

转基因食品安全性评价研究进展

宋欢, 王坤立, 许文涛, 贺晓云, 罗云波, 黄昆仑*
(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要: 自1996年以来, 转基因作物的大规模商业化生产为人们带来了巨大的社会经济利益, 但是转基因技术存在一定的风险性, 因此加强转基因食品的安全性评价和标准化管理显得尤为迫切和重要。本文从营养学、毒理学、过敏性等方面综述了转基因食品的食用安全性评价, 并多角度探讨了转基因食品安全性评价的关键问题, 包括用不同动物实验评价转基因食品的食用安全性, 新型转基因植物的安全性评价, 以及转基因食品的食用安全标准化等, 以期使读者对转基因食品的食用安全性有更加系统、全面的了解。

关键词: 转基因食品; 安全性评价; 动物实验; 转基因植物; 安全标准化

Progress in Safety Assessment of Genetically Modified Foods

SONG Huan, WANG Kun-li, XU Wen-tao, HE Xiao-yun, LUO Yun-bo, HUANG Kun-lun*
(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: Since the large-scale commercialized production of genetically modified (GM) crops started in 1996, it has brought great socioeconomic benefits to human beings. Yet transgenic technology may give rise to certain risks, so it is urgent and important to strengthen the safety assessment and standard management of GM foods. In this paper, the safety evaluation contents of GM foods are summarized, including nutrition, toxicity, allergenicity, etc. What's more, the key issues of transgenic food safety evaluation, including different animal studies conducted to evaluate the safety of GM foods, food safety assessment of new types of transgenic plants and safety standardization of GM foods, are discussed from different perspectives. The target of this paper is to enable the readers to have a more comprehensive understanding of food safety of GM foods.

Key words: genetically modified food; safety assessment; animal study; transgenic plant; safety standardization

中图分类号: TS201.6

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2014)15-0295-09

doi:10.7506/spkx1002-6630-201415059

21世纪以来, 世界人口数量持续增长, 每年增加近8 000万人口; 到2050年, 农业生产量必须增加70%~100%, 才足以供给全球超过90亿人的粮食消耗, 而其中大部分的粮食产出将不得不开垦自己已经开垦的耕地^[1]。但是, 目前全球大约30%的耕地表层土生产力正在丧失^[2], 土壤退化将成为生产率增长停滞不前的主要原因之一^[3]。除此之外, 随着对生物燃料和生物材料的需求日益增加, 未来几十年, 全球的资源供给将面临前所未有的压力。因此, 提高全球农业生产力以确保充足的食物和原料来源十分必要^[4], 发展转基因作物来缓解粮食危机已经成为解决资源紧缺问题的一条重要途径。

利用现代基因工程技术, 可以将来源于任何种类的植物、动物或微生物, 甚至合成原料的遗传物质引入到

不同种类的植物中, 由此产生的植物通常被称作转基因植物; 当其用作食物来源时, 被称作转基因植物食品或者转基因食品^[5]。转基因作物作为传统育种技术的继承和发展, 不仅能够通过遗传信息的交流获得稳定表达的优良性状, 而且打破了生物种属间的自然隔离屏障, 拓宽了植物可利用的基因库, 为创造优种资源和培育植物新品种开辟了新的技术路线。然而, 不能忽略的是, 当先进科学技术为我们带来物美价廉的食品, 展示出生产上巨大的应用前景的同时, 也存在着对环境 and 人类健康的潜在风险。一部分人认为转基因作物的开发和使用是减少饥饿的关键^[6-8], 而另一些人则认为这种技术进一步加大了食品安全的风险^[9]。为了解决这些问题, 国际组织以及国家政府相关监管部门均在积极努力地修订和完善转

收稿日期: 2014-03-29

基金项目: 国家转基因生物新品种培育科技重大专项(2014ZX08011-005)

作者简介: 宋欢(1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向为转基因食品毒理评价。E-mail: 1024413928@qq.com

*通信作者: 黄昆仑(1968—), 男, 教授, 博士, 研究方向为转基因产品食用安全评价与检测、食品安全风险评估与检测技术。

E-mail: hkl009@163.com

基因生物安全政策, 以及规范生物安全措施, 以加强对生物技术食品安全系统的管理^[10]。本文针对转基因食品的发展趋势、评价方法以及食用安全标准化等问题全面综述了转基因食品食用安全性评价的研究进展。

1 转基因食品的发展趋势

1983年, Zambryski等^[11]利用天然细菌载体根癌农杆菌首次获得转基因植株烟草。1992年, 我国成为世界上第一个实现转基因作物在大田规模释放的国家^[12], 开始大规模种植烟草花叶病毒和黄瓜花叶病毒双抗的转基因烟草^[13]。1996年, 可以延迟成熟的转基因西红柿首次被允许在美国市场上销售, 自此转基因植物在全球范围内的种植面积不断扩大^[14], 已经累计种植了超过15亿 hm^2 。国际农业生物技术应用服务组织(International Service for the Acquisition of Agribiotech Application, ISAAA)发布年度报告称^[15], 2013年全球转基因作物种植面积达到约1.75亿 hm^2 , 比2012年的转基因作物种植面积增加了500万 hm^2 , 年增长率为3%。2013年种植转基因作物排名前五的国家, 种植面积均超过1 000万 hm^2 , 分别是美国、巴西、阿根廷、印度和加拿大, 且发展中国家转基因作物种植面积已经连续两年超过发达国家, 占全球转基因作物种植面积的54% (9 400万 hm^2), 大于发达国家的种植面积(占46%, 8 100万 hm^2)。2013年底, 全球上市的转基因作物涉及27种作物336个转化体, 按照种植面积统计, 全球约79%的大豆、32%的玉米、24%的油菜和70%的棉花是转基因产品。截至目前, 我国共批准发放7种转基因作物安全证书, 分别是耐储存番茄、抗虫棉花、改变花色矮牵牛、抗病辣椒、抗病番木瓜、转植酸酶玉米和抗虫水稻, 但只有抗虫棉和抗病番木瓜实现大规模商业化生产。此外, 进口用作加工原料的转基因作物有大豆、玉米、棉花、油菜和甜菜5种, 其中转基因大豆数量最多。

随着转基因技术发展的日趋成熟和社会对转基因作物需求量的不断增加, 按照生物技术产业的划分, 转基因作物可分为3代^[16]: 第1代转基因作物是以改良农艺性状为主, 这些性状的改变对于消费者来说, 与传统非转基因作物无本质区别, 因为二者在外观、风味和营养价值上是相似的, 如抗除草剂大豆^[17-19]、抗虫玉米^[20]和抗除草剂玉米^[21]、抗除草剂和抗虫土豆^[22]等, 其余还有抗病、抗旱、抗盐碱、延缓成熟的转基因作物; 第2代转基因作物主要是提高品质性状, 对消费者具有直接相关的意义和价值, 包括提高蛋白质和必需氨基酸、有益脂肪酸、碳水化合物、微量元素或其他植物化学物质的水平^[23], 改善风味特征等, 例如富含高赖氨酸^[24]、植酸酶和铁蛋白^[25]的玉米, 含有高蛋氨酸的土豆^[26], 富集 β -胡

萝卜素^[27-28]、 α -亚麻酸^[29]的大米; 第3代转基因作物主要是作为生物反应器应用于生物医药及工业领域, 如生产高附加值的预防龋齿、骨质疏松、糖尿病和禽兽疾病等优质药物蛋白、疫苗、抗体, 以及生产可降解塑料的转基因植物等, 使消费者直接受益。此外, 包含两种或多种特征的复合性状转基因作物也成为近年新型转基因作物的研究热点, 例如一株转基因作物可以具有多种抗虫性状, 或者同时含有抗虫和耐除草剂性状, 较大程度提高了资源利用效率, 将成为未来转基因作物的发展趋势。

2 转基因食品的食用安全性评价

加强对转基因食品安全管理的核心和基础是安全性评价, 其中既要考虑期望效应又要考虑非期望效应, 是一项复杂、精细的系统性工作。目前国际上对转基因食品安全评价遵循以科学为基础、个案分析、实质等同性和逐步完善等原则。转基因食品的食用安全评价内容涵盖营养学、毒理学、致敏性及结合其他资料进行的综合评价。

2.1 营养学评价

对新作物品种进行营养成分分析是营养学评价的基础。即便用传统育种方式培育的作物品种也会存在营养成分上的显著性差异, 因此更加需要对转基因作物与其非转基因亲本进行营养成分的显著性差异分析^[30], 主要包括蛋白质、纤维、脂肪、灰分、水分、碳水化合物、氨基酸、脂肪酸、维生素、矿质元素等与人类健康营养密切相关的营养素, 以及植物体内的抗营养因子(如植酸、胰蛋白酶抑制剂、单宁等)。当转基因食品与传统亲本植物食品不同时, 应充分考虑这一差异是否在这一类食品的参考范围内。若营养成分变化与不同基因的导入有关, 则应该对除了目标成分以外的其他成分的营养水平进行全面的比较分析, 如瑞士先正达公司研发的富含类胡萝卜素的转基因大米。另外, 可以通过动物实验对转基因食品进行营养学评价, 观察转基因食品或饲料对动物消化率和采食量、健康和生长性能的影响^[31], 并对体质量、器官大体病理和食物利用率等指标进行检测。从目前的多项研究结果来看, 大多数转基因作物如抗虫玉米^[32]、耐除草剂玉米^[21]、抗虫大米^[33]以及富含直链淀粉的大米^[34]等转基因食品的营养成分与传统食品是基本一致的。但有些针对性改良营养成分的转基因食品其目标成分会有较大变化, 如富含高赖氨酸的玉米^[24]。

2.2 毒理学评价

毒理学评价是转基因食品食用安全评价中必不可少的一部分, 包括对外源基因表达产物以及全食品的毒理学检测。对于外源蛋白的表达产物, 通常需要通过生物

信息学分析与已知毒性蛋白的核酸和氨基酸序列是否具有同源性,之后进行热稳定性和胃肠道模拟消化实验,以及急性毒性啮齿动物实验^[35-37]。一般产生预期效应的同时,常伴随非预期效应,对全食品的毒理学研究主要是检测转基因作物的非预期效应。目前通常采用动物实验来观察转基因食品对人类健康的长期影响,用到的主要有大鼠、小鼠、鸡、猪、牛、羊、鹌鹑、鱼等^[38]。动物喂养实验的结果反映的是营养学和毒理学双项指标。通过转基因产品喂养动物,检测实验动物的血液学及脏器重等指标,并与非转基因对照组进行比较,从而评价转基因产品在毒理学方面产生的影响,为转基因产品进一步应用于人类食品提供参考。不同的转基因食品需要根据情况进行急性毒性实验、遗传毒性实验(Ames实验、精子畸形、骨髓微核、致畸实验等)、亚慢性毒性实验和慢性毒性实验4个毒理学评价实验阶段。如与已知物质(指经过安全性评价并允许使用者)的化学结构基本相同的衍生物或类似物,需根据前3个阶段毒性实验结果来判断是否进行第4阶段的毒性实验;对于化学结构具有慢性毒性、遗传毒性或者致癌性的可能者,以及产量大、使用范围广者,则必须进行全部4个阶段的毒性实验。

已经进行的多例转基因食品的亚慢性毒性实验显示,这些转基因食品与其亲本对照具有同样的营养与安全性。Zhou Xinghua等^[34]报道通过大鼠90 d喂养实验,发现食用富含直连淀粉转基因大米的大鼠未出现不良反应,证明其与传统大米同样安全营养。Mackenzie等^[39]通过对同时转入Cry1F和草丁膦乙酰转移酶(*pat*)基因的玉米进行大鼠90 d喂养实验,发现食用转基因玉米的大鼠在生长性能、临床病理学、器官质量等方面,与对照组相比无显著性差异,与传统玉米同样营养、安全。Appenzeller等^[40]对抗鳞翅类和鞘翅类的复合性状转基因玉米,以及抗除草剂玉米^[41]进行90 d大鼠喂养实验,发现二者与传统玉米同样安全。

2.3 过敏性评价

1995年,联合国粮农组织(Food and Agriculture Organization, FAO)将8种食物认定为全球最常见的过敏原,分别是奶、蛋、花生、坚果、小麦、大豆、鱼和贝类,自此这些食物就被公认为影响公共健康的过敏性食物,称作“八大过敏原”。目前有超过150种食物涉及过敏反应,但绝大多数都是由少数的食物诱发的^[42]。转基因食品与传统食品最主要的区别在于前者含有用基因工程技术导入的外源基因,并由其表达特定的蛋白质。无论外源基因编码蛋白是已知过敏原,还是与已知过敏蛋白的氨基酸序列在免疫学上有明显的同源性,或是所属的某类蛋白家族中的有些成员是过敏蛋白,均可能产生过敏反应^[43]。因此,在评价新食品

安全性时,必须对外源基因产生的新蛋白进行致敏性评价,以确保新作物或其衍生食品的安全性。

“巴西坚果事件”就是因过敏而未被商业化的转基因案例。1996年,美国的种子曾经把巴西坚果中的2S清蛋白基因转入大豆中,来解决大豆蛋白中蛋氨酸含量低的问题。但是在对该转基因大豆进行安全评价时,研究者利用有巴西坚果过敏史的受试者血清,对该转基因大豆、巴西坚果和纯化后的2S清蛋白进行过敏原吸附实验、酶联免疫印迹,以及皮肤点刺等实验,发现对巴西坚果过敏的人同样会对这种大豆过敏,所以推测蛋白质2S清蛋白可能正是巴西坚果中的主要过敏原,证明了在从巴西坚果向大豆转移一个主要过敏原的过程中,同样也转移了它引发过敏的能力,能够在本来对巴西坚果过敏的个体中引发过敏反应^[44]。该公司也立即终止了这一产品的研发。此事一度被认为“转基因大豆引起食物过敏”的反对转基因者作为例证。但是食品安全只是一个相对概念,世界上并不存在绝对安全的食物。巴西坚果作为一种天然食品,本身就存在过敏性。自然界中对一部分人安全的食品,对其他人不一定安全,如有些人对花生过敏,但其他人照样以此为食。若某种生物有可能引发过敏等不良反应,利用这种生物的基因就应当格外小心甚至尽量避免。此外,Zhou Cui等^[45]在对重组人乳铁蛋白(rhLF)进行致敏性评价时,利用了FARRP、SDAP和ADFS数据库与已知过敏原的氨基酸序列和蛋白结构进行比较,发现该蛋白与已知的牛乳过敏原氨基酸序列达到较高的相似度71.4%,但是其能够在2 min内被模拟胃液中的胃蛋白酶消化,并且未发现rhLF与鸡蛋、牛奶过敏患者血清中的IgE发生特异性免疫结合。所以推测rhLF的潜在致敏性很低,可以添加到食品中作为食品添加剂使用。

转基因作物必须按照规定的标准条例进行食用安全性评价,得到食用安全的结论后才能获准商业化,这是国际通行的做法,并由各国制定法规加以规范。目前,国际上公认的转基因食品中外源基因表达产物的过敏性评价策略是2001年由FAO/世界卫生组织(World Health Organization, WHO)颁布的过敏原评价决定树^[46],于2003年被国际食品法典委员会采纳^[47]。主要包括氨基酸序列同源性的比较、血清筛选实验、模拟胃肠液消化实验和动物模型实验等,最后综合判断该外源蛋白的潜在致敏性的高低。根据外源基因是否来源于已知过敏原的生物,评价内容和方法有所不同。

2.4 非预期效应

非预期效应是指除了由目的基因插入导致的预期效应之外,在相同条件和环境下种植的转基因植物与非转基因亲本相比,在表型、反应和成分上呈现出的统计学显著性差异^[48]。理论上,受体基因组的内源基因的结构

和功能可能会因为到外源基因的整合而使其发生突变,进而导致其相互作用发生遗传或者表型特征的变化。有以下几种可能机制改变内源基因的表达,产生非预期效应^[49]: 1) 外源基因插入到内源基因的“阅读框”,使内源基因无法有效表达; 2) 外源基因插入内源基因调控元件的“功能区”,使调控基因失去功能,导致受其调控的内源基因不能有效表达; 3) 外源基因插入基因组的某个“敏感域”内,使原本“沉默”的内源基因被“激活”而高效表达; 4) 外源基因的转录或表达产物能够诱导或抑制内源基因表达,使这些内源基因的表达发生质变或量变; 5) 外源基因的表达产物意外成为植物细胞某一代代谢途径的诱导或抑制因子,将调节植物主要和次级代谢产物的量。以上的可能机制都将会导致受体生物体的非预期效应的发生,如转基因食品营养成分的改变,毒素的增多或者产生新的毒素,外源基因的插入产生新的致敏蛋白等。

从研究方法上来看,非期望效应的研究主要包括3个领域:功能基因组学、蛋白质组学和代谢组学。功能基因组研究的是被转录基因和相关的调控元件的功能,Byeon等^[50]利用微阵列分析技术研究发现高水平的褪黑激素调节了转基因大米的基因表达,反应了其在植物生长发育过程中发挥的多效生理作用。蛋白质组学的方法完善了其他组学的方法,是高分辨双向电泳分离组织蛋白质、图像分析帮助比较分离结果和质谱确定感兴趣蛋白质的性质三大技术的融合。Guo Bin等^[51]通过双向差异凝胶电泳证明了含有乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)的转基因番茄,与非转基因番茄相比在蛋白表达上发生显著改变。代谢组学以生物系统中的代谢产物为分析对象,对化合物定性和定量分析,研究基因的插入对动物生理的影响,从而理解转基因食品的全组分情况,例如Cao Sishuo等^[52]用核磁共振方法分析大鼠尿液代谢组,这是一种动态的、非损伤检验法。

2.5 标记基因的安全评价

在植物转基因过程中,外源基因对于植物受体细胞的转化频率相当低,因此通常将标记基因与目的基因构建在同一表达载体转入植物,帮助转化子的筛选和鉴定。常用的标记基因包括新霉素磷酸转移酶基因(*npt II*)、潮霉素磷酸转移酶基因(*hph*)等可使抗生素失活的蛋白酶基因,以及草甘膦抗性基因(*bar*, *pat*)和5-烯醇丙酮酰草莽酸-3-磷酸合成酶基因(*epsps*)等可使除草剂失活的基因^[53];另外还有冠瘿碱基因(*Opine*)、氯霉素乙酰转移酶基因(*Cat*)等报告基因。人们食用含有标记基因的转基因食品后,可能会对人体产生直接效应,也有抗生素抗性基因水平转入肠道上皮细胞或者环境微生物中的潜在可能性。虽然目前人们倾向于认为此种情况发生概率较小,但是在评估潜在

健康问题时,仍应考虑人体和动物抗生素的使用以及肠道微生物对抗生素的抗性。评价标记基因编码蛋白的安全性包括直接毒性、过敏性、以及因蛋白的催化功能而产生的副作用。目前,植物遗传转化中所使用的标记基因尚无直接毒性和过敏性的证据。WHO提出了标记基因安全性分析与评价原则: 1) 明确标记基因的分子、化学和生物学特征; 2) 标记基因的安全性应与其他基因一样进行评价; 3) 原则上某一标记基因的资料一旦积累,可用于任何一种植物,且可用于与任何一种目的基因连接。

虽然抗生素和除草剂等抗性基因的使用方便了植物的转化筛选,但是一旦转化成功,标记基因便不再有用,甚至对生态环境和食品安全存在潜在威胁,因此提高转基因植物标记基因安全性成为研究热点。目前提高转基因植物中选择标记基因安全性的策略包括利用无争议的生物安全标记基因(如与糖和氨基酸代谢相关的基因),在转化时使用标记基因但获得转基因植株后将其剔除,以及利用无选择标记基因的转化系统^[54]。

3 动物实验评价转基因食品食用安全性的研究进展

目前对转基因食品的安全性评价,主要依据经济发展合作组织(Organization for Economic Co-operation and Development, OECD)于1993年提出的实质等同性原则^[55]。该原则是指转基因食品及食品成分是否与传统食品具有实质等同性,包括表型和成分的比较,以及插入性状、过敏性和标记性状安全性等方面的分析评价。然而,实质等同性的评价原则也有其局限性,对引入某个基因或者重组蛋白的表达而导致食物引起的直接、间接、急性或累积的影响难以评价。尤其是当怀疑非预期效应可能会发生的情况下,利用实验动物与人类相近似的特性进行动物喂养实验,可以提供额外有用的信息来补充全食品安全和营养价值的评价。

转基因食品的安全性评价大多数都是通过饲喂小型啮齿类动物来研究转基因食品对动物健康的影响。小型啮齿动物成本低,生命周期短,易于操作,而且在长期的研究中能够使大量个体在统一的标准条件下生长,因此可以运用多种方法评价转基因食品对动物健康的影响。

同时,很多大型禽畜,如猪、牛、羊、鸡等也都用于转基因食品安全评价。值得注意的是,应根据研究目的选择适合的大型禽畜。由于猪的亲缘关系和人很接近,器官大小也接近于人,比较适合营养代谢等方面的研究。Hu Yichun等^[56]在研究表达人乳铁蛋白的转基因大米时,对五指山小型猪进行回肠分析,检测转基因大米主要营养成分的消化率;Maga等^[57]通过观察猪的肠道菌

群变化来研究人溶菌酶转基因羊奶对动物代谢的影响。牛、羊则通常用来研究转基因食品对乳产量和成分的影响,Steinke等^[58]对36头奶牛进行25个月的喂养实验,研究转Bt蛋白的玉米对泌乳奶牛的产奶性能影响,发现奶牛的泌乳性能没有因为饲喂转基因玉米而受到影响。此外,还利用鸡、鹌鹑等产蛋动物来研究转基因食品对动物产蛋性能的影响。

但是,由于人和动物在生理、解剖结构、行为上存在内在的特异性差别,以及实验动物自身存在个体差异和生长效率的不同,动物实验可能无法正确反馈出人类的反应^[59]。此外,转基因生物产品的品质特性也很可能会因为所处地区或者食品加工方式的不同而改变^[60-61],可能使实验结果有所不同。即用动物实验的方法评价转基因食品对动物健康的影响,与其他健康相关研究一样存在局限。例如为了评价耐除草剂转基因大豆的潜在风险,不同的科研团队分别选取鲑鱼、山羊及小鼠进行长期多代喂养来验证耐除草剂大豆的食用安全性。Sissene等^[62]将利用鲑鱼进行抗草甘膦转基因大豆的饲喂实验,得出结论转基因大豆与传统大豆同样安全。Tudisco等^[63]将抗草甘膦的转基因大豆饲喂山羊,发现动物的肝脏、肾脏、肌肉等器官的乳酸脱氢酶含量与对照组相比呈显著性差异,这一指标的变化暗示了转基因大豆细胞代谢的差异,但是该代谢路径相关的酶含量却没有显著性变化,因此,作者认为不属于健康问题但须进一步实验,而且在山羊的血液和乳汁中存在转入的DNA片段。不过,该实验中所食用的对照组大豆只说明是传统培育的大豆,没有阐明是否与转基因大豆在同一条件下种植。Malatesta等^[64]将抗草甘膦的转基因大豆饲喂年老雌鼠,通过蛋白质组学研究表明一些与肝细胞代谢、应激反应、钙信号和线粒体功能密切相关的蛋白表达水平,与对照组小鼠相比存在显著性差异,说明在衰老过程中,转基因大豆有可能影响肝脏功能。以上对转基因作物进行多代动物实验的研究,并没有证明其对动物的健康产生可见毒性效应,而是在某些器官中体现个别细胞学特征和代谢上的潜在差异。由此可知,不同的实验条件和研究方法,产生的研究结果有时会有冲突。因此为了克服这些局限性,就需要我们适当丰富实验动物的种类,选择合适的动物模型,并进行多次重复性实验等,对实验结果进行统计分析后再得出结论,以使实验结果趋于客观。

4 新型转基因植物安全性评价

以药用、工业用及复合性状为代表的新一代转基因植物以无可比拟的优势和发展态势成为当今转基因技术开发和研究的热点。利用转基因植物作为生物反应器

能够大量生产优质的外源药用蛋白,例如疫苗、人血清蛋白、抗体、酶和多肽等,且已经在各种植物中经过测试,如水稻、烟草、玉米、大豆、土豆、大麦、胡萝卜和红花^[65]。目前有30多种源自转基因植物的医药产品已处于临床实验,其中9种已进入市场销售^[66]。在转基因植物中成功表达的重组疫苗有在烟草中表达的SARS冠状病毒蛋白^[67]、结核病抗原^[68]和牛病毒性腹泻病毒^[69],在土豆中表达的新城疫病毒^[70],在番茄中表达的Norwalk病毒衣壳蛋白^[71]和口蹄疫病毒多聚蛋白及蛋白酶^[72],在生菜中表达的双重志贺毒素B亚单位^[73]等。此外,还表达了用于疫苗研究的乙型肝炎表面抗原(HBsAg)基因^[74-76]、大肠杆菌热敏肠毒素B亚单位(LT-B)基因^[77]、狂犬病病毒糖蛋白(G蛋白)^[78]、口蹄疫病毒(VPI)基因^[79]、人乳头瘤病毒相关抗原^[80]等。到目前为止,对于药用转基因植物的安全性评价一般是按照临床医学评价体系进行评价,国内外还没有建立对其安全性评价体系。但是,随着转基因植物的不断释放,有可能会扩散到食物链中^[81-82],因此对其进行食用安全性评价是非常必要和紧迫的。

随着传统化石燃料的日益枯竭及当今自然环境的不断恶化,开发利用各种生物能源也将成为未来的发展趋势,如利用转基因大豆、转基因玉米等生产生物燃料。瑞士先正达种子子公司研制的转基因玉米Event3272含有微生物 α -淀粉酶基因,该酶能够迅速地将淀粉分解为糖,从而生产乙醇,提高生物燃料的生产效率。在美国农业部解除对其管制之后,进行了大范围的商业化种植^[83]。2010年3月2日,欧盟委员会宣布,批准欧盟国家种植转基因土豆Amflora。这种土豆可用于生产工业用淀粉,副产品可用于生产畜牧饲,节省原材料、能源、水和其他化学辅料^[84]。虽然工业用转基因植物的最终目的并不是用作食品和饲料,可是在存放或者使用的过程中,有掺杂入食品及动物饲料中的可能性。目前对工业用转基因植物的安全性评价体系还没有建立起来,但建立工业用转基因植物的食用安全性评价技术势在必行。

复合性状转基因策略拓展了转基因作物功能,提高了资源利用效率,有良好的应用前景。如DAS-44406-6转基因大豆中转入了3种蛋白,能够抗多种除草剂,具有抗广谱除草剂的特性^[85]。但是,复合性状转基因植物由于转入多个基因,这些基因之间可能存在非关联、关联、代谢等相互作用关系,引发协同效应;另一方面转入的目的基因与植物内源基因组之间发生基因重组、突变等情况的可能性增大,若是多个转基因在多个位置,具有多个拷贝数,则目的基因很难稳定表达。由此可见,复合性状转基因作物有可能产生与单性状转基因植物不同的食用安全结果,引起毒性、过敏性等方面的危害。因此,对复合性状转基因植物的食用安全性评价应

将重点关注复合转基因相互作用方面, 对其进行外源蛋白与植物全食品的食用安全综合评价。还应关注由于性状叠加造成的外源蛋白摄入量增加, 以及对植物体内主要营养成分的营养平衡与营养功能的影响, 并利用代谢组学与蛋白质组学技术分析实验动物体内代谢成分的非期望效应。

5 转基因抗虫水稻的食用安全性评价

水稻是发展中国家最重要的粮食作物之一, 超过35亿人依靠水稻提供每日卡路里摄入量的20%^[86]。目前我国水稻生产中的主要问题仍然是水稻白叶枯、稻瘟病、稻曲病和条纹叶枯病等病虫害。水稻害虫对植株的侵害包括从根到穗部的各个部分, 以及从幼苗到植株成熟的各个生长阶段。有大约1 000种已知害虫会对水稻造成侵害, 其中30种足以造成严重损伤需要加以控制^[87]。然而, Bt水稻的成功研发为病虫害的防治提供了新的途径。

来源于苏云金芽孢杆菌(Bt)的*cry*基因编码Cry杀虫蛋白, 其中Cry1Ab和Cry1Ac是转基因作物中最普遍的Bt蛋白。Cry蛋白对许多重要的农作物害虫, 包括鳞翅目、鞘翅目、双翅目、膜翅目等都具有特异性的毒杀作用, 而对人畜无害。该蛋白被鳞翅目等昆虫摄食后, 在昆虫幼虫的肠道内经蛋白酶水解成65~70 kD的具有杀虫活性的毒性多肽分子, 与目标害虫的肠道上皮细胞表面的特异性受体相互作用使细胞膜形成小孔, 扰乱细胞的渗透平衡, 并引起细胞肿胀甚至裂解, 从而导致昆虫幼虫停止进食而最终死亡。然而, *cry*基因并不是水稻等植物细胞天然具有的, 是通过基因工程方法转入水稻基因组的, 因此, 其对人体健康的安全性必须得到评估。2005年Schröder等^[88]报道, 用Cry1Ab转基因水稻(KMD1)与其亲本(Xiushui 11)进行90 d的大鼠安全性喂养实验。结果显示, 采用每千克含Bt蛋白15 mg的转基因水稻喂养的大鼠, 与对照组相比, 没有出现毒性反应和副作用, 只有极少数生理指标(如血液学、相对脏器系数等)发生显著变化, 但均在正常生理范围内, 与饲料中的转基因成分无关。Tang Xueming等^[89]也证明了Bt水稻也没有对大鼠产生任何毒性作用或者不良反应。Cao Sishuo等^[90]用42 d灌胃的方法检测了Cry1C与花生凝集素(peanut agglutinin, PNA)、马铃薯酸性磷酸酶(potato acid phosphatase, PAP)、卵清蛋白(ovalbumin, OVA)对BN大鼠的致敏性, 结果在最后一次灌胃的10 d之后大鼠产生了过敏反应, 与PNA、PAP和OVA的致敏性相比, Cry1C蛋白未能引起BN大鼠体内特异性IgG2a的升高。Cry1C处理组动物血液中细胞因子表达水平、血清IgE、组胺水平以及嗜酸性粒细胞和肥大细胞的数量均与对照组动物的水平相

似。表明Cry1C没有显示出任何致敏原性, 可以安全用于水稻或其他种类的植物之中。

2009年, 农业部批准了两种转Bt融合型杀虫蛋白CryAb/CryAb的抗虫水稻, “华恢1号”和“Bt汕优63”的安全证书。虽然转基因水稻的研发已经达到了可商业化的阶段, 但是出于对其食用与环境安全性的忧虑, 目前转基因水稻还没有被批准商品化生产。一旦转基因水稻商业化, 改良农艺性状的转基因水稻不仅能够像其他已经应用于商业化的转基因作物一样增加收益, 而且给消费者带来的预期利益会更高一个数量级^[91], 同时会减轻贫困、饥饿和营养不良的困境。

6 转基因生物食用安全标准化

随着对转基因生物食用安全性研究的深度和广度的不断拓展, 科学界对农业转基因生物的食用安全问题有了更加全面和理性的认识。为防范农业转基因生物对人类健康的危害或者潜在风险, 各相关国际组织和各国政府专门制定了农业转基因生物及产品食用安全的管理法规。但迄今仍然缺乏较为统一、规范的标准体系, 来规定农业转基因生物的食用安全性要求与评价的标准。每个国家以及不同的评价方案都有不同的标准, 还在沿用每评价一个个案独立制定一个评价方案的方法。为了更好地适应全球农业转基因生物及其产品生产和贸易快速发展的要求, 各相关的国际组织和国家都在致力于不断充实和完善农业转基因生物及产品食用安全性的评价程序和方法, 积极推进标准国际化的进程。

目前, 从事转基因生物食用安全标准国际化的组织, 主要是国际食品法典委员会(Codex Alimentarius Commission, CAC), 主要负责制定国际通用的食品标准、食品加工指南和相关视频生产操作手册等。已经发布的转基因相关食用安全检测指南(标准)有《现代转基因食品的安全风险评估原则》、《重组DNA植物及其食品安全性检测指南》以及《重组DNA微生物及其食品安全性检测指南》。经过多年的建设与发展, 我国农业转基因生物安全标准体系也已初步形成了相关技术标准的雏形, 并取得了一定的成效, 如颁布了《农业转基因生物安全评价管理办法》、《农业转基因生物进口安全管理办法》和《农业转基因生物安全管理条例》等标准条例^[92]。

7 结 语

随着科学技术和社会的进步, 越来越多的国家开始重视社会、经济和环境的可持续发展, 开展以现代生物技术为核心的农业技术革命。转基因食品作为利用生物

技术改造的非传统食品具有一定的风险性,在对待其安全性问题上,应根据国际发展趋势和国家综合实力等多方面因素,制定适合我国国情的转基因食品产业发展和安全管理办法,加强食品安全的科学技术研究,用科学的安全评价手段有效的保障转基因作物的质量,更加有力推进我国乃至全球转基因技术的健康发展。

参考文献:

- [1] FAO. The state of the world's land and water resources for food and agriculture (SOLAW) managing systems at risk[R]. Rome: FAO, 2011.
- [2] 祁潇哲, 黄昆仑. 转基因食品安全评价研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2013, 15(4): 14-19.
- [3] BINDRABAN P S, van der VELDE M, YE L, et al. Assessing the impact of soil degradation on food production[J]. Current Opinion in Environmental Sustainability, 2012, 4(5): 478-488.
- [4] von BRAUN J. The world food situation: new driving forces and required actions[M]. Washington: International Food Policy Research Institute, 2007: 6-10.
- [5] MAGAÑA-GÓMEZ J A, de la BARCA A M. Risk assessment of genetically modified crops for nutrition and health[J]. Nutrition Reviews, 2009, 67(1): 1-16.
- [6] BORLAUG N E. Ending world hunger. The promise of biotechnology and the threat of antisense zealotry[J]. Plant Physiology, 2000, 124(2): 487-490.
- [7] TREWAVAS A J. The ethics of food, a reader for the twenty-first century[M]. Lanham: The Ethics of Food, Rowman & Littlefield, 2002: 148-155.
- [8] JUMA C. Preventing hunger: biotechnology is key[J]. Nature, 2011, 479: 471-472.
- [9] SHIVA V, BARKER D, BERRY Wendell, et al. The GMO emperor has no clothes[R/OL]. Italy: Navdanya International, 2011. [2014-03-27]. http://www.nabu.de/imperia/md/content/nabude/gentechnik/studien/gmo_emperor_study_pdf.pdf.
- [10] KAMLE S, ALI S. Genetically modified crops: detection strategies and biosafety issues[J]. Gene, 2013, 522(2): 123-132.
- [11] ZAMBRYSKI P, JOOS H, GENETELLO C, et al. Ti plasmid vector for the introduction of DNA into plant cells without alteration of their normal regeneration capacity[J]. The EMBO Journal, 1983, 2(12): 2143-2150.
- [12] JACOBSEN S E, SØRENSEN M, PEDERSEN S M, et al. Feeding the world: genetically modified crops versus agricultural biodiversity[J]. Agronomy for Sustainable Development, 2013, 33(4): 651-662.
- [13] 钱迎倩. 转基因作物的利弊分析[J]. 生物技术通报, 1999, 15(5): 7-11.
- [14] ENRIQUEZ J. Green biotechnology and European competitiveness[J]. Trends in Biotechnology, 2001, 19(4): 135-139.
- [15] JAMES C. Global status of commercialized biotech/GM crops[R]. Ithaca, New York: ISAAA, 2013.
- [16] QAIM M. The economics of genetically modified crops[J]. Annual Review of Resource Economics, 2009, 1: 665-694.
- [17] PADGETTE S R, BIEST TAYLOR N, NIDA D L, et al. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans[J]. Journal of Nutrition, 1996, 126(3): 702-716.
- [18] ZHOU Jie, BERMAN K H, BREEZE M L, et al. Compositional variability in conventional and glyphosate-tolerant soybean (*Glycine max* L.) varieties grown in different regions in Brazil[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(21): 11652-11656.
- [19] ESTEVE AGELET L, ARMSTRONG P R, TALLADA J G, et al. Differences between conventional and glyphosate tolerant soybeans and moisture effect in their discrimination by near infrared spectroscopy[J]. Food Chemistry, 2013, 141(3): 1895-1901.
- [20] LIU Pengfei, HE Xiaoyun, CHEN Delong, et al. A 90-day subchronic feeding study of genetically modified maize expressing Cry1Ac-M protein in Sprague-Dawley rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(9): 3215-3221.
- [21] ZHU Yaxi, HE Xiaoyun, LUO Yunbo, et al. A 90-day feeding study of glyphosate-tolerant maize with the *G2-aroA* gene in Sprague-Dawley rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2013, 51: 280-287.
- [22] PERLAK F J, STONE T B, MUSKOPF Y M, et al. Genetically improved potatoes: protection from damage by Colorado potato beetles[J]. Plant Molecular Biology, 1993, 22(2): 313-321.
- [23] MCGLOUGHLIN M N. Modifying agricultural crops for improved nutrition[J]. New Biotechnology, 2010, 27(5): 494-504.
- [24] HE Xiaoyun, TANG Maozhi, LUO Yunbo, et al. A 90-day toxicology study of transgenic lysine-rich maize grain (Y642) in Sprague-Dawley rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2009, 47(2): 425-432.
- [25] DRAKAKAKI G, MARCEL S, GLAHN R P, et al. Endosperm-specific co-expression of recombinant soybean ferritin and *Aspergillus* phytase in maize results in significant increases in the levels of bioavailable iron[J]. Plant Molecular Biology, 2005, 59(6): 869-880.
- [26] ZEH M, CASAZZA A P, KREFT O, et al. Antisense inhibition of threonine synthase leads to high methionine content in transgenic potato plants[J]. Plant Physiology, 2001, 127(3): 792-802.
- [27] YE Xudong, AL-BABILI S, KLÖTI A, et al. Engineering the provitamin a (β -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm[J]. Science, 2000, 287: 303-305.
- [28] AL-BABILI S, BEYER P. Golden rice-five years on the road: five years to go?[J]. Trends in Plant Science, 2005, 10(12): 565-573.
- [29] ANAI T, KOGA M, TANAKA H, et al. Improvement of rice (*Oryza sativa* L.) seed oil quality through introduction of a soybean microsomal omega-3 fatty acid desaturase gene[J]. Plant Cell Reports, 2003, 21(10): 988-992.
- [30] FLACHOWSKY G, CHESSON A, AULRICH K. Animal nutrition with feeds from genetically modified plants[J]. Archives of Animal Nutrition, 2005, 59(1): 1-40.
- [31] FLACHOWSKY G, AULRICH K, BÖHME H, et al. Studies on feeds from genetically modified plants (GMP): contributions to nutritional and safety assessment[J]. Animal Feed Science and Technology, 2007, 133(1): 2-30.
- [32] HE Xiaoyun, HUANG Kunlun, LI Xin, et al. Comparison of grain from corn rootworm resistant transgenic DAS-59122-7 maize with non-transgenic maize grain in a 90-day feeding study in Sprague-Dawley rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(6): 1994-2002.
- [33] WANG Erhui, YU Zhou, HU Jing, et al. Effects of 90-day feeding of transgenic Bt rice TT51 on the reproductive system in male rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2013, 62: 390-396.
- [34] ZHOU Xinghua, DONG Ying, XIAO Xiang, et al. A 90-day toxicology study of high-amylose transgenic rice grain in Sprague-Dawley rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2011, 49(12): 3112-3118.
- [35] CAC, Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Foods derived from modern biotechnology[S]. Rome: FAO/WHO Food Standards Programme, 2009.
- [36] DELANEY B, ASTWOOD J D, CUNNY H, et al. Evaluation of protein safety in the context of agricultural biotechnology[J]. Food and

- Chemical Toxicology, 2008, 46: S71-S97.
- [37] HAMMOND B. Food safety of proteins in agricultural biotechnology[M]. New York: CRC Press, 2008: 237-258.
- [38] SNELL C, BERNHEIM A, BERGÉ J B, et al. Assessment of the health impact of GM plant diets in long-term and multigenerational animal feeding trials: a literature review[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(3): 1134-1148.
- [39] MACKENZIE S A, LAMB I, SCHMIDT J, et al. Thirteen week feeding study with transgenic maize grain containing event DAS-Ø15Ø7-1 in Sprague-Dawley rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2007, 45(4): 551-562.
- [40] APPENZELLER L M, MALLEY L, MACKENZIE S A, et al. Subchronic feeding study with genetically modified stacked trait lepidopteran and coleopteran resistant (DAS-Ø15Ø7-1xDAS-59122-7) maize grain in Sprague-Dawley rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2009, 47(7): 1512-1520.
- [41] APPENZELLER L M, MUNLEY S M, HOBAN D, et al. Subchronic feeding study of grain from herbicide-tolerant maize DP-Ø9814Ø-6 in Sprague-Dawley rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2009, 47(9): 2269-2280.
- [42] MCCLAIN S, BOWMAN C, FERNÁNDEZ-RIVAS M, et al. Allergic sensitization: food-and protein-related factors[J]. Clinical and Translational Allergy, 2014, 4(11):1-9.
- [43] 王广印, 韩世栋, 陈碧华, 等. 转基因食品的安全性与标识管理[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 667-673.
- [44] NORDLEE J A, TAYLOR S L, TOWNSEND J A, et al. Identification of a Brazil-nut allergen in transgenic soybeans[J]. New England Journal of Medicine, 1996, 334(11): 688-692.
- [45] ZHOU Cui, SUN Na, WANG Jing, et al. Allergenicity assessment of a genetically modified protein recombinant human lactoferrin[J]. Allergy & Therapy, 2013(Suppl 3): 1-6.
- [46] FAO/WHO. Evaluation of allergenicity of genetically modified foods: report of a joint FAO/WHO expert consultation on allergenicity of foods derived from biotechnology[R]. Rome, Italy: FAO/WHO, 2001.
- [47] HAUSDING M, SAUER K, MAXEINER J H, et al. Transgenic models in allergic responses[J]. Current Drug Targets, 2008, 9(6): 503-510.
- [48] CELLINI F, CHESSON A, COLQUHOUN I, et al. Unintended effects and their detection in genetically modified crops[J]. Food and Chemical Toxicology, 2004, 42(7): 1089-1125.
- [49] DENG Pingjian, ZHOU Xiangyang, YANG Dongyan, et al. The definition, source, manifestation and assessment of unintended effects in genetically modified plants[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2008, 88(14): 2401-2413.
- [50] BYEON Y, PARK S, KIM Y S, et al. Microarray analysis of genes differentially expressed in melatonin-rich transgenic rice expressing a sheep serotonin *N*-acetyltransferase[J]. Journal of Pineal Research, 2013, 55(4): 357-363.
- [51] GUO Bin, HE Wei, WU Daochang, et al. Proteomic analysis of tomato (*Lycopersicon esculentum* var. cerasifarm) expressing the HBsAg gene by 2-dimensional difference gel electrophoresis[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2013, 68(4): 424-429.
- [52] CAO Sishuo, XU Wentao, LUO Yunbo, et al. Metabonomics study of transgenic *Bacillus thuringiensis* rice (T2A-1) meal in a 90-day dietary toxicity study in rats[J]. Molecular BioSystems, 2011, 7(7): 2304-2310.
- [53] RAMESSAR K, PEREMARTI A, GÓMEZ-GALERA S, et al. Biosafety and risk assessment framework for selectable marker genes in transgenic crop plants: a case of the science not supporting the politics[J]. Transgenic Research, 2007, 16(3): 261-280.
- [54] 李文凤, 季静, 王罡, 等. 提高转基因植物标记基因安全性策略的研究进展[J]. 中国农业科学, 2010, 43(9): 1761-1770.
- [55] WANG Erhui, YU Zhou, HU Jing, et al. A two-generation reproduction study with transgenic Bt rice TT51 in Wistar rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2013, 65: 312-320.
- [56] HU Yichun, LI Min, PIAO Jianhua, et al. Nutritional evaluation of genetically modified rice expressing human lactoferrin gene[J]. Journal of Cereal Science, 2010, 52(3): 350-355.
- [57] MAGA E A, DESAI P T, WEIMER B C, et al. Consumption of lysozyme-rich milk can alter microbial fecal populations[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(17): 6153-6160.
- [58] STEINKE K, GUERTLER P, PAUL V, et al. Effects of long-term feeding of genetically modified corn (event MON810) on the performance of lactating dairy cows[J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2010, 94(5): e185-e193.
- [59] BARTHOLOMAEUS A, PARROTT W, BONDY G, et al. The use of whole food animal studies in the safety assessment of genetically modified crops: limitations and recommendations[J]. Critical Reviews in Toxicology, 2013, 43(Suppl 2): 1-24.
- [60] THOMAS K, HEROUET-GUICHENEY C, LADICS G, et al. Evaluating the effect of food processing on the potential human allergenicity of novel proteins: international workshop report[J]. Food and Chemical Toxicology, 2007, 45(7): 1116-1122.
- [61] van BOEKEL M, FOGLIANO V, PELLEGRINI N, et al. A review on the beneficial aspects of food processing[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2010, 54(9): 1215-1247.
- [62] SISSENER N H, SANDEN M, BAKKE A M, et al. A long term trial with Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed genetically modified soy; focusing general health and performance before, during and after the parr-smolt transformation[J]. Aquaculture, 2009, 294(1): 108-117.
- [63] TUDISCO R, MASTELLONE V, CUTRIGNELLI M I, et al. Fate of transgenic DNA and evaluation of metabolic effects in goats fed genetically modified soybean and in their offsprings[J]. Animal, 2010, 4(10): 1662-1671.
- [64] MALATESTA M, BORALDI F, ANNOVI G, et al. A long-term study on female mice fed on a genetically modified soybean: effects on liver ageing[J]. Histochemistry and Cell Biology, 2008, 130(5): 967-977.
- [65] OBEMBE O O, POPOOLA J O, LEELAVATHI S, et al. Advances in plant molecular farming[J]. Biotechnology Advances, 2011, 29(2): 210-222.
- [66] CHATURVEDI P, CHOWDHARY A. Plant derived vaccine: a review[J/OL]. (2014-02-22) [2014-03-27]. <http://www.grin.com/en/e-book/269489/plant-derived-vaccine>.
- [67] LI Hongye, RAMALINGAM S, CHYE M L. Accumulation of recombinant SARS-CoV spike protein in plant cytosol and chloroplasts indicate potential for development of plant-derived oral vaccines[J]. Experimental Biology and Medicine, 2006, 231(8): 1346-1352.
- [68] DOROKHOV Y L, SHEVELEVA A A, FROLOVA O Y, et al. Superexpression of tuberculosis antigens in plant leaves[J]. Tuberculosis, 2007, 87(3): 218-224.
- [69] NELSON G, MARCONI P, PERIOLO O, et al. Immunocompetent truncated E2 glycoprotein of bovine viral diarrhea virus (BVDV) expressed in *Nicotiana tabacum* plants: A candidate antigen for new generation of veterinary vaccines[J]. Vaccine, 2012, 30(30): 4499-4504.
- [70] BERINSTEIN A, VAZQUEZ-ROVERE C, ASURMENDI S, et al. Mucosal and systemic immunization elicited by Newcastle disease virus (NDV) transgenic plants as antigens[J]. Vaccine, 2005, 23(48): 5583-5589.
- [71] ZHANG Xiuren, BUEHNER N A, HULSON A M, et al. Tomato is a highly effective vehicle for expression and oral immunization with

- Norwalk virus capsid protein[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2006, 4(4): 419-432.
- [72] PAN I, ZHANG Y, WANG Y, et al. Foliar extracts from transgenic tomato plants expressing the structural polyprotein, P1-2A, and protease, 3G, from foot-and-mouth disease virus elicit a protective response in guinea pigs[J]. *Veter Immunol Immunopathol*, 2008, 121(1/2): 83-90.
- [73] OKAMURA K, MATSUDA Y, IGARI K, et al. Effects of plant cultivation density and light intensity on the production of a vaccine against swine edema disease in transgenic lettuce[J]. *Environmental Control in Biology*, 2014, 51(4): 207-213.
- [74] KUMER G B, SRINIVAS L, GANAPATHI T R, et al. Expression of hepatitis B surface antigen in transgenic banana plants[J]. *Planta*, 2005, 222(3): 484-493.
- [75] PNIEWSKI T, KAPUSTA J, PLUCIENMICZAK A, et al. Agrobacterium-mediated transformation of yellow lupin to generate callus tissue producing HBV surface antigen in a long term culture[J]. *Journal of Applied Genetics*, 2006, 47(4): 309-318.
- [76] SHEKHAWAT U K S, GANAPATHI R, KUMER G B, et al. Sucrose-inducible expression of hepatitis B surface antigen using potato granule-bound starch synthase promoter[J]. *Plant Biotechnology Reports*, 2007, 1(4): 199-296.
- [77] KARAMAN S, CUNNICK J, WANG Kan. Analysis of immune response in young and aged mice vaccinated with corn-derived antigen against *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin[J]. *Molecular Biotechnology*, 2006, 32(1): 31-42.
- [78] SUN Meng, QIAN Kaixian, SU Ning, et al. Foot-and-mouth disease virus VP1 protein fused with cholera toxin B subunit expressed in *Chlamydomonas reinhardtii* chloroplast[J]. *Biotechnology Letters*, 2003, 25(13): 1087-1092.
- [79] DUS SANTOS M J, WIGDOROVITZ A, TRONO K, et al. A novel methodology to develop a foot and mouth disease virus (FMDV) peptide-based vaccine in transgenic plants[J]. *Vaccine*, 2002, 20(7): 1141-1147.
- [80] GIORGI C, FRANCONI R, RYBICKI E P. Human papillomavirus vaccines in plants[J]. *Expert Review of Vaccines*, 2010, 8: 913-924.
- [81] HUGGETT B. EU to monitor for Chinese GM rice[J]. *Nature Biotechnology*, 2008, 26: 478-508.
- [82] ALDERBORN A, SUNDSTR J, SOERIA-ATMADJA D, et al. Genetically modified plants for non-food or non-feed purposes: straightforward screening for their appearance in food and feed[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48: 453-464.
- [83] Food Safety News. USDA fully deregulateds GE^e ethanol corn^e[EB/OL]. (2011) [2014-03-27]. <http://www.foodsafetynews.com/2011/02/usda-fully-deregulates-ethanol-corn/#.UzVpo42BSZJ>.
- [84] 新华网. 欧盟批准种植转基因土豆将用于工业生产及饲料[EB/OL]. (2010) [2014-03-27]. http://news.xinhuanet.com/tech/2010-03/03/content_13087931.htm.
- [85] LEPPING M D, HERMAN R A, POTTS B L. Compositional equivalence of DAS-44406-6 (AAD-12+ 2mEPSPS+ PAT) herbicide-tolerant soybean and nontransgenic soybean[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(46): 11180-11190.
- [86] DEMONT M, STEIN A J. Global value of GM rice: a review of expected agronomic and consumer benefits[J]. *New Biotechnology*, 2013, 30(5): 426-436.
- [87] HEINRICHS E, MEDRANO F, RAPUSAS H. Genetic evaluation for insect resistance in rice[M]. Los Baño, Laguna, Philippines: International Rice Research Institute, 1985: 1.
- [88] SCHRÖDER M, POULSEN M, WILCKES A, et al. A 90-day safety study of genetically modified rice expressing Cry1Ab protein (*Bacillus thuringiensis* toxin) in Wistar rats[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2007, 45(3): 339-349.
- [89] TANG Xueming, HAN Fangting, ZHAO Kai, et al. A 90-day dietary toxicity study of genetically modified rice T1C-1 expressing Cry1C protein in Sprague-Dawley rats[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e52507. doi: 10.1371/journal.pone.0052507.
- [90] CAO Sishuo, HE Xiaoyun, XU Wentao, et al. Potential allergenicity research of Cry1C protein from genetically modified rice[J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2012, 63(2): 181-187.
- [91] SECK P A, DIAGNE A, MOHANTY S, et al. Crops that feed the world 7: rice[J]. *Food Security*, 2012, 4(1): 7-24.
- [92] 沈平, 黄昆仑, 厉建萌, 等. 国际转基因生物食用安全检测及其标准化[M]. 北京: 中国农业大学 & 农业部科技发展中心, 2010: 20-46.