ab* จำนวน 1 ชุด สอดแทรกเข้าไปในจีโนมของข้าวโพดเพียงตำแหน่งเดียว และไม่ปรากฏชุดยีนคัดเลือก *cp4 epsps* และยีน *gox* ทำให้ข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม MON810 สามารถสร้างโปรตีน Cry1Ab ซึ่งมีคุณสมบัติในการกำจัดแมลงในกลุ่ม Lepidoptera ได้แก่ หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (European corn borer) โดยมีปริมาณโปรตีน Cry1Ab สูงสุดภายในใบเท่ากับ 9.35 µg/mg fresh weight และพบปริมาณโปรตีนสูงสุดในเมล็ดเท่ากับ 0.31 µg/mg fresh weight ยีน *cry1Ab* มีความคงตัวในรุ่นลูกที่ทดสอบทั้ง 7 รุ่น และสามารถถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกรุ่นหลานตามกฎการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของเมนเดล

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบในเมล็ดและ forage ข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม MON810 เทียบกับสายพันธุ์คู่เปรียบ และสายพันธุ์อ้างอิงที่ใช้ในเชิงพาณิชย์ โดยองค์ประกอบที่ทำการวิเคราะห์ ได้แก่ องค์ประกอบหลัก กรดไขมัน และสารอนินทรีย์ ผลการวิเคราะห์พบว่าส่วนประกอบดังกล่าวเหล่านี้ส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม MON810 มีปริมาณ glutamic acid ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น สูงกว่าสายพันธุ์คู่เปรียบและสายพันธุ์อ้างอิงที่ใช้ในเชิงพาณิชย์เล็กน้อย อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างดังกล่าวไม่ส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค เนื่องจาก glutamic acid เป็น non-essential amino acid ที่ร่างกายสร้างเองได้ และพบในอาหารหลายชนิดที่มีการบริโภคอยู่ทั่วไป ผลการวิเคราะห์ proximates ใน forage พบว่าข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม MON810 มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าข้าวโพดพันธุ์คู่เปรียบเล็กน้อย แต่ค่าดังกล่าวยังอยู่ในช่วงของสายพันธุ์อ้างอิงที่ใช้ในเชิงพาณิชย์ ส่วนองค์ประกอบอื่นๆ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากข้อมูลดังกล่าว สามารถสรุปได้ว่าข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม MON810 มีองค์ประกอบของสารทางโภชนาการเทียบเท่าโดยสาระสำคัญกับสายพันธุ์คู่เปรียบ และสายพันธุ์อ้างอิงที่ใช้ในเชิงพาณิชย์

การประเมินด้านพิษวิทยาของข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม MON810 โดยการประเมินคุณสมบัติของโปรตีน Cry1Ab (ร้อยละ 92) ที่เตรียมจากแบคทีเรีย (*E.coli*-produced Cry1Ab)

และนำไปทดสอบด้วยกระบวนการต่างๆ ทางห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย การทดสอบความเหมือนกันของโปรตีนที่อาจมีคุณสมบัติเป็นสารพิษที่ทราบแล้วหรือสารต้านโภชนาการ การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันในสัตว์ทดลอง และการทดสอบความเสถียรต่อความร้อนและน้ำย่อยในทางเดินอาหาร ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของ โปรตีน Cry1Ab ไม่พบว่ามี ความคล้ายคลึงกับสารพิษในฐานข้อมูล PROTEIN (PRT-2011) และ TOXIN11 (TOX_2011) ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของโปรตีน Cry1Ab ในหนูทดลองไม่พบว่ามี ความผิดปกติในหนูทดลอง โปรตีน Cry1Ab ไม่เสถียรต่ออุณหภูมิที่ใช้ในการประกอบและแปรรูปอาหาร และสามารถย่อยสลายได้อย่างรวดเร็วในระบบจำลองของกระเพาะอาหาร นอกจากนี้ กลไกความเป็นพิษของโปรตีน Cry1Ab มีความจำเพาะต่อตัวรับ (receptor) ในแมลงกลุ่ม Lepidoptera จึงมีโอกาสน้อยมากที่โปรตีนดังกล่าวจะไปกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในระบบทางเดินอาหารจนก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อมนุษย์

การประเมินด้านการก่อภูมิแพ้ของข้าวโพดตัดแปลงพันธุกรรม MON810 โดยทำการเปรียบเทียบความเหมือนกันของโปรตีน Cry1Ab กับสารก่อภูมิแพ้ที่ทราบแล้ว การทดสอบความเสถียรต่อความร้อนและน้ำย่อยในทางเดินอาหารทั้งในกระเพาะอาหารและลำไส้ จากผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนแบบ FASTA algorithm และ ALLERGENSEARCH ของโปรตีน Cry1Ab ไม่พบว่ามีลำดับเบสหรือลำดับกรดอะมิโนคล้ายคลึงกับสารก่อภูมิแพ้ใน จำนวน 219 ชนิด ในฐานข้อมูล The allergen database (AD_2011) และ GenBank protein database (PRT_2011) โปรตีน Cry1Ab ไม่เสถียรต่ออุณหภูมิที่ใช้ในการประกอบอาหาร และสามารถย่อยสลายได้อย่างรวดเร็วในระบบจำลองของกระเพาะอาหาร แต่ค่อนข้างทนต่อการย่อยในระบบจำลองของลำไส้ จึงควรมีการเฝ้าระวังในกรณีที่มีการใช้ข้าวโพดตัดแปลงพันธุกรรม MON810 เป็นอาหารทางการแพทย์ และผู้ป่วยที่ต้องเจาะช่องท้องเพื่อให้อาหารทางสายยางเข้าสู่ลำไส้เล็กโดยตรง ในทารกแรกเกิด หรือในผู้ป่วยที่มีปริมาณกรดในกระเพาะอาหารน้อยกว่าคนปกติ (achlorhydria) อย่างไรก็ตาม โดยทั่วไปแล้วข้าวโพดไม่ถูกจัดอยู่ในสารก่อภูมิแพ้ที่พบได้ทั่วไป ดังนั้น จึงมีโอกาสน้อยมากที่จะก่อให้เกิดอาการแพ้ได้

จากข้อมูลประกอบการประเมินความปลอดภัยและข้อมูลวิทยาศาสตร์ในปัจจุบัน สรุปได้ว่าข้าวโพดตัดแปลงพันธุกรรม MON810 ไม่มีความแตกต่างไปจากข้าวโพดสายพันธุ์คู่เปรียบ (conventional counterpart) ทั้งด้านลักษณะทางสัณฐาน (morphology) ด้านโภชนาการ (nutrition) ด้านการก่อพิษ (toxicity) และด้านการก่อภูมิแพ้ (allergenicity)

Executive summary

MON810 is an insect-protected corn which contains *cry1Ab* gene from *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* strain HD-1 encoding the Cry1Ab protein that is insecticidal to lepidopteran insects.

The transgenic insect resistant corn MON810 was developed by the microparticle bombardment method using two plasmids PV-ZMBK07 and PV-ZMBK10. The PV-ZMBK07 contains the *cry1Ab* gene and PV-ZMBK10 contains the selectable marker, *cp4 epsps* and the *gox* gene. Molecular characterization using Southern blot analysis revealed one insertion site/one copy number of *cry1Ab* gene in MON810 genome without *cp4 epsps* gene and *gox* gene resulting in Cry1Ab protein synthesis, which provide protection against certain lepidopteran target pests (such as European corn borer). Corn MON810 produced and accumulated Cry1Ab protein 9.35 µg/mg fresh weight in leaf and 0.31 µg/mg fresh weight in seed. Segregation analyses showed that *cry1Ab* loci in MON810 were stable and inherited in Mendelian fashion through seven generations.

Compositional values of corn MON810 were performed on grain and forage compared to that of the control line, as well as to published literature values. The compositional parameters included proximates, fatty acids and inorganic components. The results showed no statically significant differences between the control and MON810. The amino acid composition (essential and non-essential) of MON810 grain was substantial equivalent to that of the control except glutamic acid which a little higher in MON810 than non-modified counterpart and literature range, however this will not affect consumer health since glutamic acid is non-essential amino acid that can be produced within human body and was found generally in many kind of food. The proximate analysis in MON810 forage show that the protein content in MON810 was a little higher than conventional counterpart, however the magnitude of the differences was small and still within the range of public values. Other component showed no statically significant differences between the control and MON810. This can be concluded that MON810 corn is substantial equivalence to its conventional counterpart and commercial corns in term of nutrition.

Toxicity assessment of MON810 was performed using 92% purified Cry1Ab protein produced in *E. coli* and was tested for its safety through various laboratory processes including the similarity of the Cry1Ab protein to known toxins or anti-nutrients, acute oral toxicity in animals and stability to heat and digestibility by gastrointestinal fluids. Bioinformatics' study indicated that Cry1Ab protein shared no biologically relevant sequence similarities to any toxins (TOX_2011 and PRT_2011 databases). Mice acute oral toxicity studies demonstrated that proteins Cry1Ab were not acutely toxic and did not cause any adverse effects. Cry1Ab protein is heat sensitive, unstable at food processing temperature and rapidly digested by gastric juice in stomach, moreover Cry1Ab protein binds to specific receptors on the epithelial surface of the midgut of lepidopteran species, so there is very low chance of this protein to stimulate the immune system in the gastrointestinal tract and cause toxic to human.

Allergenicity assessment of MON810 was carried out which comprised the similarity of the Cry1Ab protein to known allergens, heat stability at cooking temperature and digestibility tolerance in gastrointestinal fluids. FASTA algorithm and ALLERGENSEARCH of Cry1Ab protein in the allergen database (AD_11) and GenBank protein database (PRT_2011) indicated that Cry1Ab protein shared no sequence similarities to 219 allergens in database. Cry1Ab protein is heat sensitive, unstable at food processing temperature and was rapidly digested in simulated gastric system but rather tolerated in simulated intestinal system, there should be a monitoring system in case of using MON810 as food for percutaneous endoscopic gastrostomy, new born baby or in patients with achlorhydira. Anyway, corn is categorized as less common allergenic food so there is very low chance of this protein to stimulate the immune system in the gastrointestinal tract and cause allergy in human.

According to data analysis from safety assessment studies and currently available scientific information, it can be concluded that corn MON810 is substantially equivalent to its conventional counterpart in terms of morphology, nutrition, toxicity and allergenicity.