

## 转基因玉米的研究进展和食用安全性评价

刘婷婷, 仝涛\*, 黄昆仑\*

中国农业大学食品科学与营养工程学院, 精准营养与食品质量重点实验室; 教育部功能乳品重点实验室, 北京 100083

**摘要:** 玉米是我国重要的粮食作物和饲料作物。目前转基因技术作为生物育种技术的代表, 已成为国际上育种的前沿和核心技术。世界各国利用转基因技术相继研发了具有多种优良性状的转基因玉米, 创造了巨大的经济效益; 同时统一、有效的监管措施是转基因玉米研发、推广和商业化重要基础。食用安全性评价是有效监管的前提。针对转基因玉米的商业化和控制玉米重要性状基因的研究进展进行了综述, 并对转基因玉米的食用安全性评价进行归纳分析, 以期为我国转基因玉米的研发、管理和推广提供理论参考。

**关键词:** 转基因玉米; 生物育种; 监管措施; 食用安全性

**DOI:** 10.19586/j.2095-2341.2021.0196

中图分类号: S513 文献标志码: A

## Research Progress and Safety Evaluation of Transgenic Corn

LIU Tingting, TONG Tao\*, HUANG Kunlun\*

Key Laboratory of Precision Nutrition and Food Quality, Key Laboratory of Functional Dairy, Ministry of Education, College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

**Abstract:** Corn is an important food crop and feed crop in China. At present, transgenic technology as a representative of biological breeding technology, has become the frontier and core technology in commercial breeding program. Transgenic corn with various excellent traits has been developed by transgenic technology in the world, which has created huge economic benefits. At the same time, unified and effective regulatory measures are important base for the genetic researches, development, extension and commercialization of genetically modified corn. Safety evaluation is the precondition for effective regulation. In this study, the commercialization progress of genetically modified corn and the research progress in transgene for important traits of corn were reviewed, and the food safety evaluation of genetically modified corn was summarized, which aimed to provide theoretical reference for research, management and promotion of genetically modified corn in China.

**Key words:** transgenic corn; biological breeding; regulatory measures; food safety

玉米既是我国重要的粮食作物, 又可作为畜牧业中的饲料来源。2020年, 我国玉米种植面积为4 500万 $\text{hm}^2$ , 总产量达26 478万 $\text{t}^{[1]}$ 。然而玉米受虫害影响较严重, 据统计, 我国约30%的春玉米和夏玉米受亚洲玉米螟的危害, 并造成10%左右的减产; 虫害严重时, 受害率可达90%, 并造成30%以上的减产<sup>[2]</sup>。同时, 病害也成为影响玉米种植的主要问题, 如铁岭作为辽宁省的重要玉米

生产基地, 2018年, 玉米中仅大斑病的发病率就高达30%<sup>[3]</sup>。由于我国玉米存在种植成本高、产品质量低等不足, 使其在国际市场上逐渐失去竞争力。此外, 我国在种质资源改良、创新等方面的基础性研究较薄弱, 大部分研发成果未实现商业化, 玉米种子生产加工等环节存在诸多问题, 导致种子质量难以满足实际生产需求<sup>[4]</sup>。因此, 研发转基因玉米对推动我国种植业发展具有重要的现

收稿日期: 2021-12-17; 接受日期: 2022-01-19

基金项目: 北京市自然科学基金项目(7222249); 山东省自然科学基金项目(ZR2021QC118); 中国农业大学 2115 人才工程资助项目。

联系方式: 刘婷婷 E-mail: SY20213061130@cau.edu.cn

\* 通信作者 仝涛 E-mail: tongtao1028@cau.edu.cn; 黄昆仑 E-mail: hkl009@163.com。

实意义。

转基因技术是指将某种生物的基因转移到另一个生物体内,并通过培育和筛选,使后一种生物获得目的性状的方法<sup>[5]</sup>。利用转基因技术,可定向改变玉米的遗传性状,获得具有抗虫、耐除草剂、抗逆、抗病、优质、高产等优良品种,不仅可以改善玉米品质,还能明显增加产能,缓解资源压力,为全球环境可持续发展做出贡献。同时,我国“十四五”规划和2035年远景目标等强调,生物育种是强化国家战略科技力量、坚持创新驱动发展的重要发展方向<sup>[2]</sup>。

虽然目前关于转基因玉米的研究成果较多,但鲜见将各改良性状的转基因玉米研究成果和转基因玉米的食用安全性评价进行整合的报道,基于此,本文总结了转基因玉米的研究情况,并从转基因玉米的食用安全性的角度出发,总结了现有的转基因玉米安全评价重点和方法,旨在为促进我国转基因玉米质量管控、产业管理和发展提供参考意见。

## 1 转基因玉米研究概况

### 1.1 转基因玉米商业化进展

从1996年首例转基因玉米Bt176商业化开始,转基因玉米在全球逐渐被广泛种植。截至2018年,全球有14个国家种植了转基因玉米<sup>[6]</sup>。转基因玉米的种植面积正呈逐年增加的趋势,1996年的种植面积仅为 $0.3 \times 10^6 \text{ hm}^2$ ,2018年的种植面积已达 $58.9 \times 10^6 \text{ hm}^2$ ,累积种植面积达到了 $7.5 \times 10^8 \text{ hm}^2$ ;且近20年,转基因玉米的应用率大幅提高,1997年为10%,在2012年达到峰值,为34.7%,2018年回落至29.9%<sup>[7]</sup>。转基因作物的商业化也创造了巨大的经济效益,截至2015年,全球种植转基因玉米累计创造了1 678亿美元的经济效益。目前在238个已经实现商业化生产的转基因玉米中,有196个为包含 $\geq 2$ 个商业化性状的转化。应用最多的性状是抗虫和耐除草剂性状,分别有208和209个转基因玉米含有上述性状;获得商业化应用的性状还有抗病性、产量、品质、杂种优势、非生物胁迫耐性等性状,分别有7、1、13、6、1个转基因玉米获批商业化。复合性状转化中有96%含抗虫-耐除草剂复合抗性。值得注意的

是,绝大多数转基因玉米的研发和商业化由跨国公司引领,研发转基因玉米最多的5家单位审批通过转基因玉米品种数量的总和占全球总量的98%<sup>[7]</sup>。

转基因植物及其产品只有通过相关实验,验证其环境安全和食用安全后,才能通过审批,获得转基因植物生产应用的安全证书。目前,日本、加拿大和韩国是审批通过转基因玉米安全证书最多的3个国家;日本和墨西哥是审批通过食用安全证书最多的2个国家<sup>[7]</sup>。在我国,获批商业化种植的作物种类较少,至2019年12月20日,仅有2个玉米转化体获得安全证书<sup>[8]</sup>。2020年共有8个国产转基因玉米生物获得安全证书,具体申报项目为DBN9936和DBN9858,且主要在黄淮海夏玉米区、西南玉米区、西北玉米区、南方玉米区取得的,这些转基因玉米品种能有效抵抗玉米螟、东方粘虫、草地贪夜蛾等害虫<sup>[9]</sup>。但同时,我国一直持续进口美国、巴西、阿根廷等国家的转基因玉米<sup>[10]</sup>。截至2019年8月,我国批准进口的转基因玉米转化体共计20个<sup>[11]</sup>。批准进口的转基因玉米性状包括除草剂(草甘膦、草铵膦)耐性、抗虫(鳞翅目害虫、鞘翅目害虫)性、生理性状改良(水分利用效率)和品质改良(淀粉酶含量)4类性状。针对目的基因而言,这些转基因玉米共涉及来源于苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)的Bt基因10个<sup>[12]</sup>。

### 1.2 控制玉米重要性状基因的研究进展

玉米的转基因育种涉及多种性状,包括抗虫、耐除草剂、抗逆、抗病、优质、高产等,目前研发出的产品中抗虫、耐除草剂的转基因玉米商业化程度最高,应用范围最广<sup>[13]</sup>。

**1.2.1 抗虫转基因玉米的研究进展** 玉米虫害主要以玉米螟、玉米棉铃虫、草地贪夜蛾为主,通常会造成巨大的经济损失,通过传统的育种技术获得的玉米抗虫种质资源较为短缺,而利用转基因技术获得抗虫玉米新品种已成为玉米育种的重要趋势。抗虫转基因玉米是目前研究最深入、应用最广、商业化转化体数量最多的一类。抗虫基因主要是来源于苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)的Bt基因,主要包括编码Cry类、Cyt类杀虫晶体蛋白基因及Vip类营养期杀虫蛋白基因,其中Cry类转基因作物商业化程度更高<sup>[14]</sup>。目前,已商业

化的带有抗虫性状的208个转化事件中,主要表达了 *cryIAb*、*cryIAc*、*cryIle*、*cryIAh*、*cryIc* 和 *cry2* 等基因,以及经过修饰的 *cryIAb*、*cryIIal* (*cryFLla*)、*cryIAc* (*mCryIAc* 和 *cryIAcM*) 等基因。另外,也有一些转化事件表达了 *cryIAb/cry2Aj*、*cryIAb/vip3DA*、*cryIAh/cryIle* 等融合基因<sup>[2]</sup>。随着转基因技术的发展,抗虫转基因玉米育种呈现靶标昆虫范围不断拓展、基因挖掘和应用不断推进、与抗虫性状相结合的复合性状成为主要培育方向的发展趋势<sup>[13]</sup>。

**1.2.2 耐除草剂转基因玉米的研究进展** 杂草与玉米作物存在的竞争关系会影响玉米的生长和产量,即使除草机械化程度越来越高,但通过传统的物理除草方法效率仍较低,而施用除草剂易造成环境污染。通过转基因技术将耐除草剂基因转移至作物,可以使玉米获得耐除草剂性状,进而在减少除草剂使用的同时提高产量。耐除草剂转基因玉米也是现今应用最广、商业化转化体数量最多的一种转基因玉米之一。目前,商业化的耐除草剂转基因玉米转化体中主要表达了 *pat*、*pat (syn)*、*bar*、*mepsps*、*2mepsps*、*cp4 epsps* (*aroA: CP4*)、*epsps grg23ace5*、*gat4621*、*goxv247*、*aad-1*、*zm-hra* 和 *dmo* 这12种基因,其中前9种基因对应的功能是抗草铵膦,*aad-1* 对应功能是抗2,4-D除草剂,*zm-hra* 对应功能是抗抑制乙酰乙酸合成酶类的除草剂,*dmo* 对应抗麦草畏 dicamba 除草剂<sup>[13]</sup>。此外,还有一些耐除草剂基因尚在挖掘和探究中。

**1.2.3 抗逆转基因玉米的研究** 干旱、盐碱等因素严重限制了玉米的种植和产量,利用转基因技术培育抗逆转基因玉米新品种是解决这一问题的重要方法。目前,商业化的抗逆转基因玉米转化体仅有7个,包含非生物胁迫性的仅有1个。我国研究者正在研发抗逆转基因玉米品种,如针对抗旱,我国研究者将大肠杆菌中的胆碱脱氢酶基因 *betA*<sup>[15]</sup>、盐土植物盐芥 (*Thellungiella halophila*) 中的液泡 H<sup>+</sup>-焦磷酸酶基因 *TsVP*<sup>[16]</sup>、榆钱菠菜 (*Atriplex hortensis*) 的甜菜碱醛脱氢酶基因 *BADH*<sup>[17]</sup> 或拟南芥钼辅因子硫化酶基因 *LOS5*<sup>[18]</sup> 转入玉米,获得了带有抗旱性状转基因玉米;针对耐盐性,研究者将来自大肠杆菌的6-磷酸山梨醇脱氢酶基因 *gutD*<sup>[19]</sup> 或胆碱脱氢酶基因 *betA*<sup>[20]</sup> 转入玉米中,获得了耐盐性明显提高的转基因玉米品种。张举仁

等<sup>[21]</sup>还开发出了 *mZmDEP* 基因,获得了同时具有抗旱性和耐盐性的转基因玉米。

**1.2.4 抗病转基因玉米的研究** 植物病毒的侵染和转录依赖于宿主的复制转录系统,通过干扰病毒的复制和转录,能延迟或减轻病虫害。目前,尚未有关于抗病转基因玉米商业化的报道,但其研发前景十分广阔。国内研究者将甘蔗花叶病毒反义外壳蛋白基因 *cp* 表达载体<sup>[22]</sup> 或该病毒的复制酶基因的反向重复序列转入玉米<sup>[23]</sup>,获得了抗矮花叶病的转基因玉米植株;还有研究者在玉米中设计并转入针对玉米矮花叶病毒病的蛋白酶基因 *PI* 载体,也达到了相似的效果<sup>[24]</sup>。Cao 等<sup>[25]</sup>通过在玉米中表达来自大肠杆菌的双链 RNA 核糖核酸内切酶基因 *rnc70*,可获得抗粗缩病的转基因玉米;Shepherd 等<sup>[26]</sup>通过在玉米中表达条纹病毒复制相关蛋白基因 *rep*,可获得抗条纹病毒病的转基因玉米。

玉米锈病也是影响玉米产量和品质的常见病。研究发现通过促进球状真菌病毒 (Totivirus) 抗真菌蛋白 KP4 在玉米中的表达,可获得不影响植株发育且具有抗锈病性质的转基因玉米植株<sup>[27]</sup>;在玉米中表达 *Lr34*,能获得抗普通锈病和大斑病的转基因玉米植株<sup>[28]</sup>。

玉米中以黄曲霉毒素为代表的曲霉真菌毒素不仅影响玉米品质,还可能威胁人类的健康。研究者利用 RNAi 技术,通过抑制编码黄曲霉毒素生物合成的 *aflC* 基因的表达,显著降低了转基因玉米植株子粒中黄曲霉毒素的含量<sup>[29]</sup>。

**1.2.5 优质转基因玉米的研究** 通过转基因技术,可以提高玉米产品中的蛋白质(或必需氨基酸)、脂质和维生素等物质的含量。目前,已有13个品质性状改良的转基因玉米转化体实现了商业化,且相关研究也正在持续推进。

为提高玉米中必需氨基酸的含量,研究者将马铃薯微管相关蛋白基因 *SBgLR* 转入玉米并在种子中特异表达,获得了赖氨酸含量较高的转基因玉米<sup>[30]</sup>。值得注意的是,Reussen LLC 公司通过在玉米中转入二氢甲基吡啶酸合成酶基因 *cordapA*,提高了玉米中的赖氨酸含量,这一转化事件被命名为 LY038,且目前已成功商业化。除以上总结的高赖氨酸含量转基因玉米的研发外,国内外众多科学家通过类似的方式也获得了富含色氨

酸<sup>[31]</sup>、甲硫氨酸<sup>[32]</sup>及总蛋白<sup>[33]</sup>的转基因玉米植株。

为提高油分含量,孟山都公司通过在玉米中转入并表达二酰甘油 O-酰基转移酶基因 *DGAT2*, 获得了油分含量可提高 26% 的玉米品种<sup>[34]</sup>; 杜邦先锋公司通过表达玉米 *ZmLECI* 基因, 获得了使玉米油分含量提高 40%<sup>[35]</sup> 的品种。

为提高玉米维生素含量, 研究者通过在玉米中表达  $\beta$ -胡萝卜素羟化酶和  $\beta$ -胡萝卜素酮醇酶基因, 同时敲除番茄红素  $\epsilon$ -环化酶基因, 获得了高虾青素含量的转基因玉米<sup>[36]</sup>; 通过在玉米中表达 *psyl*、*crtl*、*dhar* 和 *folE* 等基因, 可使玉米中叶酸含量提高 1 倍, 抗坏血酸含量提高 5 倍, 3-胡萝卜素含量甚至能提高 168 倍<sup>[37]</sup>; 在玉米中表达 *mT-MT2 $\alpha$*  基因, 使转基因玉米  $\alpha$ -生育酚含量提高了 3.0~4.5 倍<sup>[38]</sup>。

**1.2.6 高产转基因玉米的研究** 提高产量一直是作物研发领域的重点, 可从以下两个方面入手: 一方面是提高玉米籽粒产量, 另一方面是提高玉米中生物乙醇的转化率。针对产量的提高, 研究发现通过在玉米中过表达细胞壁转化酶基因, 可提高籽粒大小、籽粒数和淀粉含量<sup>[39]</sup>; 通过导入葡萄糖焦磷酸化酶基因 *glgC16*, 可提高玉米种子重量<sup>[40]</sup>。针对乙醇转化率的提高, 研究发现在玉米中转入编码淀粉酶 (*Amylopullula-nase*, *APU*) 的基因, 提高了降解籽粒淀粉关键酶  $\alpha$ -淀粉酶和淀粉葡糖苷酶的表达量和效率, 使乙醇转化率提高到了 90.5%<sup>[41]</sup>。

**1.2.7 复合性状转基因玉米的研究** 近年来具有多个优良性状的转基因玉米已成为研发重点。研究者主要通过多基因单载体转化和多基因多载体共转化技术, 实现在同一株玉米中表达多个优良性状的目标, 如将 *cryIAcM*、*epsps*、*GAT*、*ZmPIS* 转入玉米, 可获得同时具有抗玉米螟、耐草甘膦和抗旱性状的转基因玉米<sup>[42]</sup>; 将抗虫基因 *CryIAb* 与耐除草剂基因 *2mG2-epsps* 融合并转入玉米植株幼胚, 可初步获得具有抗虫和耐除草剂双性状的转基因玉米<sup>[43]</sup>。

## 2 转基因玉米食用安全性评价

转基因植物自诞生起, 其食用安全性引起了

科学界、管理者和公众的共同关注。很多人担心转基因植物打破了自然界的种族隔离, 因此, 无法确定转基因植物的食用安全性, 大众对转基因植物的食用安全性主要有以下 5 个方面的担忧: 第一, 转基因植物的营养成分是否与其亲本植物相同, 以及它们提供的营养是否可以满足人体需求; 第二, 转基因植物对害虫有毒害作用, 那么它们对人体是否同样具有毒性; 第三, 食用转基因植物是否有致敏风险; 第四, 转基因植物中的基因是否会通过食用发生转移; 第五, 转基因植物是否存在非期望效应<sup>[44]</sup>。

1993 年世界经济合作与发展组织提出了“实质等同性”的概念, 即若某个新食品或食品成分与现有食品或食品成分大致相同, 则它们是等同安全的, 此概念得到了世界卫生组织、联合国粮食及农业组织、国际食品法典委员会等的认同, 并成为了转基因食品的食用安全性评估的重要原则之一。另一重要原则是“个案分析”原则。在这两个基本原则的基础上, 并结合相关法律法规, 对转基因玉米进行关键成分分析、营养学评价、毒理学评价和致敏性评价是判断转基因玉米食用安全性的基本内容; 并且, 自 1996 年转基因玉米在美国首次实现商业化以来, 转基因玉米的育种从基因转化、基因整合、标记筛选、产品检测到害虫抗性管理等已建立了比较完整的理论和技术体系<sup>[45]</sup>。

### 2.1 转基因玉米的关键成分分析

关键成分分析是转基因食品安全性评估的先决因素和必不可少的内容之一。关键成分分析过程中对样品的选择有非常严格的要求, 选取的样品可以是来自一个种植点而种植季节不同的 3 个及以上样品, 也可以是来自同一个种植季节但种植地点不同的 3 个及以上样品<sup>[44]</sup>。对转基因玉米的关键成分分析主要分为营养成分分析和抗营养成分分析两大部分。

对转基因玉米进行营养成分分析是消除公众对转基因玉米能否提供人体所需营养成分, 及其营养成分组成和含量是否与非转基因玉米相同的疑虑的最直接方法。由于不同品种转基因植物的营养成分存在差异, 因此尚未统一规定必须检测的成分<sup>[44]</sup>。研究者<sup>[46-49]</sup>通常依据世界经济与发展组织对各类转基因植物需检测的成分规定及其

对应的数据参考范围来评价转基因植物的营养成分是否合理。根据规定,需要检测的营养成分主要包括碳水化合物等三大营养素以及维生素和矿物质等微量成分,部分品种还需要检测蛋白质中氨基酸的组成比例和含量,以及脂肪中不同脂肪酸的比例与含量。具体测定过程中,通常将转基因玉米对应的亲本作为对照,来评价非转基因玉米在营养成分上是否存在明显区别,能否为人类提供必要的营养成分。若转基因玉米与其对应的非转基因玉米营养成分显示存在显著差异,则需进一步考察差异是否在这类食品规定的参考范围内。研究者通过对比耐除草剂 G2-Aroa 玉米<sup>[46]</sup>、转 AO 基因高植酸酶玉米<sup>[47]</sup>及其非转基因玉米的主要营养成分(水分、灰分、脂肪、粗蛋白和纤维)含量发现,转基因玉米与非转基因玉米上述营养物质含量差异不显著,总体营养水平相当,个别差异属于自然变异,且均符合国家标准并在世界经济合作与发展组织的参考范围内。表明基因的插入并不会干扰玉米的营养平衡,转基因玉米及其亲本玉米之间营养成分具有实质等同性。

抗营养因子是指对机体代谢途径尤其是消化途径有阻断作用的物质。常见的抗营养因子包括蛋白酶抑制剂、植酸、凝集素、芥酸、棉酚、单宁酸和硫苷,它们将导致机体对蛋白质、维生素或矿物质等营养素的吸收利用效率降低,进而使食物的利用率和营养价值降低。此外,大多数抗营养因子如草酸盐、生氰酸等,在摄入量较大时还会产生毒性作用,影响人体健康<sup>[48]</sup>。因此,对转基因玉米的关键成分分析应包括抗营养因子的分析。一般认为玉米中的抗营养因子主要是存在于玉米籽中的植酸盐、胰岛素及胰凝乳蛋白酶抑制物等。通过基因序列分析、酶活测定等方法,检测了转 *Bt-176* 基因抗虫抗草铵膦玉米<sup>[49]</sup>和转 *G2-aroA* 基因耐草甘膦玉米<sup>[50]</sup>中的胰凝乳蛋白酶抑制物活性,发现 *Bt-176* 玉米组织胰凝乳蛋白酶抑制活性无明显变化,转 *G2-aroA* 基因耐草甘膦玉米的胰蛋白酶抑制物活性低于非转基因玉米。由此说明,这两种转基因玉米与非转基因玉米的抗营养因子具有实质等同性。

## 2.2 转基因玉米营养学评价

营养学评价是转基因玉米食用安全性评价的重要组成部分,其评价基础是关键成分分析,并且

两个评价内容相互呼应,都是消除公众对转基因玉米能否提供人体所需营养成分疑虑的主要方法。转基因玉米的营养学评价遵循的是“个案分析”原则,具体方法是将动物分为实验组和对照组,分别饲喂转基因玉米全食饲料和非转基因玉米饲料。通过对比实验过程中组间动物的进食状态以及健康状态差异,评价转基因玉米与亲本植物是否存在营养学区别<sup>[44]</sup>。转基因玉米的营养学评价包括了营养成分、抗营养因子等,以及加工条件对转基因玉米营养的影响。

目前已证实多个品种转基因玉米与其亲本玉米的营养成分和含量并无明显差异;同时,通过动物喂养实验也证明多种转基因玉米营养成分的生物利用率与亲本相比并无显著差异,如用转 RDV 运动蛋白缺陷型基因抗矮花叶玉米全食物饲喂 SD 大鼠,检测 90 d 中大鼠生长性能、尿液及脏器指数的变化,上述指标证明转 RDV 运动蛋白缺陷型基因抗矮花叶玉米与常规非转基因玉米有相同的生物学营养<sup>[51]</sup>。

通过动物实验观察转基因玉米中的抗营养因子的变化情况,是转基因玉米营养学评价的重要内容之一<sup>[47]</sup>,如通过对比饲喂转植酸酶玉米和对照非转基因玉米后的 SD 大鼠的生长性能、血常规、生化指标和蛋白功效比值,可证明转 AO 基因高植酸酶玉米在蛋白质营养价值方面与非转基因玉米具有实质等同性,即从营养学角度分析该类型玉米是安全的<sup>[47]</sup>。

此外,考虑到玉米一般是通过烹煮、发酵等加工操作后食用,因此,评估加工方式对转基因玉米食用安全性的影响也具有重要意义。目前,国际上尚无针对加工转基因产品食用安全性评价的统一标准,加工后转基因产品的食用安全性评价主要基于特异性 DNA 片段检测的 PCR 技术和特异性蛋白质检测的免疫学法两种技术,这两种方法各有利弊,但产品经过深度加工后蛋白质易发生变性,而 DNA 在高温、高压等逆境下即使发生降解也仍能被检测出,因此基于特异性 DNA 检测的 PCR 法使用更加广泛<sup>[52]</sup>。研究发现,多数物理加工方法,如粉碎、配料、混合、普通制粒工艺和青贮不会降解转基因产品中的 DNA<sup>[53]</sup>,但蒸煮<sup>[54]</sup>、发酵和烘烤<sup>[55]</sup>等加工方式将导致转基因产品中基因被破坏和降解,降低了基因转移的风险;并且加热温度越

高,加工时间越长,基因的破坏量越高,同时循环次数值越大,表明加工后的DNA含量越少<sup>[56]</sup>。

### 2.3 转基因玉米毒理学评价

转基因玉米的毒理学评价主要有以下两种方式:一种是对外源基因表达产物的毒理学评估,另一种是对全食品的毒理学评估。对转入基因表达产物的毒理学评估即对转基因玉米的非预期效应的评价,因此对转基因玉米的毒理学评价更加保证了转基因产品的安全性,是转基因产品食用安全性评估的重要内容<sup>[44]</sup>。

对转入基因表达产物的毒理学评价包括以下内容:通过分析新蛋白与已知具有毒性的蛋白或抗营养因子的核酸、氨基酸序列对比是否同源,考察新蛋白的分子、生化特性等信息;通过热稳定性实验考察新蛋白的耐热性;通过模拟消化实验考察新蛋白的抗消化能力;通过急性毒性实验与28 d重复剂量暴露实验考察转基因产物的毒理性。

对于具有毒性新蛋白的体外模拟消化实验,以Cry1Ie蛋白的模拟消化实验为例,Cry1Ie蛋白对亚洲玉米螟(*Ostrinia furnacalis*)具有高毒力,且此基因已经应用于培育转基因抗虫玉米,其体外模拟消化实验显示,Cry1Ie蛋白在模拟胃肠液中15 s内即被消化,且SDS-PAGE未检测到蛋白残留。进一步进行生物活性测定,证实Cry1Ie蛋白在胃肠液系统不稳定,并丧失了对亚洲玉米螟的杀虫活性,表明这类转入基因表达的蛋白不会对人类产生毒害作用<sup>[57]</sup>。

全食品毒理学评估可用于分析判断转基因产品对人类健康的长期影响,一般通过亚慢性毒性实验(90 d动物喂养实验)进行评估,如果亚慢性毒性实验显示不符合预期的结果,则需通过慢性毒性或生殖毒性动物实验进行进一步检验<sup>[44]</sup>。有研究通过用转基因玉米喂养SD大鼠,观察造模90 d后实验组和对照组大鼠的生化、血常规、脏器指数等指标,证明了转基因耐草甘膦除草剂玉米CC-2<sup>[58]</sup>、转基因抗虫玉米CM8101<sup>[45]</sup>、转基因DAS-59122-7玉米<sup>[59]</sup>和转基因玉米DAS-Ø15Ø7-1xDAS-59122-7(1507x59122)<sup>[60]</sup>没有亚慢性毒性。也有研究者采用三代繁殖毒性研究的方法,通过检测并对比各组大鼠的基本生理生化指标和生殖系统以及子代发育情况,证明食用转Cry1Ab和epsps基因玉米不会对大鼠及其子代造成不良影响<sup>[61]</sup>。

### 2.4 转基因玉米致敏性评价

大多数食物的致敏原是蛋白质,且致敏性不是转基因植物所独有的,普通植物也能导致过敏,但由于利用转基因技术可转移致敏基因,因此需要额外检测转基因植物产生的新蛋白的致敏性。目前,国际通用的致敏性评价依据是联合国粮农组织和世界卫生组织颁布的过敏原评价决定树,其主要评估内容包括新蛋白质与已知蛋白质的氨基酸序列的同源性判定、潜在致敏蛋白质的热稳定性评估、蛋白消化能力评估以及动物模型实验过敏性评价等<sup>[62]</sup>。

目前,判断新蛋白具有潜在致敏性的标准为新蛋白与已知过敏原蛋白具有35%以上连续6个相同的氨基酸<sup>[44]</sup>。有研究通过在蛋白质信息库(the protein information resource, PIR)、美国国立生物技术信息中心(national center for biotechnology information, NCBI)、PubMed等含有已知致敏原序列的数据库中进行蛋白氨基酸序列同源性比对,证明了抗虫抗草铵膦的Bt-176转基因玉米中Cry1A(b)<sup>[49]</sup>、PAT<sup>[49]</sup>及常用的标记基因潮霉素B磷酸转移酶(hygromycin B phosphotransferase, HPT)表达的HPT蛋白<sup>[58,63]</sup>等外源基因表达的蛋白理论上不会引发过敏反应。同时对于具有致敏性蛋白的抗消化能力测定的体外模拟蛋白消化能力实验和外源蛋白质的热稳定性实验的研究也较多,如通过对对照和样品蛋白进行模拟胃液消化实验,并结合SDS-PAGE与Western blot杂交实验的结果,已证明CP4-EPSPS蛋白<sup>[64]</sup>和AM79 EPSPS蛋白<sup>[65]</sup>在模拟胃肠液体系中极易被消化,且无致敏性。此外通过动物实验,观察小鼠的生理情况和相关生化指标,可以直观地评判转基因玉米中新蛋白的致敏性和致敏水平,如为评价HPT蛋白的过敏性,可以用已知致敏原卵清蛋白(ovalbumin, OVA)作为阳性对照蛋白,用无菌水作为空白对照进行动物实验,对比各组动物血清中的总IgE、IgG抗体水平及OVA、HPT蛋白诱导的特异性IgE、IgG抗体水平,从而证明HPT蛋白潜在致敏性较低<sup>[63]</sup>。

## 3 展望

研发和种植转基因玉米可以确保玉米健康生

长、正常发育、安全收获,从而增加玉米营养价值、减少病虫害等因素造成的经济损失,降低生产成本,提高生产效率,最终达到提升经济效益的目的。通过近30年的研究,转基因玉米的研发技术已日渐丰富和成熟。无论是国内还是国外,都已有不同优良性状(抗虫、耐除草剂、抗逆、抗病、优质和高产)的转基因玉米获批商业化种植,且仍在持续研究中。但对比国外转基因玉米的研发和商业化情况,我国自主研发和实现商业化的转基因玉米转化体数量较少,由国外跨国公司研发并推动商业化的转化体占到了商业化转化体的绝大多数。因此,科研人员要在大力研究转基因玉米转化体的同时加强对转基因生物技术以及基因专利的产权意识,同时国家也要在产权保护方面给予更多的支持,从而提高我国在转基因玉米研究和生产领域的竞争力。

虽然目前大多数研究已证实转基因玉米品种的安全性,但随着生物技术的发展,会不断有新的转基因玉米品种出现,公众也将持续关注转基因玉米的食用安全性问题。因此,需要不断依据科学评估和风险管理原则,对转基因玉米的安全评估和监管体系进行完善,并健全更新转基因玉米相关法律法规,通过科学严格的监管,保证转基因玉米的食用安全,同时还需注意加强与国际上转基因作物管理机构的协调性,及时更新转基因作物的监管框架,并结合宣传科普,减少民众的顾虑,进一步促进转基因玉米的商业化和科研发展。

综上所述,国内外众多研究者针对玉米所需的优良性状和玉米种植过程中亟待解决的问题,利用转基因技术培育出了多种具有优良性状的转基因玉米;同时,统一有效的安全评价标准是转基因玉米研发和推广的重要保障,因此转基因的食用安全性评价也值得人们重点关注。

#### 参 考 文 献

- [1] 路子显.近六十年我国玉米产业发展、贸易变化与未来展望[J].黑龙江粮食,2021(9):9-14.
- [2] 梁晋刚,张旭冬,毕研哲,等.转基因抗虫玉米发展现状与展望[J].中国生物工程杂志,2021,41(6):98-104.
- [3] 郭奥楠,杨学达,花薇.铁岭地区玉米主要病害发生危害调查分析[J].农业开发与装备,2021(10):165-166.
- [4] 张正岩.中国转基因玉米技术商业化的风险预判研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2018.
- [5] 田文芳,赵国云,李丹.科学看待转基因[J].现代农村科技,2021(8):118.
- [6] International Service for the Acquisition of Agribiotech Applications (ISAAA). Global status of commercialized biotech/GM crops in 2018: biotech crops continue to help meet the challenges of increased population and climate change[R/OL].(2021-06-18)[2022-01-19]. [https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/54/download/isaaa\\_brief-54-2018.pdf](https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/54/download/isaaa_brief-54-2018.pdf).
- [7] 焦悦,韩宇,杨桥,等.全球转基因玉米商业化发展态势概述及启示[J].生物技术通报,2021,37(4):164-76.
- [8] 转基因权威关注.审批信息[EB/OL].(2017-08-02)[2020-02-14]. <http://www.moa.gov.cn/ztlz/zjyqwgz/spxx/>.
- [9] 中华人民共和国农业农村部.2020年农业转基因生物安全证书批准清单[EB/OL].(2020-07-15)[2020-07-15].[http://www.moa.gov.cn/ztlz/zjyqwgz/spxx/202006/t20200623\\_6347100.htm](http://www.moa.gov.cn/ztlz/zjyqwgz/spxx/202006/t20200623_6347100.htm).
- [10] 李梦杰,贺晓云,全涛.阿根廷转基因作物安全管理制度概况及进展[J].生物技术进展,2021,11(6):676-687.
- [11] 中国农业信息网.历年玉米进出口总值变动情况[DB/OL].(2016-06-02)[2022-01-19]. [http://www.agri.gov.cn/V20/cx/sjfw/tjsj/ym\\_1/](http://www.agri.gov.cn/V20/cx/sjfw/tjsj/ym_1/).
- [12] 丁云秀.全球转基因玉米商业化应用现状及产品线研发进展[J].农民致富之友,2016(6):99,25.
- [13] 黎裕,王天宇.玉米转基因技术研发与应用现状及展望[J].玉米科学,2018,26(2):1-15,22.
- [14] DU D G C, ZHANG X. Transgenic maize lines expressing a *cry1C\** gene are resistant to insect pests [J]. Plant Mol. Biol. Rep., 2014, 32: 549-557.
- [15] QUAN R D, SHANG M, ZHANG H, *et al.*. Engineering of enhanced glycine betaine synthesis improves drought tolerance in maize [J]. Plant Biotechnol. J., 2004, 2(6): 477-486.
- [16] LI B, WEI A Y, SONG C X, *et al.*. Heterologous expression of the *TsVP* gene improves the drought resistance of maize [J]. Plant Biotechnol. J., 2008, 6(2): 146-159.
- [17] YANG L Y, LIU X L, GUO X Y, *et al.*. Comparison between transgenic maize with exotic betaine aldehyde dehydrogenase (*BADH*) gene and its untransformed counterpart [J]. Maydica, 2016, 61(2): 1-5.
- [18] 刘成,杨炳鹏,孙宝成,等.转LOS5玉米的大田抗旱性鉴定[J].中国农业科学,2016,49(23):4469-4479.
- [19] 刘岩,王国英,刘俊君,等.大肠杆菌 *gutD* 基因转入玉米及耐盐转基因植株的获得[J].中国科学C辑(生命科学),1998(6):542-547.
- [20] 杨爱芳,张可炜,尹小燕,等.转基因耐盐玉米自交系的农艺性状及杂种优势表现的分析[J].中国农业科学,2007(12):2895-2902.
- [21] 张举仁,李朝霞,解光宁.一种玉米 *mZmDEP* 基因和其表达抑制结构在玉米抗逆育种中的应用[P].中国:CN105349551 B, 2019-07-02.
- [22] 白云凤,赵晋锋,郑军,等.反义外壳蛋白基因介导的抗SCMV转基因玉米研究[J].作物学报,2006(5):661-665.
- [23] BAI Y, YANG H, QU L, *et al.*. Inverted-repeat transgenic maize

- plants resistant to sugarcane mosaic virus [J]. *Acta Agron. Sin.*, 2007, 33: 973-978.
- [24] MIKEL M A, DARCY C J, RHODES A M, *et al.*. Inheritance of resistance to maize-dwarf mosaic-virus [J]. *Phytopathology*, 1983, 73(5): 792-795.
- [25] CAO X L, LU Y G, DI D P, *et al.*. Enhanced virus resistance in transgenic maize expressing a dsrna-specific endoribonuclease gene from *E. coli* [J/OL]. *PLoS ONE*, 2013, 8(4): e60829 [2022-04-14]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060829>.
- [26] SHEPHERD D N, MANGWENDE T, MARTIN D P, *et al.*. Maize streak virus-resistant transgenic maize: a first for Africa [J]. *Plant Biotechnol. J.*, 2007, 5(6): 759-767.
- [27] ALLEN A, ISLAMOVIC E, KAUR J, *et al.*. Transgenic maize plants expressing the Totivirus antifungal protein, KP4, are highly resistant to corn smut [J]. *Plant Biotechnol. J.*, 2011, 9(8): 857-864.
- [28] SUCHER J, BONI R, YANG P, *et al.*. The durable wheat disease resistance gene *Lr34* confers common rust and northern corn leaf blight resistance in maize [J]. *Plant Biotechnol. J.*, 2017, 15(4): 489-496.
- [29] THAKARE D, ZHANG J W, WING R A, *et al.*. Aflatoxin-free transgenic maize using host-induced gene silencing [J/OL]. *Sci. Adv.*, 2017, 3(3): e1602382[2022-04-14]. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1602382>.
- [30] LIU C, LI S X, YUE J, *et al.*. Microtubule-associated protein SBgLR facilitates storage protein deposition and its expression leads to lysine content increase in transgenic maize endosperm [J]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2015, 16(12): 29772-29786.
- [31] HUANG S, FRIZZI A, FLORIDA C A, *et al.*. High lysine and high tryptophan transgenic maize resulting from the reduction of both 19- and 22-kD alpha-zeins [J]. *Plant Mol. Biol.*, 2006, 61(3): 525-535.
- [32] PLANTA J, XIANG X L, LEUSTEK T, *et al.*. Engineering sulfur storage in maize seed proteins without apparent yield loss [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2017, 114(43): 11386-11391.
- [33] RASCON-CRUZ Q, SINAGAWA-GARCIA S, OSUNA-CASTRO J A, *et al.*. Accumulation, assembly, and digestibility of amarantin expressed in transgenic tropical maize [J]. *Theor. Appl. Genet.*, 2004, 108(2): 335-342.
- [34] OAKES J, BRACKENRIDGE D, COLLETTI R, *et al.*. Expression of fungal diacylglycerol acyltransferase2 genes to increase kernel oil in maize [J]. *Plant Physiol.*, 2011, 155(3): 1146-1157.
- [35] SHEN B, ALLEN W B, ZHENG P Z, *et al.*. Expression of *ZmLEC1* and *ZmWRI1* increases seed oil production in maize [J]. *Plant Physiol.*, 2010, 153(3): 980-987.
- [36] FARRE G, PEREZ-FONS L, DECOURCELLE M, *et al.*. Metabolic engineering of astaxanthin biosynthesis in maize endosperm and characterization of a prototype high oil hybrid [J]. *Transgenic Res.*, 2016, 25(4): 477-489.
- [37] NAQVI S, ZHU C F, FARRE G, *et al.*. Transgenic multivitamin corn through biofortification of endosperm with three vitamins representing three distinct metabolic pathways [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009, 106(19): 7762-7767.
- [38] ZHANG L, LUO Y Z, ZHU Y X, *et al.*. *GmTMT2a* from soybean elevates the alpha-tocopherol content in corn and *Arabidopsis* [J]. *Transgenic. Res.*, 2013, 22(5): 1021-1028.
- [39] BI Y J, SUN Z C, ZHANG J, *et al.*. Manipulating the expression of a cell wall invertase gene increases grain yield in maize [J]. *Plant Growth Regul.*, 2018, 84(1): 37-43.
- [40] WANG Z Y, CHEN X P, WANG J H, *et al.*. Increasing maize seed weight by enhancing the cytoplasmic ADP-glucose pyrophosphorylase activity in transgenic maize plants [J]. *Plant Cell Tissue Organ. Cult.*, 2007, 88(1): 83-92.
- [41] NAHAMPUN H N, LEE C J, JANE J L, *et al.*. Ectopic expression of bacterial amylopullulanase enhances bioethanol production from maize grain [J]. *Plant Cell Rep.*, 2013, 32(9): 1393-405.
- [42] 孙越,刘秀霞,李丽莉,等. 兼抗虫、除草剂、干旱转基因玉米的获得和鉴定[J]. *中国农业科学*, 2015, 48(2): 215-228.
- [43] 余桂容,曹颖,杜文平,等. 抗虫耐草甘膦双价基因表达载体的构建及玉米转化[J]. *西南农业学报*, 2015, 28(2): 475-479.
- [44] 王国义,贺晓云,许文涛,等. 转基因植物食用安全性评估与监管研究进展[J]. *食品科学*, 2019, 40(11): 343-350.
- [45] 王瑶,卢佳希,胡贻椿,等. 转 *CryIAb-ma* 基因玉米对大鼠的亚慢性毒性研究[J]. *中国食物与营养*, 2022, 28(1): 10-16.
- [46] ZHU Y, HE X, LUO Y, *et al.*. A 90-day feeding study of glyphosate-tolerant maize with the *G2-aroA* gene in Sprague-Dawley rats [J]. *Food Chem. Toxicol.*, 2013, 51: 280-287.
- [47] 张宇,令狐丽琴,胡贻椿,等. 转 *AO* 基因高植酸酶玉米营养学评价分析[J]. *中国食物与营养*, 2017, 23(5): 50-54.
- [48] 韩军花,杨月欣. 转基因食品中的天然毒素与抗营养素[J]. *中国食品学报*, 2005(1): 82-88.
- [49] 蔡磊明. 转基因抗虫玉米 Bt-176 食用安全性研究[J]. *现代农药*, 2003, 2(1): 27-30.
- [50] 朱亚熙. 转 *G2-aroA* 基因耐草甘膦玉米和非转基因玉米营养成分的比较分析[J]. *中国食物与营养*, 2012, 18(9): 65-69.
- [51] 吴凯晋. 转基因抗矮花叶玉米对大鼠部分亚慢性毒性指标的影响[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(12): 6224-6226.
- [52] 金红,王永,程奕. 深加工转基因产品检测技术的研究进展[J]. *天津农业科学*, 2003, 9(4): 32-35.
- [53] 王卫国,过世东. GM 饲料 DNA 在加工和畜禽消化道中的降解——转基因饲料安全性评价[J]. *粮食与饲料工业*, 2004(10): 38-40.
- [54] MURRAY S R, BUTLER R C, TIMMERMAN-VAUGHAN G M. Quantitative real-time PCR assays to detect DNA degradation in soy-based food products [J]. *J. Sci. Food Agric.*, 2009, 89(7): 1137-1144.
- [55] FERNANDES T J R, OLIVEIRA M B P P, MAFRA I. Tracing transgenic maize as affected by breadmaking process and raw material for the production of a traditional maize bread, broa [J]. *Food Chem.*, 2013, 138(1): 687-692.
- [56] 覃文,曹际娟,朱水芳. 加工产品中转基因玉米 Bt11 成分实时荧光 PCR 定量(性)检测[J]. *生物技术通报*, 2003(6): 46-50.

- [57] 李欣竹. Cry1Ie 蛋白的模拟胃肠液消化稳定性及热稳定性分析[J]. 生物技术通报, 2015, 31(11): 214-221.
- [58] 陈德龙, 张蔚眉, 邹世颖, 等. 转基因耐草甘膦除草剂玉米 CC-2 喂养 SD 大鼠 90 天亚慢性毒性研究[J]. 农业生物技术学报, 2013, 21(12): 1448-1457.
- [59] 贺晓云. 抗玉米根虫的转基因 DAS-59122-7 玉米和非转基因玉米 SD 大鼠 90 天喂养实验的结果比较[J]. 农业生物技术学报, 2013, 21(12): 1533.
- [60] APPENZELLER L M, MALLEY L 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 Chem. Toxicol.*, 2009, 47(7): 1512-1520.
- [61] 郭梦凡. 转 *Cry1Ab* 和 *epsps* 基因玉米的大鼠三代生殖毒性和子代神经发育毒性评价[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2018.
- [62] Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. Evaluation of allergenicity of genetically modified foods[R]. Report of a joint FAO/WHO expert consultation of allergenicity of foods derived from biotechnology. Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2001.
- [63] 卢云. 转基因植物中潮霉素 B 磷酸转移酶的原核表达以及致敏性评估[J]. 农业生物技术学报, 2013, 21(12): 1529.
- [64] 赵浩含, 王建华, 刘允军. CP4-EPSPS 蛋白的模拟胃肠液消化稳定性分析[J]. 生物技术, 2017, 27(2): 180-185, 204.
- [65] 王玉. AM79EPSPS 蛋白的体外模拟胃肠液消化稳定性研究[J]. 生物技术通报, 2017, 33(6): 176-181.