

遗传利用限制技术(GURT)的发展及应用前景

刘蓉蓉, 文学

(中国农业科学院科技管理局, 北京 100081)

摘要:介绍了两种类型遗传利用限制技术(GURT)的内容,分析了将其应用于转基因作物时可能产生的作用和影响,特别是在防止转基因逃逸方面潜在的应用价值。结合当前国际社会各方不同观点,综述了围绕GURT应用引发的争论。

关键词:遗传利用限制技术;转基因作物;转基因逃逸;争论

中图分类号:Q789 **文献标识码:**A **文章编号:**1008-0864(2008)01-0058-05

Development and Prospect of Genetic Use Restriction Technologies (GURT)

LIU Rong-rong, WEN Xue

(Department of Science and Technology Management, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Contents of two types of genetic use restriction technology (GURT) are introduced in this paper. It also analyzes the functional mechanisms and potential impacts, especially their possibilities to prevent transgene escape. The current international debate over the risks and the benefits of their application in transgenic crops are discussed.

Key words: genetic use restriction technologies; transgenic crops; transgene escape; debate

遗传利用限制技术(genetic use restriction technologies, GURT)及应用GURT培育的转基因作物田间试验和商业化问题,是目前在分子生物学家、分子育种学家、种子公司、非政府组织和农民间引发激烈争论的一个热点。本文在全面介绍GURT内容的基础上,探讨了其对农业生产、转基因生物安全潜在的影响,并对国际社会争论各方的观点进行了总结。

1 GURT的内容及应用前景

在2002年联合国粮农组织(FAO)的一份报告中,GURT被定义为“为了限制对遗传材料未经授权的利用而采用的基于生物技术的开关机制”^[1]。从应用角度来看,除了限制对遗传材料未经授权的利用外,GURT还具有防止转基因作物外源基因发生逃逸的作用^[2]。GURT究竟是利是弊、是否应当被允许在育种中加以利用,这是

近年来一直引起国际争议的话题。我们有必要客观、全面地认识GURT,在此基础上才可能正确评估这一技术潜在的风险或应用价值。GURT又被分为T-GURT(trait-GURT,性状-GURT)和V-GURT(varietal-GURT,品种-GURT)两种类型,以下对它们的内容和应用前景分别进行介绍。

1.1 T-GURT

1.1.1 概念 根据2002年FAO提出的定义,T-GURT指“限制使用某种特定性状,需要外部应用诱导剂才能启动该性状表达的技术”^[1]。随着相关研究工作的深入,T-GURT的内容扩展到其他多种控制目的基因表达的新方法。

1.1.2 应用外源诱导物的T-GURT 要控制特定性状特征的表达,根本元素是被用作“分子开关”的诱导型和特异性启动子。利用受外界信号如化学诱导剂诱导表达的启动子构建转基因作物,在缺乏外源化学诱导物时目的基因不表达,在特定时候通过外源施加诱导物来诱导目的性状表

收稿日期:2007-09-26;修回日期:2007-11-07

作者简介:刘蓉蓉,助理研究员,博士,植物生物技术专业。E-mail: liurr@caas.net.cn。通讯作者:文学,研究员,从事科技管理工作。Tel: 010-68919394

达。种子公司可将种子和化学诱导剂一并销售,因此批评者指责 T-GURT 将成为种子公司通过专利保护的化学诱导剂实现垄断的手段。批评者的指责是有道理的,但另一方面,控制转基因作物外源性状在特定时间表达的策略具有应用价值,例如在发生干旱天气时诱导表达耐寒基因、在施用除草剂时诱导表达抗除草剂基因、在害虫爆发关键时期表达抗虫基因等,这就避免了植物终生表达在某些生长阶段并无意义的外源基因,使资源得到节约,可能有利于植物生长。

人们目前研究较多的化学诱导启动子有乙醇诱导、类固醇诱导、四环素诱导、金属诱导等多种。其中 Syngenta 公司开发的乙醇诱导系统最接近商业化^[2],这一系统利用了来自构巢曲霉 *Aspergillus nidulans* 的受乙醇诱导的 *palcA* 启动子。最常见的化学诱导系统是人工构建的类固醇诱导启动子,它将哺乳动物糖皮质激素受体 (glucocorticoid receptor, GR) 的激素结合区与酵母 GAL4 转录因子的 DNA 结合区、疱疹病毒蛋白 VP16 的激活区相融合,构成一个复合式启动子,当不诱导时,细胞质中的热击蛋白 HSP90 与 GR 结合抑制启动子活性,当外源施加激素时,GR 与激素分子结合释放出热击蛋白,启动子将驱动下游基因表达^[3]。化学诱导系统在实际应用中面临的障碍是难以保证诱导物到达每一棵植株所有需要诱导的部位(无论喷施或土壤渗透),并且在需要严格调控基因表达时难以保证诱导系统在每个细胞内都能正常工作而不发生沉默^[2]。

1.1.3 T-GURT 内容的拓展 除了化学诱导物外,许多启动子响应于温度、光照、水、盐和机械损伤等生理条件或植物特定发育阶段,可以利用它们的特性调控(限制)外源基因表达。尽管此类启动子目前尚与实际应用距离较远,但已诞生了一系列相关专利^[4]。从广义范围来说,使用器官特异性启动子控制外源基因表达也可看作是 T-GURT,这不仅是更为优化的转基因策略,而且将外源基因产物“限制”在特定器官,在客观上也降低了转基因产物的环境暴露。稍复杂一些的 T-GURT 则利用特异性 DNA 内切酶在需要的时候切除掉外源基因。例如通过化学诱导或器官特异性启动子驱动 DNA 内切酶,当植物开花后诱导表达以切除掉外源基因,避免外源基因通过花粉发生逃逸或在种子中保留。与上述类似,这种策略

的缺点是如果不能保证所有细胞都发生 DNA 切除反应的话,外源基因仍存在逃逸的风险。

1.2 V-GURT

1.2.1 概念 V-GURT 被定义为使转基因“后代不育的品种利用限制技术”^[1],通过损害后代繁殖能力达到限制品种利用的目的。比较来看,T-GURT 仅限制特定性状的表达而不影响植物育性,这是此二者间最根本的区别。最为人们熟悉的 V-GURT 是被称为“终止子(terminator)”的分子生物学技术,其原理已有大量文献详细介绍^[5]。这是美国一家生物农业公司“Delta & Pine Land Company (D&PL)”与美国农业部共同拥有的一项专利技术,应用此项技术培育的转基因作物虽能正常结籽但种子不能发芽,致使种植者无法自行留种,从而限制了对作物品种“未经授权的利用”。

然而,认为 V-GURT 就是“终止子”的观点是不全面的。从广义范围来说,除造成后代种子不育外,V-GURT 还包括其他一些限制植物繁殖的策略,如通过改变花期或花结构、花粉败育来阻止与其他植株杂交,或降低后代植株生活力、“条件致死”等^[5]。按照 Hills 等人的观点,V-GURT 可以根据作用于植物生长发育的不同阶段分为三类:①防止转基因作物种子与常规种子混淆;②使转基因植株不能正常生长发育;③防止转基因通过花粉传播发生逃逸^[5]。“终止子”技术仅仅归结于其中第二项内容。

1.2.2 防止转基因作物种子与常规种子混淆的 V-GURT 转基因植物的种子在收割时遗落或与常规种子混淆,有可能造成转基因逃逸,因此防止种子落粒或改变种子外观的技术即有可能作为 V-GURT 来加以利用。此类技术已得到相当程度的基础研究的支持,如在水稻中发现了一个与种子落粒性相关的 *qSH1* 基因,其上游调控区的一个单核苷酸变化即导致离层(abscission layer)缺失,种子不落粒^[6];在油菜中发现了两个与种子颜色相关的遗传位点,其变异可引起种子颜色显著变化^[7],如果转基因种子呈现不同的颜色,将很容易与常规种子区分开。一旦转基因种子散落在田里或混入种子库,还可以采取其他一系列限制种子发育和植株生长繁殖的 V-GURT 手段。

1.2.3 使转基因植株不能正常生长发育的 V-GURT 第一种是包括“终止子”在内的种子不

育技术。“终止子”技术自从 1998 年获得美国专利伊始就受到广泛批评和抵制,反对者认为其最大的弊端是剥夺了农民世代代享有的自行留种的权利,而由生物农业公司实现垄断;而“终止子”种子将不可避免地通过各种偶然途径混入常规种子,从而可能导致粮食减产,对贫穷地区粮食安全产生严重威胁。因此,“终止子”技术通常被认为是高风险和不道德的,它的商业化遭遇了外界的强大阻力(www.etcgroup.org, www.banterminator.org)。

除“终止子”外,人们还设计出其他多种类型的导致种子败育的分子策略^[8]。第二种被称为“条件致死(conditional lethality)”技术。条件致死基因又被称作“自杀基因”,它的产物可将某种无毒的内源物质或外源施加物转化为毒素,导致植株死亡^[5]。将外源基因与条件致死基因紧密连锁,可用于选择性的除去散落种子发芽后长出的转基因植株,降低杂草化和转基因逃逸风险。例如,来自土壤农杆菌(*Agrobacterium*)的吲哚乙酰胺酶(indole acetamide hydrolase, IAAH)就是一个条件致死因子,它能催化吲哚乙酰或萘乙酰生成生长激素吲哚乙酸和萘乙酸,但当生长激素过量时植物将无法生长。将这些条件致死因子、相应的抑制因子及诱导型启动子相组合,就可能设计出具有实际应用价值的 V-GURT 系统^[9]。

第三种被称为“转基因缓和/弱化(transgene mitigation, TM)”技术,是指选择一个对转基因植物来说有益或中性、但能降低野生植物生长力(如导致植株矮化、抗落粒、克服种子休眠等)的基因,将其与外源基因紧密连锁,这样即使转基因植物与环境中的野生植物杂交,后代也将因生长力下降而在自然竞争中被逐渐淘汰^[8]。例如来自拟南芥的 Δgai 基因可使植株矮化,将 Δgai 与除草剂抗性基因共同转化油菜,矮化的转基因油菜单独种植时正常生长且高产,但与野生型油菜共同种植在网室中时却表现出明显降低的竞争性,其植株叶片数减少、生物量下降、发育迟缓、种子数量下降,繁殖能力不到野生型油菜的 12%^[10]。研究者认为这一策略将极大地降低转基因植株杂草化和外源基因渗入自然界的风险。

1.2.4 防止转基因通过花粉传播而逃逸的 V-GURT 如果转基因植物不开花、开花时间发生改变或者花结构异常,就可能有效避免外源基因

通过杂交而逃逸。研究人员基于此开展了一些研究:当将桦树花发育早期特异性启动子 BpFULL1 驱动的 RNA 酶 BARNASE 表达系统分别引入桦树、拟南芥和烟草时,其转基因植物均不能开花^[11];Tadege 等人在油菜中分离到 5 个抑制开花的 *FLC* 基因,将它们转入拟南芥,正常应在 3 周内开花的植物最晚在 7 个月后才开花^[12]。这些策略未来将有望应用于转基因作物。尽管控制开花时间是阻止外源基因逃逸最直接与有效的一种策略,但在实际应用中还要考虑到开花性状亦受环境条件的影响。另外还有培育闭花受精或无融合生殖的转基因植物等方法^[5],不过这些方法的分子机理仍不清楚,距离实际应用尚远。

另外一种策略是雄性不育技术。通常的做法是利用绒毡层或其他花粉特异性启动子驱动 RNA 酶、细胞毒素或某个花粉育性关键基因的反义基因表达,从而导致花粉败育^[13]。雄性不育是阻止外源基因流入自然界的一种有效手段,但在实际应用中,雄性不育的转基因植物有可能成为非转基因植株或野生近缘物种花粉的受体,后代种子一旦流入自然界,即有发生转基因逃逸的风险。

严格母系遗传的植物花粉中不带有叶绿体,若将转基因插入叶绿体基因组,外源基因将不会通过花粉发生逃逸。叶绿体转化技术已在烟草、番茄、棉花、水稻等作物中成功实现,但更多植物目前还未能实现叶绿体转化。更应引起人们注意的是在一些物种如烟草中曾发现极少数花粉携带有叶绿体,而包括黑麦和珍珠粟等在内的一些谷物则更是叶绿体双亲遗传^[14]。群体遗传学研究表明,即使叶绿体进入花粉细胞的比例只有千分之一,杂交 10 代之后仍有相当的发生基因逃逸的可能性^[15]。此外,叶绿体基因还可能转移到细胞核中^[5]。

2 有关 GURT 的争论

如前所述,在围绕 GURT 应用引发的争议中,最为强烈的反对声无疑是针对“终止子”技术的。“终止子”的确具有不容忽视的潜在风险,国际社会对此认识也较为统一。但从上文介绍可以看出,GURT 还包括其他多种内容,因此不应将针对“终止子”的立场和政策任意扩大至所有

GURT)的应用。

究竟应对 GURT) 技术持何种态度,目前国际社会尚存在分歧。生物多样性国际公约(The convention on biological diversity, CBD) 缔约方大会对此展开过多次讨论并最终形成了决议,是主流观点的代表。CBD 对 GURT) 商业化持谨慎态度,在 2000 年缔约方大会第五届会议第 V/5 号决定第三节中建议,“在有适当的科学数据能为此类试验提供正当理由之前,缔约方不应批准对含有此类技术的产品进行实地试验,也不应批准投入商业利用,直到以透明的方式特别是对其生态和社会经济影响,及其对生物多样性、粮食安全和人体健康的任何不利影响进行适当的、经过授权和严格控制的科学评价,并验证其安全和有益利用的条件为止”^[16]。

此后,关于 GURT) 的讨论并未停止。2005 年 2 月召开的 CBD 科学、技术和工艺咨询附属机构第十次会议(SBSTTA-10)上,会议的“专家组报告倾向于保护农户利益,以审慎态度对待 GURT),建议各国建立法律和管理体制以控制 GURT) 的大田试验及商业化生产”,而一些缔约方政府却认为专家组报告“没有取得所有专家的一致认可,因此不应作为协商一致的报告提交,没有直接的证据证明 GURT) 有实际风险”;来自工业界的代表更是认为“GURT) 防止了基因漂移,保护了生物多样性”,而作为抵制 GURT) 行动领头羊的民间组织 ETC(The action group on erosion, technology and concentrations) 则“认为 GURT) 严重损害了农户利益,该项研究的时间已经够长,应该立即采取行动限制 GURT),保护农户”^[17]。GURT) 在不同群体间引发的争论由此可见一斑。

一些研究者认为到目前为止讨论主要集中在 GURT) 可能给农业生产带来的种种风险,而其潜在的应用价值被低估了。GURT) 的价值主要表现在三个方面^[18]:第一,“限制使用”的结果保护了新品种的知识产权,有利于提高投资者与研发者的积极性;第二,能够有效抑制转基因逃逸至土壤微生物、野生近缘种或近缘杂草间,避免产生“超级杂草”或其他潜在的生态风险,是提高转基因生物安全性的有效途径;第三,控制外源性状在某一特定生长阶段表达,以及避免种子在收获前和储藏中发芽导致的损失,这些都能够提高农业生产的收益。

一个国际性民间学术组织 PRRI (Public research and regulation initiative) 认为由于 GURT) 尚处于发展的起步阶段,加之这一概念包含的内容日渐丰富,因此,在对待 GURT) 及包含 GURT) 的转基因作物时,在已有 CBD 决议的前提下,应当采取在科学风险评估中经常采用的“个案分析(case by case)”原则,而不应对其“一棒子打死”,否则将可能减缓这一前沿生物技术的发展,并妨碍其潜在应用价值的发挥^[19]。但反对者坚决抵制“个案分析”原则,因为这意味着大田试验的放开。

3 展望

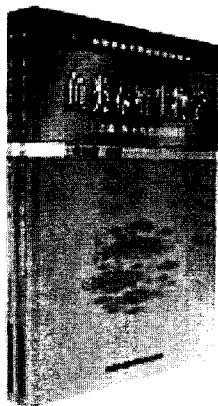
最近一届,即 2006 年 CBD 缔约方大会第八届会议形成的第 VIII/23 号决定重申了上述第 V/5 号决定第三节中的观点,并“鼓励缔约方、其他国家政府和有关组织及利益相关者”“继续在第 V/5 号决定第三节授权的范围内,开展有关遗传使用限制技术的影响的进一步研究,包括其生态、社会、经济和文化影响,特别是对土著和当地社区的影响”^[20]。由此可以预见,在目前人们关于 GURT) 对农业生产和生态环境的潜在影响仍缺乏全面、详细、深入了解的情况下,关于它的争论还将持续下去。CBD 缔约方第九届会议将于 2008 年召开,届时不同立场的各方必将就 GURT) 展开新一轮争论。对于会上可能出现的新动向,我们将拭目以待。

参 考 文 献

- [1] FAO. Potential impacts of genetic use restriction technologies (GURT) on agricultural biodiversity and agricultural production systems[R]. <http://www.fao.org/waicent/FaoInfo/Agricult/AGP/AGPS/pgr/itwg/pdf/P1W7E.pdf>, 2001.
- [2] Daniell H. Molecular strategies for gene containment in transgenic crops[J]. Nat. Biotech., 2002, 20: 581-586.
- [3] Moore I, Samalova M, Kurup S. Transactivated and chemically inducible gene expression in plants[J]. Plant J., 2006, 45: 651-683.
- [4] Patenleus. Promoters used to regulate gene expression—overview[EB/OL]. <http://www.patentlens.net/daisy/promoters/768.html>
- [5] Hills M J, Hall L, Arnison P G, et al. Genetic use restriction technologies (GURT): strategies to impede transgene movement[J]. Trends Plant Sci., 2007, 12: 177-183.
- [6] Konishi S, Izawa T, Lin S Y, et al. An SNP caused loss of seed shattering during rice domestication[J]. Science, 2006,

- 312; 1392-1396.
- [7] Mahmood T, Rahman M H, Stringam G R, *et al.*. Molecular markers for seed colour in *Brassica juncea*[J]. *Genome*, 2005, 48: 755-760.
- [8] Chapman M A, Burke J M. Letting the gene out of the bottle: the population genetics of genetically modified crops[J]. *New Phytol.*, 2006, 170: 429-443.
- [9] Schemthaner J P, Fabijanski S F, Arnison P G, *et al.*. Control of seed germination in transgenic plants based on the segregation of a two-component genetic system[J]. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 2003, 100: 6855-6859.
- [10] Al-Ahmad H, Dwyer J, Moloney M, *et al.*. Mitigation of establishment of *Brassica napus* transgenes in volunteers using a tandem construct containing a selectively unfit gene[J]. *Plant Biotech. J.*, 2006, 4: 7-21.
- [11] Lönnenpää M, Hassinen M, Ranki A, *et al.*. Prevention of flower development in birch and other plants using a BpFULL1::BARNASE construct[J]. *Plant Cell Rep.*, 2005, 24: 69-78.
- [12] Tadege M, Sheldon C C, Helliwell C A, *et al.*. Control of flowering time by *FLC* orthologues in *Brassica napus*[J]. *Plant J.*, 2001, 28: 545-553.
- [13] Luo H, Kausch A P, Hu Q, *et al.*. Controlling transgene escape in GM creeping Bentgrass[J]. *Mol. Breed.*, 2006, 16: 185-188.
- [14] Murphy D J. Improving containment strategies in biopharming[J]. *Plant Biotech. J.*, 2007, 5: 1-15.
- [15] Haygood R, Ives A R, Andow D A. Population genetics of transgene containment[J]. *Ecol. Lett.*, 2004, 7: 213-220.
- [16] CBD COP 5 decision V/5. Agricultural biological diversity; review of phase I of the programme of work and adoption of a multi-year work programme [R]. <http://www.cbd.int/decisions/cop-05.shtml?m=COP-05&id=7147&lg=0,2000>.
- [17] 国家环保总局. 生物多样性保护与履行《生物多样性公约》简报[EB/OL]. http://www.sepa.gov.cn/natu/swdyx/jianbao/200504/t20050420_66097.htm,2005.
- [18] Pocket K No. 21: Gene switching and GURTs: what, how and why [R]? http://www.isaaa.org/kc/inforesources/publications/pocketk/default.html#Pocket_K_No._21.htm,2006.
- [19] <http://www.pubresreg.org>
- [20] CBD COP 8 decision VIII/23. Agricultural biodiversity[R]. <http://www.cbd.int/decisions/cop-08.shtml?m=COP-08&id=11037&lg=0,2006>.

【新书推介】



《鱼类养殖生物学(上下篇)》

李林春 主编 中国农业科学技术出版社

出版日期: 2007.4

I S B N: 7-80233-264-8

定 价: 65.00 元

开 本: 16 开

页 数: 514 页

本书上编包括鱼类形态与机能、鱼类的生命周期和主要养殖鱼类生物学三部分。详细介绍了代表性鱼类的外部形态和内部结构特征、各系统和器官的解剖位置、形态与组织特征及其生理特征;重点介绍了主要养殖鱼类的胚前、胚胎和胚后3个发育阶段以及鱼的年龄、寿命与生长特征;本书还介绍了主要养殖鱼类的形态特征、

分类地位、地理分布、生物学特性及其经济意义。

本书下篇介绍了鱼类分类与鉴定的基本原理和方法以及各分类单元(主要是养殖鱼类)的主要特征、分布和经济意义。

本书适用于水产养殖专业,可供大专院校渔业环境保护、水产资源、生物学等专业的学生参考,同时也可作为水产养殖工作者的参考用书。