

转 P_{SAG12}-IPT 基因小麦饲喂小白鼠的安全性

龚文彬¹, 刘曙东¹, 奚亚军¹, 胡建宏²

(¹西北农林科技大学农学院, 陕西 杨陵 712100; ²西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨陵 712100)

摘要: 为了研究转基因小麦是否会对人类健康存在潜在的不良影响, 分别用转 P_{SAG12}-IPT 基因西农 1376 小麦与普通西农 1376 小麦饲喂小白鼠, 对两组小白鼠的亲代和子代的血常规, 血液生化指标进行了检测, 并分别解剖取其肝脏、肾脏、大肠、肺脏、大脑、睾丸等组织作切片观察。结果表明: 饲喂转基因小麦的处理组和对照组小白鼠的各项指标相比较均无显著性差异, 说明转 P_{SAG12}-IPT 基因小麦对小白鼠的健康无明显的不良影响, 初步推断食用转 P_{SAG12}-IPT 基因小麦对人类也可能是安全的。

关键词: P_{SAG12}-IPT 基因; 转基因小麦; 小白鼠; 安全性

中图分类号: S512.103.53 文献标识码: A

Study on the Safety about Small White Rats Feeding Transgenic Wheat with P_{SAG12}-IPT Gene

Gong Wenbin¹, Liu Shudong¹, Xi Yajun¹, Hu Jianhong²

(¹College of Agronomy, Northwest A & F University, Yangling Shaanxi 712100;

²College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling Shaanxi 712100)

Abstract: In order to discuss the transgenic wheat whether the bad influences to humans health had, the small white rats feeding transgenic wheat xi'ong1376 with P_{SAG12}-IPT gene and common wheat xi'ong1376 were studied separately. The haematology and biochemistry indexes, organic histological maps of liver, kidney, intestines, lung, cerebra and testicle of parents and baby generation rats of the two groups were analyzed. The results showed that every index of the two groups did not have significant difference. It indicted that transgenic wheat xi'ong1376 with P_{SAG12}-IPT gene did not have obviously bad influences to small white rats health and might be safety to human health.

Key words: P_{SAG12}-IPT gene, transgenic wheat, small white rat, safety

随着转基因植物的种类和产量的日益增加, 转基因植物的安全性越来越受到人们的关注^[1]。转基因植物的潜在风险性主要分为生态风险和食用风险两方面, 其中食用风险由于与人类健康密切相关而成为了研究的焦点。目前, 人们在食用风险性方面的担忧主要集中在抗性标记基因如潮霉素磷酸转移酶基因(hpt)、新霉素磷酸转移酶基因(npt-II)、氯霉素乙酰转移酶基因(cat)等抗生素基因是否会流入人体内危害人类健康的微生物中为其提供抗药性; 含有如 35S 启动子

的转基因植物被人类食用后, 35S 启动子是否会通过基因的水平插入到某一致癌基因中, 活化并且导致癌症的发生, 然而对于这些目前都尚无定论也无较为系统的研究方法^[2-4]。目前国际上对转基因食品的要求都基本认同联合国经济发展合作组织制定的实质等同性原则, 即转基因食品必须和传统食品含有相同的营养成分, 并且不会对人类产生毒副作用^[5,6]。在转基因植物食用风险性研究方法方面, 也是采用边发展边探索的策略。

基金项目: 科技部国家转基因专项“抗叶片早衰转基因小麦选育”(jy03-b-23-02), 西北农林科技大学青年学术骨干支持计划(01140306)。

第一作者简介: 龚文彬, 男, 1982 年出生, 天津人, 硕士研究生, 主要从事转基因作物安全性研究。通信地址: 712100 陕西杨陵西北农林科技大学农学院。E-mail: gongwenbin2222@yahoo.com.cn。

通讯作者: 奚亚军, 男, 1968 年出生, 陕西白水人, 副教授, 博士, 主要从事小麦基因工程研究。通信地址: 712100 陕西杨凌示范区西北农林科技大学农学院。E-mail: xiyajun11@126.com。

收稿日期: 2008-03-03, 修回日期: 2008-03-17。

小麦是4大粮食作物之一,已经成为了基因转化的重要目标。目前,人们已获得了具有抗旱、抗病、改良品质和延缓叶片衰老等性状的转基因小麦^[7]。其中,延缓叶片衰老基因 P_{SAG12}-IPT 在其质粒 pCMLA35-1 的构建中含有潮霉素磷酸转移酶基因(hpt)、新霉素磷酸转移酶基因(npt-II)、β-葡萄糖苷酸酶(GUS)标记基因和35S启动子,理论上其食用风险性是可能存在的^[3]。基于此方面考虑,本文以导入了延缓叶片衰老基因 P_{SAG12}-IPT 的西农1376小麦为研究对象,通过饲喂小白鼠,对转 P_{SAG12}-IPT 基因小麦的食用安全性进行研究,以期对转基因小麦的应用提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 试验时间、地点

试验于2007年2月—2008年2月在西北农林科技大学国家小麦改良中心杨凌分中心进行。

1.2 试验材料

小麦材料为西农1376和导入了 P_{SAG12}-IPT 基因的T5代西农1376,由西北农林科技大学农学院小麦分子育种课题组提供。供试动物为小白鼠,体重16~24g,由第四军医大学动物中心提供。叶片衰老延缓基因 P_{SAG12}-IPT 由华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室提供,在其质粒 pCMLA35-1 的构建中含有潮霉素磷酸转移酶基因(hpt)、新霉素磷酸转移酶基因(npt-II)和β-葡萄糖苷酸酶(GUS)标记基因和35S启动子^[8]。

1.3 试验方法

将小白鼠分成2组,处理组(T组)和对照组(C组),每组10只,于铁桶中饲养,每桶2只,雌雄各1只。处理(T组)饲料为加工成粉状的转 P_{SAG12}-IPT 基因西农1376小麦与乳猪饲料按质量比3:1配成混合饲料;对照(C组)饲料为加工成粉状的普通西农1376小麦与乳猪饲料按质量比3:1配成混合饲料。小白鼠自由采食和饮水。待小白鼠产仔后,将其子代与亲代分开

饲养,饲喂方法与其亲代小白鼠相同。

在亲代小白鼠饲养120d和子代小白鼠饲养30d后,随机取处理(T组)和对照(C组)亲代、子代小白鼠各3只,取眼血并分离血清,分析血常规(采用血细胞分析仪 ca500)包括红细胞(RBC)、白细胞(WBC)、血小板(P),血红蛋白(HGB);分析血清生化指标(生化分析仪 xd811)包括总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(Globin)、尿素氮(BUN),丙氨酸氨基转移酶(ALT)等,检测分析均在西北农林科技大学兽医院进行。

同时,在亲代小白鼠饲养120d和子代小白鼠饲养30d后,取处理(T组)和对照(C组)亲代、子代小白鼠各3只解剖,取肝脏、肾脏、大肠、肺脏、大脑、睾丸等组织作切片观察。

2 结果与分析

2.1 转 P_{SAG12}-IPT 基因小麦对小白鼠血常规及血液生化指标的影响

血常规检查中的白细胞指标反映动物的防御系统功能,球蛋白指标是哺乳动物有无过敏反应的重要判定标准,而总蛋白、尿素氮是反映肾功能是否正常的重要指标,丙氨酸氨基转移酶、白蛋白等指标则能体现出肝功能是否正常。当血常规、血液生化化验检查的指标偏离正常值范围(指标或高、或低)时,说明受检对象的身体存在某一方面的病变。而肝脏、肾脏是哺乳动物最重要的2个解毒器官,若长期食用有毒害的物质,则肝脏和肾脏都会受到不同程度的影响。经方差分析,饲喂转基因小麦的处理T组亲代、子代小白鼠的红细胞、白细胞、血小板、血红蛋白、总蛋白、白蛋白、球蛋白、尿素氮、丙氨酸氨基转移酶等的检测值与对照C组亲代、子代小白鼠相比均未达到差异显著水平(表1),说明小白鼠食用转 P_{SAG12}-IPT 基因西农1376小麦与普通西农1376小麦的效应基本相同,没有明显的中毒、炎症或过敏等不良反应和病变发生。

表1 小白鼠血常规及血液生化指标比较

血液指标	处理	重复						平均值
		1	2	3	4	5	6	
红细胞 1012/L	C	8.63	8.11	6.09	6.64	8.23	7.04	7.46
	T	6.13	8.03	8.36	6.39	7.28	6.89	7.18
白细胞 109/L	C	5.50	6.70	1.90	3.60	2.60	3.30	3.93
	T	6.50	2.00	6.00	1.20	3.90	2.80	3.73
血小板 109/L	C	558	630	490	435	609	510	538.67
	T	710	844	776	444	534	478	631.00
血红蛋白 g/L	C	179	162	123	129	163	152	151.33
	T	116	144	182	116	145	150	142.17

(续表 1)

血液指标	处理	重复						平均值
		1	2	3	4	5	6	
总蛋白 g/L	C	84	62	61	57	56	63	63.83
	T	92	54	73	53	62	62	66.00
白蛋白 g/L	C	52	40	39	39	38	41	41.50
	T	52	37	46	40	44	44	43.83
球蛋白 g/L	C	32	22	22	18	18	22	22.33
	T	40	17	27	13	18	18	22.17
尿素氮 mmol/L	C	11.07	8.71	6.13	7.02	6.97	6.56	7.74
	T	6.07	7.82	16.45	8.45	7.03	7.91	8.96
丙氨酸氨基转移酶 μ /L	C	70	47	35	61	72	54	45.67
	T	69	30	100	45	38	51	55.50

注:重复 1,2,3 为亲代小白鼠;重复 4,5,6 为子代小白鼠。

2.2 转 P_{SAG12} -IPT 基因小麦对小白鼠各器官组织的影响

观察比较图 1、图 2 可知,饲喂转基因小麦的处理 T 组亲代小白鼠的肝脏、肾脏、大肠、肺脏、大脑以及睾丸的组织学图谱均表现正常并且与对照 C 组亲代小

白鼠比较无明显差异,说明饲喂转 P_{SAG12} -IPT 基因西农 1376 小麦对当代小白鼠的肝脏、肾脏、大肠、肺脏、大脑、睾丸的组织学构造均未有任何明显的不良影响。同时,从图 3、图 4 可以看出,处理 T 组子代小白鼠的肝

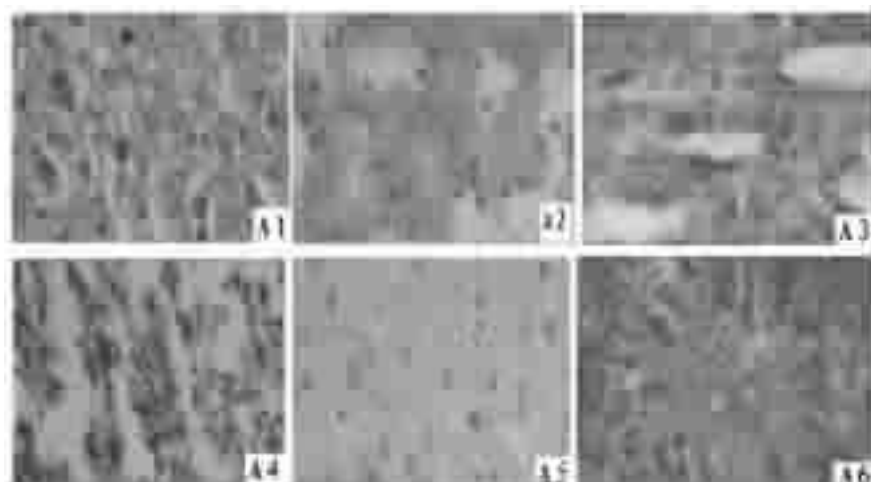


图 1 处理组亲代小白鼠各器官组织学图谱

A1. 肝脏切片;A2. 肾脏切片;A3. 大肠切片;A4. 肺脏切片;A5. 大脑切片;A6. 睾丸切片

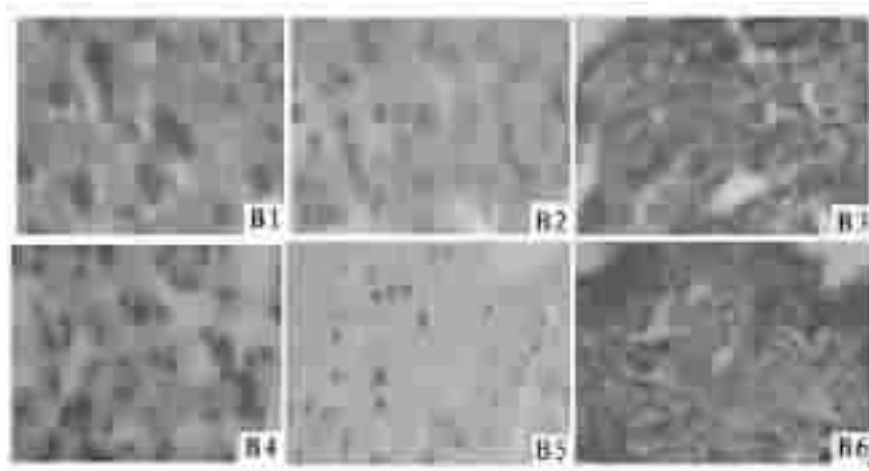


图 2 对照组亲代小白鼠各器官组织学图谱

B1. 肝脏切片;B2. 肾脏切片;B3. 大肠切片;B4. 肺脏切片;B5. 大脑切片;B6. 睾丸切片

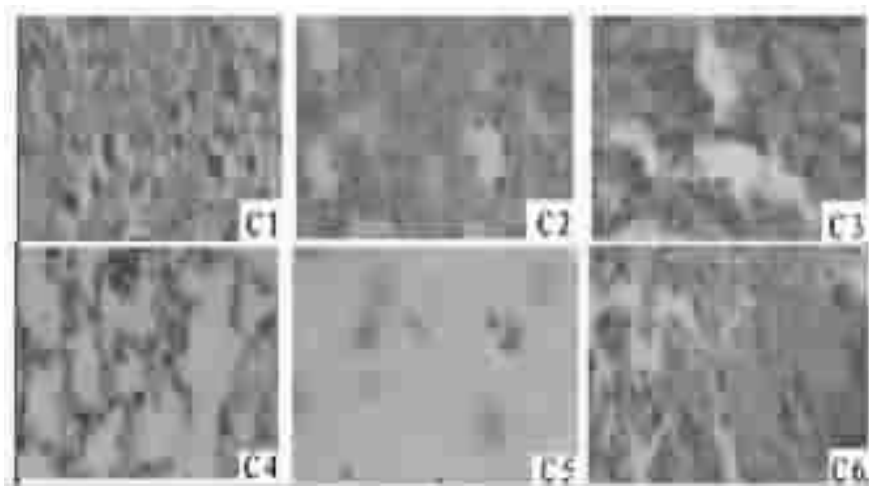


图3 处理组子代小白鼠各器官组织学图谱

C1. 肝脏切片; C2. 肾脏切片; C3. 大肠切片; C4. 肺脏切片; C5. 大脑切片; C6. 睾丸切片

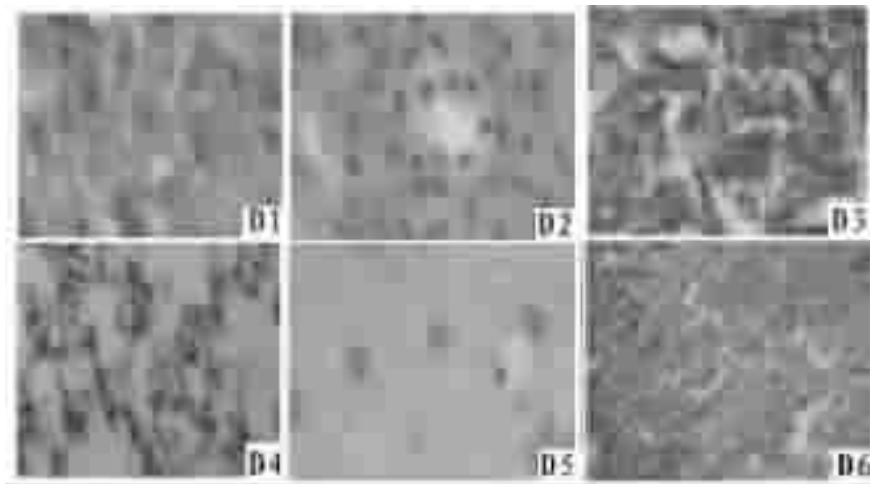


图4 对照组子代小白鼠各器官组织学图谱

D1. 肝脏切片; D2. 肾脏切片; D3. 大肠切片; D4. 肺脏切片; D5. 大脑切片; D6. 睾丸切片

脏、肾脏、大肠、肺脏、大脑以及睾丸的组织学图谱也均表现正常并且与对照C组子代小白鼠比较无显著差异,说明饲喂转 P_{SAG12} -IPT基因西农1376小麦对子代小白鼠的肝脏、肾脏、大肠、肺脏、大脑、睾丸的组织学构造也未有任何明显的不良影响。由此说明,饲喂转 P_{SAG12} -IPT基因西农1376小麦对小白鼠的各个器官组织均无明显的不良影响。

3 讨论

关于转基因植物食用安全性的争论由来已久,也有个别关于转基因植物致敏、对动物具毒副作用的报道,但都缺乏确凿的理论依据,无法给出令人信服的证据^[9-11]。目前,对转基因植物各国普遍采取边发展边检测的策略^[12,13]。

由于对转基因植物还没有比较公认的检测方法,本试验采用了目前在食品安全检测中使用较多的化验血常规、血液生化指标等。当血常规检查中的这些化验指标发生异常时,对于肝脏、肾脏是否发生病变、是否

有炎症、感染与过敏反应发生的判定非常重要。在本试验中,饲喂转基因小麦的处理组和对照组的血常规、血液生化指标的各个化验结果均表现正常。另外,本试验还对目前少有关关注的小白鼠呼吸系统,消化系统以及脑和生殖系统进行了切片观察,其结果与奚亚军早期对饲喂转基因小麦小白鼠的肝脏、肾脏的研究结果相同^[14]。由于转 P_{SAG12} -IPT基因西农1376小麦所含的目的基因和标记基本不会影响作物的营养结构,本试验未对目前采用较多的一些针对营养结构的检测指标如:骨密度、蛋白质含量等进行检测,试验的重点主要针对毒性、致敏性进行^[15]。

以膳食来设计试验受诸多不确定因素的影响,试验会产生误差。本试验只对小白鼠是否中毒、是否有过敏反应进行检测分析,但如果小白鼠有轻微的不良反应是无法在试验检测指标中体现的。另外,本试验对转基因植物食用安全性的研究也采用了通常的动物替代试验,故对转 P_{SAG12} -IPT基因小麦食用安全性的检测仍

须进行,对转基因植物安全性检测的方法也有待完善。

4 结论

4.1 食用转 P_{SAG12}-IPT 基因西农 1376 小麦与食用普通西农 1376 小麦小白鼠的亲代、子代的血常规、血液生化指标均表现正常,基本可以说明转 P_{SAG12}-IPT 基因小麦对小白鼠的肝脏和肾脏没有不良影响,小白鼠也无中毒、炎症和过敏反应发生。

4.2 食用转 P_{SAG12}-IPT 基因西农 1376 小麦与食用普通西农 1376 小麦小白鼠的亲代、子代的肝脏、肾脏、肠道、肺脏、大脑、睾丸等的组织学解剖切片均表现正常,二者无显著差异,说明转 P_{SAG12}-IPT 基因小麦对小白鼠的消化、呼吸、脑和生殖器官等均无明显的不良影响。

4.3 由于人类和小白鼠的消化等系统基本相似,可以初步推断食用转 P_{SAG12}-IPT 基因小麦对人类也可能是安全的。

参考文献

- [1] Falk MC, Chassy EM, Harlander SK, et al. Food biotechnology: benefits and concerns [J]. *Journal Nutrition*, 2002, 132: 1384-1390.
- [2] 陈向荣, 吉前华, 孔祥文. 基因工程植物的安全性问题 [J]. *生态科学*, 2003, 22(1): 82-85.
- [3] Fang F M. The benefit and harm of transgenic foods [J]. *Health Counselor*, 2000, 8: 4-5.
- [4] Oerke EC, Dehne HW, Schonbeck F, et al. Crop production and crop protection: estimated losses in major food and cash crops [M]. Elsevier Amsterdam, 1994.
- [5] LUO Y B. The safety of genetically modified food [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2000, 21(5): 5-7.
- [6] Cartagena. Protocol on biosafety to the convention biological diversity [J]. Montreal, 2000: 29.
- [7] 奚亚军, 路明. 小麦转基因技术的研究现状及在育种上的应用 [J]. *中国农学通报*, 2002, 18(3): 55-57.
- [8] 奚亚军, 林拥军, 张启发, 等. 利用花粉管通道法将叶片衰老抑制基因 PSAG12-IPT 导入普通小麦的研究 [J]. *作物学报*, 2004, 30(6): 608-612.
- [9] 李传印. 转基因食品的利与弊 [J]. *生物学通报*, 2001(9): 10-11.
- [10] Serageldin. From green revolution. In: *Economic perspective-biotechnology. Food Security and Safety*, 1999: 17.
- [11] Zhao CH F. Transgenic foods and health [J]. *Journal of Shandong Medical University*, 2000, 4: 1-4.
- [12] 高崇明, 张爱琴. 生物伦理学 [M]. 北京: 北京大学出版社, 1999: 4.
- [13] 陈松彪, 李旭刚, 王锋, 等. 无选择标记转基因植物的培育 [J]. *中国生物科学杂志*, 2005, 25(2): 1-7.
- [14] 奚亚军, 马晓妮, 刘曙东, 等. 转 PSAG12-IPT 基因小麦安全性的初步研究 [J]. *西北农林科技大学学报*, 2004, 32(12): 18-22.
- [15] 陈小敏, 卓勤, 顾履珍, 等. 转基因大米营养评价试验 [J]. *营养学报*, 2004, 26(2): 119-123.