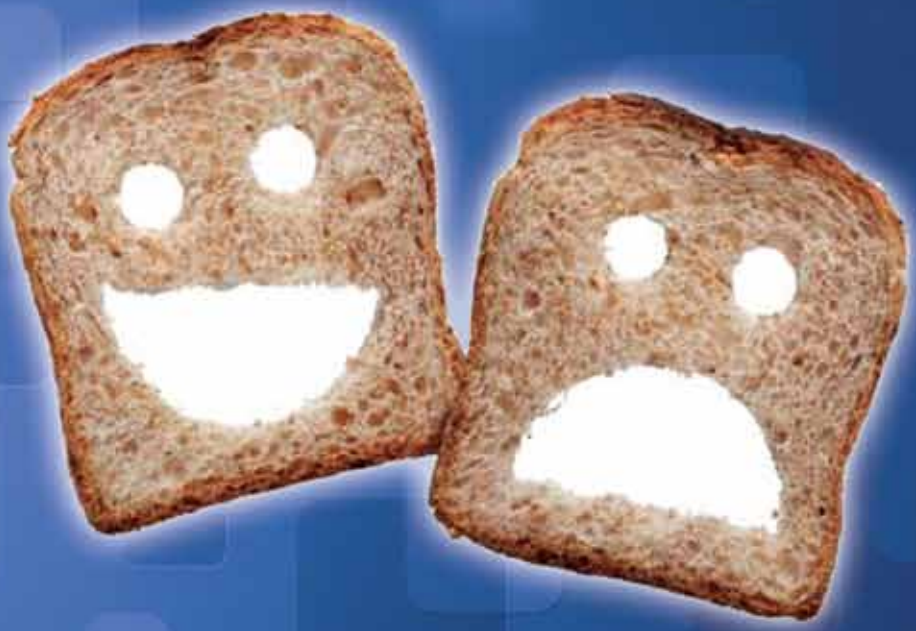
www.LifeOmics.com

生命奥秘

LifeOmics

2013年　7月刊　总第57期



转基因食品，你怎么看？

基因组黑客

关于传粉生物的全球性困境

无奇不有
生命世界

做读生命
走进科学

目录 CONTENTS

专 题

转基因食品，你怎么看?

前言 01

一、转基因食品概述 05

二、转基因食品的技术原理 12

1. 植物转基因技术 12
2. 动物转基因技术 14

三、转基因食品安全性评估及其理性对待 17

1. 有关转基因食品的博弈 17
2. 转基因食品的安全性评估 19

四、转基因食品的发展之路 25

五、《自然》杂志相关报道——饱受争议的转基因农作物 28

1. 转基因农作物三大关键问题之思辨 31
2. 新的转基因农作物品种 37

下一期（2013年9月刊）预告：肠道菌群 —— 一个被遗忘的“功能器官”

肠道菌群具有多样性和宿主特异性。随着DNA测序技术和生物信息学技术突飞猛进的发展，更好地研究和了解肠道菌群在各种疾病，如肥胖、糖尿病、IBS、IBD、结肠癌和代谢综合症等疾病中的重要作用，将为我们采取更有效的防治措施提供指导。

热 点

基因组黑客 43

最新的三维立体细胞培养技术 49

百 态

关于传粉生物的全球性困境 61

粘性分泌物帮助海兔逃出生天 63

本刊文章主要由国外网站文章编译而成，如有版权问题，请版权所有人与本刊联系。

凡本刊所载文章，版权归作者本人和本刊所有，如需转载，请注明作者及出处“生命奥秘”。

本刊提供的任何信息都不能作为医疗凭证和依据，仅供科研参考。

专题

Worthy Issues

转基因食品，你怎么看

李厂，男，博士研究生，研究方向：生物化学与分子生物学

前 言

2000年7月31日出版的《时代》（*TIME*）周刊封面上，一则标题格外醒目，该标题为“This rice could save a million kids a year”。标题旁边是一位身着灰色套装、表情严肃，精神矍铄的老人。他叫Ingo Potrykus，是一位来自瑞士苏黎世理工学院（Eidgen ssische Technische Hochschule Zürich）的农业育种专家。Potrykus和弗莱堡大学（Albert-Ludwigs-Universität Freiburg）的分子生物学专家Peter Beyer共同研发出一种名为“黄金大米”（Golden Rice）的稻种。该稻种因外观呈金黄色而得名（图1）。

图1 Ingo Potrykus和Peter Beyer（右上图）共同研发出了“黄金大米”以解决发展中国家（尤其是非洲国家）儿童缺乏维生素A的状况（左下图）。很快，针对此类转基因大米的研究在很多国家立项。Potrykus因此登上了《时代》（*TIME*）的封面（左上图）。右下图为常规大米与黄金大米的外观比较图。2012年湖南衡阳江口镇中心小学的“黄金大米”人体试验将转基因食品的讨论再次推到风口浪尖上。
图片来源：
左下图与右下图：http://www.goldenrice.org/；
右上图：http://www.goldenrice.org/Content1-Who/who2_history.php；
左上图：http://www.goldenrice.org/Content1-Who/who_Ingo.php。

所谓“黄金大米”，是指往普通大米转入合成维生素A原（provitamin A，β-胡萝卜素）所必需的基因而得到的大米。其实普通大米中也有合成维生素A原的全套基因，但是在发育过程中一些基因被关闭因此导致合成的终止。维生素A原在人体内能够转化成维生素A。维生素A是人体皮肤、骨骼、牙齿和毛发生长的必需维生素，同时也能维持视力和生殖机能的良好状态。缺少维生素A的机体会发生病变，如夜盲症、皮肤功能下降等。维生素A缺乏病在发展中国家尤为常见，“黄金大米”工程（Golden Rice Project）正是为了解决发展中国家儿童缺少维生素A这一严峻状况而申请的立项。这本来是一项无可厚非的利民工程，没想到让它与中国发生联系的却是发生于2012年9月的闹得满城风雨的湖南衡阳“人体试验”事件。当时这个实验未得到包括中国农业部、卫生部、食品药品监督管理局在内的任何一个部门的批准，并且中国海关也没有批准该作物的进口，但它却能在被试验者毫不知情的情况下悄然地在中国进行。事件引发了社会的强烈震动和争议，同时也引起了人们对转基因食物的进一步恐慌，并迫使人们思考对转基因食物进行管理及伦理道德方面的问题。

转基因食品（Genetically Modified Food, GMF）在解决人类食物及特殊材料需求方面发挥着重要的作用。通过对天然存在的物种进行遗传物质上的改造，可以得到解决实际问题的、新的食物生产物种。比如为了提高产量，我们可以在作物数量性状相关基因和抗性基因（如抗虫、抗旱、抗倒伏和抗盐等）上进行改造，或是直接引入原有物种不具备的可表达的基因，这样新的食物物种便具备了原先不具备的优势，从而获得了原有品种无法实现的高产量（图2及图3）。当然，除食物产量外，理论上其它任何方面的改变都可以通过转基因来实现。

图2 应用转基因技术可以按照人类的意愿改变生物性状，使生物体得到原本不存在的性状，从而让产品无论在外观、产量，还是内在营养上都发生变化。如抗虫棉顾名思义就是棉花的抗虫性获得提高，这样棉铃可免受病虫的侵袭，从而令棉花的座果率得到提高，最终达到增产的目的（左下图）。左上图为色彩缤纷的转基因辣椒，右上图为转入荧光蛋白质的猫，右下图为转入肥胖基因的超级小鼠与野生型的对照图。
图片来源：
左上图：http://chihe.sohu.com/20081118/n260708504.shtml；
右上图：http://news.biox.cn/content/200810/20081014074119_5983.shtml；
左下图：http://www.pep.com.cn/gzsw/jshzhx/tbziy/kbshy/swkx/dydy_1/tpsc/201008/t20100831_838243.htm；
右下图：http://jpkc.zju.edu.cn/k/531/d11z/image/12-1-5-3d.jpg。

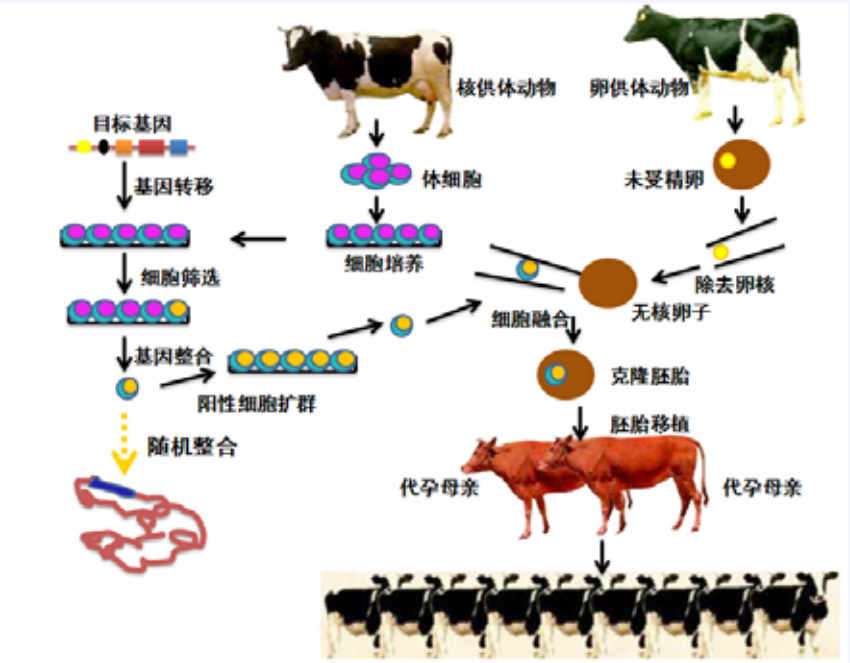


图3 转基因牛的生产工艺流程图。将外源基因通过特殊手段（电场、细菌及病毒等）导入受体细胞，整合后无性繁殖，筛选出具有外源基因产物的无性系，并诱导该无性系分化成正常的成体用于生产，从而收获转基因食品，这便是转基因食品制作的概要。这是非常奇妙的人类技术与自然的结合，它成功地解决了自然无法解决的很多实际问题。
图片来源：http://www.meilinong.com/news_show.asp?id=381。

当然，由于生命系统的复杂性与高关联性，在获得新性状的同时可能会引起其它方面的改变，而这些改变是我们无法预知的（事实上到目前为止很少有关于转基因引起的非目的改造性状的报道）。试想一下，体内某种东西的增加是否会导致其它营养成分发生变化？最终得到的食物营养价值是否比之前的更高？这些目前都无法确认，其中包含的信息量太多，且研究这些在目前来说意义不是很大，毕竟在没有带明显负面效应的前提下，转基因食品确实解决了太多的实际问题。

最近十年，发达国家与发展中国家的转基因作物的种植面积逐年攀升，这意味着人类正面临着即将到来的粮食危机，所以接下来几年或是几十年，转基因食品将继续保持高速增长的态势（图4）。下文我们将对转基因食品的发展历程、生产现状、技术背景、相关法律法规及大众各持的态度进行全面的剖析，以期引领大家加深对转基因食品的了解，并能够科学理智地对待转基因食品。毕竟，在没有找到更好的方法前，转基因食品是人类战胜饥饿、追求更美好生活的一种简单却非常有效的技术。

图4 2010全球主要国家转基因作物种植面积图示。近几年转基因作物的种植面积逐年递增。无论是发达国家还是发展中国家都急需大量的食品，解决这一需求唯有增加单位面积产量，因为可耕地已经利用殆尽。转基因作物大大地解决了这一问题。仅2009-2010两年间，转基因作物的种植面积就增加了10%（Source: Clive James, ISAAA），这足以说明其重要性。
图片来源：
http://www.economist.com/blogs/dailychart/2011/02/adoption_genetically_modified_crops。

一、转基因食品概述

转基因食品（GMF）是指当能够提供食物的有机体的DNA结构发生人为变化后，品质也随之改变了的食品。即便是长在庄稼地里的玉米，水稻或是土豆在形状上发生了变化，人们也很难想象是其内在遗传物质DNA发生了改变，更多的会认为这只是食品的一个新品种。除了专业人员和一些关注科技知识的人士可以想到其背后的高技术含量外，普通老百姓更关心的是食品的产量和品质。人们每天都会在不知情的情况下吃下几种转基因食品，如常见的土豆、西红柿等。转基因食品作为天然不存在的食品，它的产生是为了解决天然食品不能解决的问题，诸如粮食需求问题、某种特殊营养问题及有机体为抵抗外界环境所具有的抗性等问题。

最早的商业化转基因食品由美国卡尔京公司（Californian company Calgene）提供。该公司的晚熟型转基因西红柿（Flavr Savr，又称CGN-89564-2）在1992年通过美国食物和药品管理局（FDA）的安全性评估和商业化批准。FDA认为该转基因西红柿的“繁殖方法是传统的，因此是安全的。对于利用氨基葡糖苷3′-磷酸转移酶II（aminoglycoside 3’-phosphotransferase II）生产西红柿、油菜和棉花的新品种作为食品的来源是没有危险的”。Flavr Savr最终于1994年成功在市场上销售，但没持续多久就由于其巨大的花费和微薄的利润于1997年终止，卡尔京也被孟山都公司收购（Monsanto Company）。不管结局如何，卡尔京创造了历史，为转基因食品的推广打开了局面。

不难想象，随着生物技术的发展，有一天人类可以往任何种类的生物体内植入想要的基因（包括人类自己）。因此转基因生物（GMO）定可采用已有的生物界的分类，如广泛采用的林奈分类系统。转基因植物可用来做科学研究、生产观赏品种和庄稼。在农业应用上，转基因作物是为了获得想要的特征，如抗虫、抗除草剂、应对严酷的环境、提高食品的储存期限、增加食物营养价值或是生产诸如药物之类的有价值产品。细菌是最早通过基因改造以作实验之用的，原因之一是它们的基因组没有那么复杂。改造过的细菌常被用来生产大量的、纯的人类蛋白质昨为药用，例如利用重组胰岛素（insulin）治疗糖尿病；利用凝血因子（clotting factor）治疗血友病以及利用人类生长激素（human growth hormone）治疗侏儒症（dwarfism）。此外，多种微生物也用于生产工业化用酶，这些酶用途广泛，如利用alpha-淀粉酶把淀粉消化为简单的葡萄糖；利用细菌或真菌来源的凝乳酶（chymosin）凝聚牛奶中的蛋白质以生产奶酪以及采用真菌来源的果胶酯酶（pectineaterase）提高果汁的透明度等。转基因的哺乳动物可用来：1）研究人类疾病；2）生产工业或日用产品（如多用途的纤维）；3）生产用于治疗人类疾病的材料；4）提高动物和人接触的亲密度（次过敏宠物，hypo-allergenic pet；此类宠物需在找到致养主过敏的过敏原的前提下，通过基因改造技术将宠物体内的致敏原去除，这样得到的新的宠物品种才能和特定的主人亲密无间。由于其订制式的生产方式，所以价格昂贵，目前还很少见）；5）提高产率和产品质量（如速长鱼及能更快、更有效地消化食物的猪等）及6）提高动物的健康状况（如抗病性）。鉴于转基因食品的诸多优势，几乎所有的国家都对其采取限制但不禁止的政策，而转基因食品的研发环节则基本上是畅通无阻的，这使得转基因食品得到有效的发展。

2012年，全球转基因作物种植面积持续17年每年以6%（1000万公顷）的速度稳定增长，达到1.7亿公顷（图5及表1）。可以说，正是转基因作物开创了生物技术领域17年连续增长的先例（自1996年首度商业化以来显著增长了100倍之多）。因此，转基因技术也被认为是现代农业史上最快速被应用的作物栽培技术。2012年，全球28个国家的1,730万农民（2011年为1,670万）在种植转基因作物，其中90%的农民来自发展中国家。绝对公顷数增长最快的国家是巴西，增长了大约630万公顷。增长比例最高的国家是南非共和国，增长了26%，达到290万公顷。值得注意的是，2011年与2012年两年间转基因作物种植面积增率超过20%的四个国家都是发展中国家——巴拉圭（21%），南非（增长26%）、巴西（增长21%）和菲律宾（33%）（表2）。2012年，全球超过一半（约52%，相当于8,850万公顷）的转基因作物在20个发展中国家种植。和过去一样，在2012年，发展中国家转基因作物种植面积增长百分比明显的要高于发达国家（前者增长11%，合870万公顷，后者3%，合160万公顷）。因此，无论是用绝对公顷数还是百分比来衡量2011年和2012年间的增长，发展中国家都要高于发达国家（图6）。这与国情是相关的，发达国家人口增长缓慢，甚至出现负增长，之前的作物水平已经能够维持公民的生存。而发展中国家人口基数大、增长率高，需要在粮食生产上花更多的功夫。

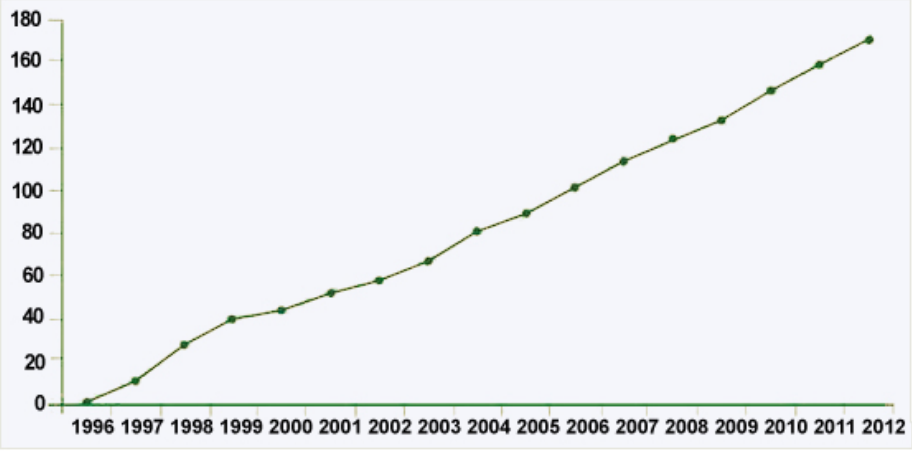


图5 1996年至2012年的17年间全球转基因作物种植面积图（单位：百万公顷）。从图可看出转基因作物全球种植面积以直线逐年增加。1996年前几乎很少种植，而到2012年全球种植面积已超过1.7亿公顷。
图片来源：http://www.isaaa.org/resources/publications/pocketk/16/。

表1 1996年到2012年17年间全球转基因作物种植面积

年份（年）	公顷（百万）	英亩（百万）
1996	1.7	4.3
1997	11.0	27.5
1998	27.8	69.5
1999	39.9	98.6
2000	44.2	109.2
2001	52.6	130.0
2002	58.7	145.0
2003	67.7	167.2
2004	81.0	200.0
2005	90.0	222.0
2006	102.0	250.0
2007	114.3	282.0
2008	125.0	308.8
2009	134.0	335.0
2010	148.0	365.0
2011	160.0	395.0
2012	170.3	420.8
总计	1,427.3	3,531.8

注：2011年和2012年间，增长了约6%，约1030万公顷。2012年全球转基因作物总种植面积已达1.7亿公顷。
数据来源：http://www.isaaa.org/resources/publications/pocketk/16/。

表2 各国2011年和2012年转基因作物种植面积列表（单位：百万公顷）

国家	2011年	2012年
美国*	69.0	69.5
巴西*	30.3	36.6
阿根廷*	23.7	23.9
印度*	10.6	10.8
加拿大*	10.4	11.6
中国*	3.9	4.0
巴拉圭*	2.8	3.4
巴基斯坦*	2.6	2.8
南非*	2.3	2.9
乌拉圭*	1.3	1.4
玻利维亚*	0.9	1.0
澳大利亚*	0.7	0.7
菲律宾*	0.6	0.8
缅甸*	0.3	0.3
布基纳法索*	0.3	0.3
墨西哥*	0.2	0.2
西班牙*	0.1	0.1
哥伦比亚	＜0.1	＜0.1
智利	＜0.1	＜0.1
洪都拉斯	＜0.1	＜0.1
葡萄牙	＜0.1	＜0.1
捷克共和国	＜0.1	＜0.1
古巴	＜0.1	＜0.1
埃及	＜0.1	＜0.1
斯洛伐克	＜0.1	＜0.1
哥斯达黎加	＜0.1	＜0.1
罗马尼亚	＜0.1	＜0.1
瑞士	＜0.1	＜0.1
苏丹	＜0.1	＜0.1

加*标记的国家为转基因作物种植面积大国，其2012年转基因作物种植面积超过50,000公顷。
数据来源：http://www.isaaa.org/resources/publications/pocketk/16/。

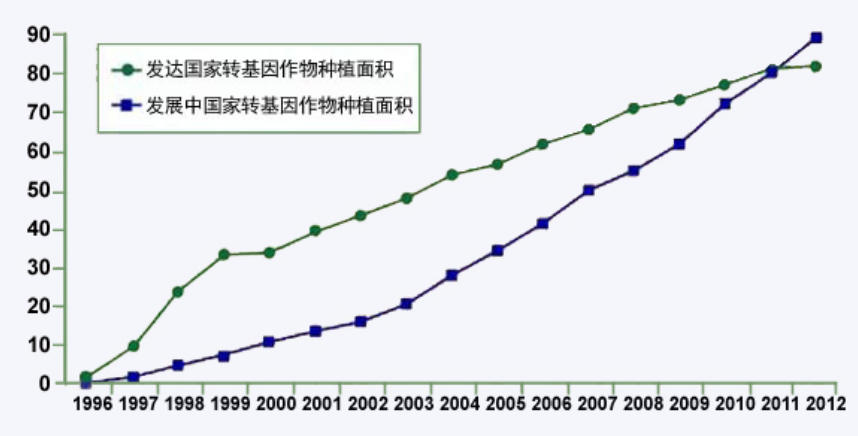


图6 发达国家和发展中国家1996年至2012年间的转基因作物种植面积比较图。值得注意的是，2011年发展中国家与发达国家在种植总面积上在基本持平后2012年又低于发达国家。纵坐标单位为百万公顷。
数据来源：http://www.isaaa.org/resources/publications/pocketk/16/。

转基因作物的商品化种植在六个大洲都存在。2012年全世界统计在册的有28个国家种植了转基因作物，其中18个国家种植超过50,000公顷的面积。种植面积大国有美国、巴西、阿根廷、加拿大、印度、中国、巴拉圭、南非、巴基斯坦、乌拉圭、玻利维亚、菲律宾、澳大利亚、布基纳法索、缅甸、墨西哥、西班牙和智利（表2）。值得注意的是，各国种植的转基因作物种类也不尽相同。种植最多的是除草剂耐受的黄豆。2012年除草剂耐受的黄豆覆盖了8,070万公顷，约占全球转基因作物种植总面积的47%。除草剂耐受的黄豆在美国、阿根廷、巴西、巴拉圭、加拿大、乌拉圭、玻利维亚、南非、墨西哥、智利和哥斯达黎加都有商业化种植。其次是具有堆叠特征的转基因玉米，全球共种植了3,990万公顷，约占总种植面积的23%。转基因玉米主要在10个国家，包括美国、巴西、阿根廷、南非、加拿大、菲律宾、乌拉圭、洪都拉斯、巴拉圭和智利进行商业化种植。*Bt*棉花2012年种植面积居第三位。*Bt*棉花主要在13个国家，包括印度、中国、巴基斯坦、缅甸、布基纳法索、巴西、美国、阿根廷、澳大利亚、哥伦比亚、苏丹、巴拉圭和哥斯达黎加种植，种植面积达1,880万公顷，相当于全球转基因作物总种植面积的11%（表3）。

表3 2012年全球主要种植作物及其种植面积列表

作物种类	百万公顷	百分比
除草剂耐受黄豆	80.7	47
堆叠特征玉米	39.9	23
*Bt*棉花	18.8	11
*Bt*玉米	7.5	4
除草剂耐受玉米	7.8	5
除草剂耐受油菜	9.2	5
堆叠特征棉花	3.7	2
除草剂耐受棉花	1.8	1

（接下表）

（续上表）

除草剂耐受甜菜	0.5	＜1
除草剂耐受苜蓿	0.4	＜1
其它	＜0.1	＜1
总计	170.3	100

注：从表中可以看出，以除草剂耐受黄豆种植面积最广，其次为具有堆叠特征的转基因玉米。*Bt*作物为转入来自苏云金芽孢杆菌（*Bacillus thuringiensis*）的基因并能表达其蛋白质的作物。此类作物可以增加作物产量并能降低虫害。
数据来源：http://www.isaaa.org/resources/publications/pocketk/16/。

另一种评估转基因作物前景状况的方法是评估黄豆、棉花、玉米及油菜这四种转基因作物各自的全球应用率。2012年，全球1亿公顷黄豆中81%都是转基因黄豆（约8,070万公顷）。而转基因棉花种植了2,430万公顷，占世界棉花总种植面积（3,000万公顷）的81%。全球2012年种植的1.59亿公顷玉米中的35%（5,510万公顷）都为生物工程玉米。除草剂耐受的油菜在2012年种植了920万公顷，约占总油菜种植总面积（3,100万公顷）的30%。这四种作物2012年全球共种植3.2亿公顷，其中53%是转基因作物（约1.7亿公顷），2011年所占的比例略降低，约50%。3.2亿公顷中，约三分之二都由发展中国家中的小农经济农民种植。

特约编辑招聘启事

为了及时收集生命科学最新资讯、提高《生命奥秘》办刊质量，现面向从事生命科学或对这学科有浓厚兴趣的科研人员、学生诚聘特约编辑（兼职）。

职位职责：

独立完成《生命奥秘》专题的策划：对基因组学、蛋白组学、生物信息学和细胞生物学等学科的发展以及生物医学领域相关技术（例如基因诊断技术、干细胞和克隆技术、生物芯片技术等）的应用进行翻译及深入评述。

选题要求内容新颖、评述精辟、注重时效和深入浅出。尤其欢迎以自身系统研究为基础的高水平译述与评论，结合所从事的科研工作提出自己的见解、今后设想或前瞻性展望。

要求：

1.具备基因组学、蛋白组学、生物信息学、细胞生物学等生命科学学科背景；
2.具备良好的生命科学前沿触觉；
3.具备较高的外文文献翻译、编译水平；
4.具备较强的选题策划、资料搜集、组织能力，以及专业稿件撰写能力；
5.具有高级职称；或者拥有（正在攻读）该领域的最高学位。

有意者请将个人简历发送至 editor@lifeomics.com
联系人：蔡小姐

二、转基因食品的技术原理

理论上，现代生物技术的建立都可以溯源到由Schleiden（Schleiden, 1938年）和Schwann（Schwann, 1839年）共同提出的细胞学说（Cell Theory）。该理论认为单个细胞是生命体的原始单位，它和细胞全能性（Cellular Totipotency）理论共同构成现代生物技术的基石。过去十年里，新的、高效的植物转化方法都取得了显著的发展成就。植物遗传工程的发展使得从相关植物或是非植物体基因向目的植物的转化成为可能。因此，多种作物通过遗传修饰以便取得更佳的农艺学特质（agronomical trait）。这些特质包括对疾病的抵抗、对昆虫的抗性、更佳的营养价值和其它期望的品质。外源基因成功转入植物体内的先决条件是，基于组织培养的转化过程结束后的高效再生方法，即如何实现植物细胞的全能性，并通过诱导产生整株植物。但在实际应用中，只有少数种类的植物的几种特定组织能够在适当的培养条件下转化成完整的植株。因此，科学家花费了更多的时间和精力用于提高植物再生系统。然而，高效的再生系统本身不会必然导致高效的转化，这就需要开发更为先进的转化方法。这些方法不仅仅包括转化入植物体内的特征（稳定的、期望的转基因整合和表达），而且需要高通量的转化方式。这些需求在作物后基因组时代（Crop Post-genome era）随着基因组序列信息、BAC克隆、EST和全长cDNA信息的不断增长而变得尤其巨大。这种形势使得植物转化方法的研究同时面临机遇和挑战。时下，农杆菌（*Agrabacterium*）介导的转化和微粒（Microprojectile）介导的轰炸技术为常用的转化技术。其它方法，如电穿孔（Electroporation）和微注射技术（Microinjection）仍然很少使用。下文将对植物及动物转化方法进行详细的讨论。

1. 植物转基因技术

1.1 农杆菌介导的转化（*Agrobacterium*-Mediated Transformation）

两种农杆菌*Agrobacterium tumefaciens*和*Agrobacterium* rhizogenes被用于间接将外源基因通过质粒转入目标细胞中。*A.tumefaciens*是一种土壤生的革兰氏阴性菌，它能致使植物肿瘤冠缨（Crown Gall）。致病系的致瘤作用缘于其胞质中存在一个大的Ti质粒（Tumor inducing Plasmid）。同样，Ri（Root inducing）大质粒存在于*A.rhizogenes*的致病系中，能够导致植物形成“发状根”（hairy root）。Ti和Ri质粒都含有一组“T-DNA”（transferred DNA）。T-DNA含有两套基因，一套为致瘤基因（oncogenic gene），它包含合成植物生长激素（auxins）和细胞分裂素（cytokinins）所需要的所有酶；另一套为合成冠缨氨基酸（opine）的所需基因。Braun的1958年的研究成果表明，肿瘤细胞转化后（transformed）的本质是它们能够在没有农杆菌的情况下，在无激素的培养基中相似地生长；没有转化（non-transformed）的细胞需要在培养基中添加植物生长激素和细胞分裂素以维持细胞的分裂。因此，他提出了肿瘤诱导原理（Tumor Inducing Principle, TIP），即农杆菌导致转化。无菌的肿瘤细胞中含有一种全新的代谢产物opine。研究发现无菌的肿瘤细胞中特定的opine-octopine或是

nopaline不取决于植物种类而取决于所用的菌种，这表明细菌的功能基因成为植物细胞基因组的一部分。Chilton和Willmitzer于1980年发现肿瘤细胞核区DNA片段中含有T-DNA。这表明Ti质粒的一部分在肿瘤形成过程中整合进入到了植物细胞基因组中。因此，科学家想到能够利用Ti质粒作为转移其它基因的载体。这个转化过程包括诸多步骤，如细菌定植（bacterial colonization）、细菌毒性系统的诱导、T-DNA转移复合体的生成、T-DNA转移和T-DNA整合入植物基因组（图7）。

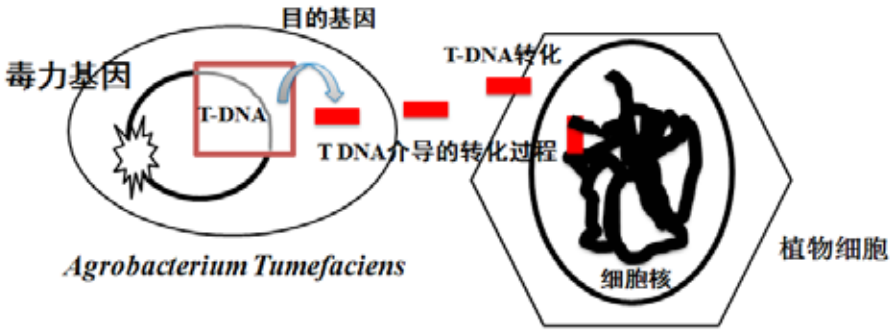


图7 农杆菌介导的外源基因转化入植物细胞的全过程。详细转化过程如正文所述。
图片来源：
Abdul Qayyum Rao etal. (2009) The myth of plant transformation. *Biotechnology Advances*, 27: 753-763.

1.2 基因枪转殖技术（Biolistic transformation）

基因枪转殖技术是直接将外源DNA转化入原生质体的方法（图8），这种技术在19世纪80年代早期得到长足的发展，该技术在具有经济价值的粮食作物的应用方面发展尤为迅速。人们当时认为该类植物不在农杆菌的宿主范围之内，因此，也就不能够通过农杆菌介导转化。基因枪转殖技术的操作过程包括对原生质体（protoplast）进行渗透或电击处理，处理溶液中包含DNA，接着将原生质体放入选择培养基中对已转化的克隆进行选择性生长，最终得到完整的植株。从胚胎细胞悬浮培养物中分离出的、转化成功的原生质体使得第一种转基因谷物得以成功。但是利用原生质体作为遗传转化受体随着植物胚性组织（embryonic tissue）或胚胎细胞共同培养物能够被农杆菌转化的发现，慢慢变得不再那么具有吸引力。这一过程的成功需要在培养基中加入有效成分乙酰丁香酮（acetosyringone），它能够诱导毒性基因的开启。由于分离能够解决长期维持悬浮状态的胚胎细胞悬浮培养物的工艺难题和农杆菌介导转化的局限性的存在，科学家急于寻找转化的通用方法（universal method），包括那些不需要组织培养的方法。因此，一种全新的植物转基因鸟枪法被开发出来。人们将被DNA包裹的金或钨微体高速射入细胞或组织中，从而得以将外源基因转化入受体中。蓖麻（Ricinus）的案例表明氦气压、目标距离、渗压剂、微载体类型和大小、DNA的品质、分离块（explant）类型和轰击的次数等对转化的效率有显著的影响，但基因型却没有影响。

植物转基因方法可以归类为直接的（direct）和间接的（indirect）方法。除了上面两种详细阐述的方

法，还有许多种富含创意的方法，如电穿孔介导的转化（Electroporation-Mediated Transformation）、聚乙二醇/脂质体介导的转化（PEG/liposome Mediated Transformation）、金刚砂介导的转化（Silicon Carbide mediated transformation）、微注射（microinjection）、质体介导的转化（Chloroplast mediated Transformation）和原生基因转移（Native gene Transfer）。

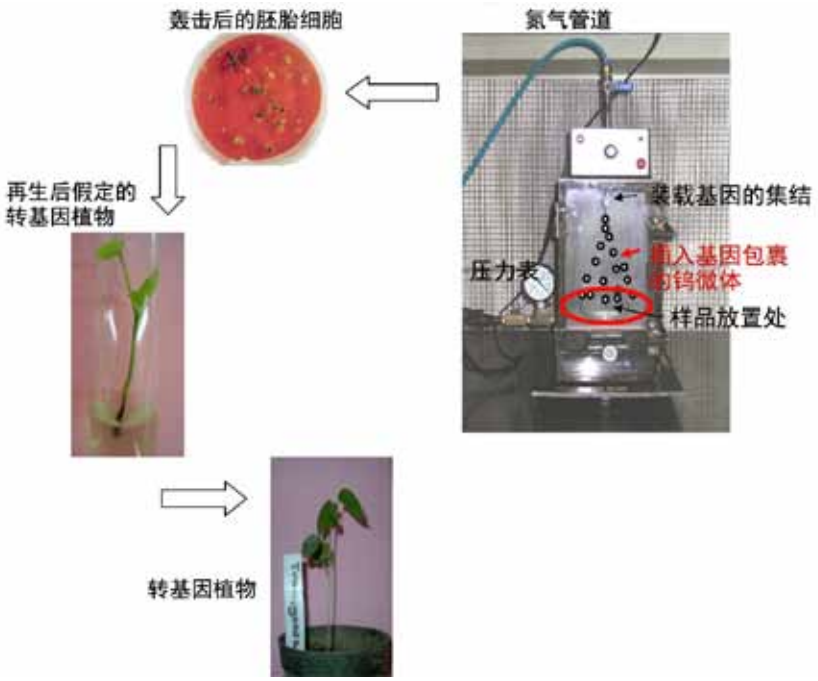


图8 基因枪法的过程示意图。详细的基因枪法流程见正文部分。
图片来源：
Abdul Qayyum Rao et al. (2009) The myth of plant transformation. *Biotechnology Advances*, 27: 753-763.

2. 动物转基因技术

转基因动物在研究体内（*in Vivo*）发育、器官生成和老龄化过程中特定基因的功能等方面起着非常重要的作用。同时，它也应用于评估人类疾病模型中的治疗策略和对不可能在人体内进行的疾病的跟踪调查（disease progression investigation）。转基因动物商业化的应用包括重组蛋白质的制备、使动物摆脱疾病和往动物体内引入新的遗传特质等。到目前为止，许多种动物都有了转基因品种（表4）。具有科学研究和商业价值的转基因脊椎动物有鱼、两栖动物、鸟和哺乳动物。转基因无脊椎动物中的一些，如黑腹果蝇（*Drosophila melanogaster*）和秀丽线虫（*Caenorhabditis elegans*）用于科学研究；东方牡蛎（eastern oysters）、矮蛤蜊（dwarf surfclams）和日本鲍鱼（Japanese abalone）等用作食材。用于研究目的的模式生物包括无脊椎动物黑腹果蝇和秀丽线虫，

脊椎动物有斑马鱼（*Danio rerio*）和非洲爪蟾（*Xenopus laevis*）。它们花费低、维护容易，能够快速获得大量的实验体。但是它们和人在系统生物学上关系（phylogenetic Relationship）甚远，因此不能用来研究人类病理学条件。相反，生产和维护与人类系统生物学上相近的转基因动物，如羊、牛和猪却需要大量的时间和金钱上的投资，导致它们在大多数研究中不被采用。目前生产一头转基因猪的花销大概是20,000美元，而一头转基因牛的生产费用更是达到250,000美元。因此，转基因牛在商业化应用工程中大打折扣，如生产删除朊病毒（prion）受体的抗海绵状脑病的动物，或是生产能够抵抗由葡萄球菌引起的乳腺癌的牛的计划都受到了阻扰。

尽管转基因动物种类甚多，但转基因动物的生产技术却没有植物转基因技术那样丰富多彩。目前，动物转基因大多用到显微注射技术（microinjection）和核移植（nuclei transplant）技术。Gordon等人于1980年首先用前核注射技术将外源基因引入小鼠卵母细胞中。这套实用的技术几乎被所有学术研究机构用来生产转基因小鼠。但是这项技术也有物种局限性，在转基因大鼠的应用上就成功率极低，这就需要开发其它转基因策略以实现外源基因能够高效地转入大鼠卵母细胞中。实验过程中，外源基因或cDNA通常放置在异种的启动子（promoter）下的质粒中进行前核注射。启动子的选择取决于希望转入基因在何时何处准确表达。监测基因是否正常表达一般都会在启动子后边插入报告基因（reporter gene），如beta-乳糖酶（lacZ）或是绿色荧光蛋白（GFP）基因。这种注入的基因通过随机整合事件进入基因组中。当整合入常染色体区（euchromatic region）中就很容易导致基因沉默（gene silence）。用人工染色体（artificial chromosome）作为载体导入目的基因可以避免这一情况的出现。目前常用的人工染色体有BAC（bacterial artificialchromosome）、PAC（P1 artificial chromosome）和YAC（yeast artificial chromosome）。BAC和PAC能够容纳350kb的DNA片段，YAC容量大于1 M。但是大容量也带了不利，长片段的DNA很可能混有其它能够独立于目标基因却影响表型的基因存在。

表4 现有转基因动物列表

动物	参考文献
哺乳动物	
小鼠（*Mus musculus*）	Gordon et al.(1980), Joyner and Sedivy(2000)
大鼠（*Rattus rattus*）	Hamra et al.(2002), Kato et al.(2004), Hirabayashi et al.(2005), Agca et al.(2008)
家兔（*Oryctolagus cuniculus*）	Fan and Watanabe(2003)
羊（*Ovis aries*）	McCreath et al.(2000), Denning and Priddle (2003), Wheeler(2003)
猪（*Sus domestica*）	Lai et al.(2002), Houdebine(2009), Kragh et al.(2009)

（接下表）

（续上表）

牛（*Bos Taurus*）	Donovan et al.(2005), Richt et al.(2007), Houdebine (2009)
山羊（*Capra hircus*）	Wheeler(2003), Houdebine(2009)
狗（*Canis familiaris*）	Hong et al.(2009)
狨（*Callithrix jacchus*）	Sasaki et al. (2009)
猕猴（*Macaca mulatta*）	Yang et al.(2008)
鸟类	
鸡（*Gallus gallus*）	Mozdziak and Petitte(2004)
日本鹌鹑（*Coturnix japonica*）	Huss et al.(2008)
硬骨鱼类	
斑马鱼（*Danio rerio*）	Zelenin et al.(1997), Sinzelle et al.(2006), Ishibashi et al.(2008)
金鱼（*Carassius auratus*）	Houdebine and Chourrout(1991), Wang et al.(1995)
尼罗罗非鱼（*Oreochromis niloticus*）	Martinez et al.(2000), Maclean et al.(2002), Hrytsenko et al.(2009)
鲫鱼（*Cyrinus carpio*）	Yoshizaki et al.(1991)
斑点叉尾鮰（*Ictalurus punctatus*）	Dunham et al.(2002)
大西洋鲑鱼（*Salmo salar*）	Sin et al.(2000), Houdebine(1997)
无脊椎动物	
果蝇（*Drosophila melanogaster*）	Rubin and Spradling(1982), Fujioka et al.(2000)
线虫（*Caenorhabditis elegans*）	Fire(1986), Mello et al.(1991)
日本鲍鱼（*Haliotis diversicolor suportexta*）	Tsai et al.(1997)
东方牡蛎（*Crassostrea virginica*）	Cadoret et al.(1997)
侏儒蛤蜊（*Mulinia lateralis*）	Lu et al.(1996)

数据来源：Miguel A et al. (2010) Amimal transgenesis: an overview. *Brain Struct Funct*, 214:91-109.

三、转基因安全性评估及其理性对待

食品安全向来是国家和百姓共同关注的重点。就连已经得到长时间考验的传统食品依然要倍加小心，何况目前对人类来说完全未知的转基因食品。转基因食品给人类带来更加具有美感、可口和特殊营养价值的食物，转基因的物种也会获得原先不具备的特质用以抵抗环境压力获得高产。但与此同时，我们对于没有直接证据的未知方面天生就具有恐惧感，这也是转基因食品在全球范围内受到很多人，尤其是宗教人士反对的根本原因。目前，人类陷入深深的矛盾中。一方面，人类对食品的需求和要求与日俱增，而传统的作物种植已经无法满足需求，人类甚至一度出现过毁林造田、围湖造田等违背自然规律、破坏生态环境的举措。但另一方面，即便转基因作物的出现就像救星一般，能够大大改善状况，减少人类破坏生态平衡的现状，人类对其仍然是担忧甚多，人们对转基因食品是否具有危害，危害有多大却知之甚少。

1. 有关转基因食品的博弈

2012年8月印度议会通过决议，要求全国立刻禁止一切转基因的田间试验，转基因研究也必须在严格的监管下才能进行。议会长Basudeb Acharia在随后的新闻发布会上毫不含糊地表示“印度不会变成转基因食品作物国家”。但是印度农业研究处水稻遗传学家Swapan Dutta副处长表示担忧并警告，“如果这一法案实施，将会令科学研究瘫痪，威胁印度的粮食安全”。同时，他又表示无奈，“如果印度人民不欢迎转基因作物，那印度就得终止转基因研究”。不过该法案实施起来将会阻力重重，因为政府先前曾给予农业转基因技术以承诺，食言必将引起阻力。早在2002年，印度对国内第一种商业化转基因作物——含苏云金芽孢杆菌（*Bacillus thuringiensis*, *Bt*）毒素基因的棉花亮了绿灯（图9）。现今有1100多种*Bt*转基因棉花在印度种植，种植面积占全国棉花种植面积的93%，生产面积由2002年的20,000公顷突增到2011年的933万公顷。2012年2月，印度总理Manmohan Singh在接受《科学》（*Science*）杂志的专访时反复强调对农业转基因作物的支持。他指出，在适当的时候，他们必须利用遗传工程技术来提高农业的产率。但是Manmohan Singh的部长却唱起反调。2010年，前环境部长Jairam Ramesh在部门科学建议小组认定该转基因作物可行后却毅然终止了*Bt*茄子的商业化。2010年6月，环境部长Jayanthi natarajan告诉《科学》杂志“转基因食物对于维护印度的粮食安全没有太大的作用”。由印度共产党议会代表Acharia领导的小组慢慢站在了转基因怀疑者的立场上。这个由31位成员组成的小组用两年时间制定了一份共492页的报告。该报告在经济层面上对转基因作物狂轰乱炸，认为“过去十年的经验最终表明转基因作物产业极大地受益，但是就大多数贫苦的农民所关心的生活水平而言，甚至有可能在走看不见的下坡路。”在该报告出台之前，印度的转基因作物研究者就很大程度上被限制言论自由。自2011年开始，政府已经停止对转基因作物田间试验进行援助。

Acharia领导的小组质疑印度已有的转基

因作物成就，他指出*Bt*转基因棉在印度的商业化种植是受跨国公司、食品巨人孟山都的技术出售驱动的。农业科学家M.S. Swaminathan指出，正是由于害怕跨国公司对食品安全的控制才导致对重组DNA技术的限制。印度12亿人民中70%为农民，他们别无选择地购买*Bt*棉花的种子，因为该品种产量高。小组甚至将最近几年高负债农民的自杀增多状况与转基因作物种植联系在一起。尽管在孟山都给《科学》（*Science*）杂志的申明中表示，印度从*Bt*棉种植中受益颇大，但并没有提到印度农民自杀的情况。有人认为片面的和单方的争论公众问题将会使国家失去对转基因作物的兴趣。

图9 印度领导人力求禁止未来的转基因作物的田间试验，如*Bt*茄子。*Bt*棉花已经在印度大规模推广。图片来源：Pallava Bagla. (2012) Negative Report on GM Crops Shakes Government’s Food Agenda. *Science*, 337: 789.

尽管生物工程农业（基于生物工程的农业）具有潜在收益，但是它的应用却受到极大的挑战。最大的挑战来自消费者对转基因食物的认知和接受。最近的研究表明很多消费者对转基因食品持反对意见。在全球范围内，人们对转基因食品的关注和讨论会对生物工程农业的投资和该产业的发展造成影响。美国和欧洲一些主要的食品生产商和零售商都明确表示不接受任何转基因食品。在许多发达国家和发展中国家中，多个严格调节转基因食品商业化和销售办法的制定，如国内通行的批准、市场隔离和转基因食品与非转基因食品的标签区别等都进一步加剧了对转基因食品商品化的挑战。总的来说，最近几年公众对转基因农业的态度与前些年有些出入了。了解消费者对转基因食品的态度及其影响因素对于未来生物工程农业的发展至关重要。一项世界范围的调查显示，尽管欧洲消费者对转基因食品的支持有所回升，但高达58%的消费者依然对其持悲观态度，仅27%的欧洲消费者对GMF持乐观态度。有意思的是，挪威的消费者在转基因面包价格低于非转基因面包49.5%时会乐意接受转基因面包。根据商品和国家的不同，世界范围内的消费者对转基因食品的接受度在60%到80%间浮动。

已有研究表明，很多因素都会对消费者接受GMF的程度产生影响。在几乎所有的研究中，收入貌似成为消费者对GMF接受度的负相关的最主要因素。这被用来解释为什么发展中国家比发达国家的消费者更易接受GMF。而不同国家同一收入人群对GMF的认知被认为跟消费者对政府管理GMF的能力的信任程度、消费者对GMF的了解、消费者本身的个性和媒体争论的本质相关。“对政府的信任”

是指民众对依赖政府管理风险的乐意度。如果大众怀疑管理者对未知事件的控制能力，信任就显得非常重要。但是，同时也要保证对其它方面的肯定的责任，对于GMF而言，争论就是关键。Gaskell等人认为消费者对政府的信任可以被他们对GMF的了解程度替代，这就可以部分解释为什么美国消费者对GMF的接受程度要比欧洲的高得多。

2. 转基因食品的安全性评估

在DNA重组技术引入现代生物工程植物食品的早期阶段，人们就试图制定国际通用的转基因生物（GMO）安全评估策略。1990年，在首个植物（烟草）转基因成功后的两年，国际食物生物工程（International Food Biotechnology Council, IFBC）即颁布了关于转基因食物品种的安全评估的首个报告。报告中的通过与传统食物的比较进行安全评估的方法构成了之后安全评估策略的基础。其它组织，如经济合作与发展组织（Organisation for Economic Cooperation and Development, OECD）、联合国食品与农业组织（Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAQ）、国际卫生组织（World Health Organization, WHO）和国际生命科学研究所（International Life Sciences Institute, ILSI）进一步完善了安全评估的指导方针，这取得了国际食物安全评估专家们的一致认可。下文将对各个组织的评估策略进行阐述。

2.1 经济合作与发展组织

1993年OECD阐述了实质等同性（substantial equivalence）的概念并把它作为评估转基因食物的指导工具，之后又对其进行不断的修订。实质等同性这个概念是由基于现存食品能够作为转基因食品比对标准基础上的安全评估框架的部分组成。现存的食物供应在经历长时间的考验后，被认为是安全的，尽管公认食品会含有大量的抗营养和有毒成分，吸收达到一定水平时会对人和动物造成中毒效应。概念本身并不是进行安全性评估，但是能够帮助鉴定新产品和已存在食物的相似和潜在的区别，以便进行进一步的毒性检测。转基因食品可分为三种情形：（i）实质等同。（ii）除加入的特质外其余实质等同。（iii）完全不等同。除转基因生物的表型和农艺学上的特征外，关键成分，如主要营养素和天然毒物的成分分析是评估本质等同性的基础。在第一种情况中，不需要进一步的检测，因为产品已经和被认为安全的传统参照本质等同，如土豆中的淀粉。在第二种情况中，除了转入的特质外其它都本质等同，所以安全性检测就聚焦在这个不同的特征上。如转基因土豆中表达的杀虫蛋白质。安全性检测就要包括对这个全新表达的蛋白质的本质和功能的特别毒性检测、潜在的、不确定的效应的发生率、对人类或动物肠道转基因的潜在效应、新蛋白质的潜在致敏性以及新的食物品种在饮食中的作用等进行检测。在第三种情况中，新食品与传统参照完全没有本质等同性，这就需要逐一对新食品的特征进行检测。当然，OECD的新食品和饲料安全特别小组（Task Force for the Safety of Novel Foods and Feeds）对要检测的内容做了详细的规定。

2.2 国际生命科学研究所

欧洲ILSI颁布的新食品安全评估文案提供了对所有新食品数据要求的背景，包括食物和从转基因生物中衍生出来的食物材料。对于GMF，将包括转基因DNA的数据、表型及组分分析，包括总成分、营养素、抗营养素和毒素等。这样食品跟参考的本质等同性就在测量

这些数据后得到。比较也具有自由度，即可以根据不同需求选择不同水平的比较，例如食物来源、食物产品和分子水平。同OECD和FAO/WHO的观点一致，ILSI文件中也规定了三个情景：（i）与参考食品或材料本质等同。（ii）充分相似。（iii）不充分相似。对于没有本质相同性的、新的食物和食物材料，营养学和毒物学数据、潜在抗原性数据都需要考虑到。ILSI和IFBC合作开发出了测试GMF抗原性的决定树（Decision Tree）。转基因来源的三个情形如下：（i）通常引起过敏的食物。（ii）不通常引起过敏性反应的食物或其它已知食物来源。(iii)没有过敏性反应的食物。决定树中使用的标准包括转基因材料的来源、转基因产品和过敏原蛋白质的序列同源性、转基因产品的免疫反应性测试，使用对参照具有过敏性反应的个体血清以及转基因产品在肠道环境或是热和其它条件下的稳定性。对于从已知具有过敏性反应的资源衍生过来的新蛋白质，IgE结合试验是必须要做的，同样需要使用具有过敏性反应的个体血清进行实验。还要进一步进行皮试（skin-prick testing）和双盲食物测试（double-blind food challenges）。对于从未有过过敏反应史的资源衍生出的新蛋白质，决定树的方法是过敏性反应取决于与已知抗原序列同源性的比对结果以及该蛋白质在肠道和消化过程条件中的稳定性。

2.3 食物和农业组织/国际卫生组织

FAO和WHO自1990年起开始组织对GMO的研讨和磋商。磋商结果认为安全评估需以本质等同性为基础，分子表征、表型特征、主要营养素、毒素和抗原这些参数都被用来决定GMF的本质等同性。本质等同性的三种情形与OECD的规范相同。FAO/WHO的食品规范委员会致力于制定国际通行的食品标准，所有参与国都将遵循该标准。委员会临时生物工程来源食物政府间特派小组有责任制定针对GMF的食品标准、指导方针和其它建议。2000年3月在日本千叶举行的首届会议对GMF的“风险评估”和“风险分析”做了定义。风险评估包括食品安全、本质等同性和长期健康效应；风险分析包含的却是决策制定和售后监测。2000年5、6月间在瑞士日内瓦举行的专家评定会对过往所有关于GFM的经验进行了总结。与会的主题包括本质等同性、转基因不可预期的效应、食品安全、营养效应、生物素抗性标志基因和致敏性。专家评定会认为本质等同性是对GMF安全评定非常实用的方法，也是现有的唯一方法。该概念的应用恰恰是安全评估的开始而非结束。

由转基因工艺引起的非预期效应的潜在发生，如先前特质的丧失或是新特质的获得都需要接受检测。非预期效应不光发生在转基因技术的应用过程中，在传统的繁殖过程中也可能经常存在。现有检测方法主要集中在对已知营养素和毒素的化学分析上（目标明确）。为了增加检测到非预定效应的概率，全析（profiling）和指纹（fingerprinting）方法变得非常实用（目标不确定方法）。而且这两种方法对于基因组具有广泛修饰的植物（GMF植物的第二代）尤为实用。与对传统食物添加剂的检测相似，动物实验对于获得新表达蛋白质的特征信息是必需的。如果除预期的组分外还有其它成分发生变化，那么对食物所有组分的检测就显得必要了。但是这样的研究应该以个案分析（case-by-case）的思想为基础，尽量少使用这种类型的研究。对于一种食品的长期使用的安全性的检测，最低实验要求时间为亚慢性90天。如果90天实验结束后出现了诸如组织增生性变化的话就需要更长时间的观测了。

专家评定小组同时也提到，通常任何食物的潜在的长期效应不得而知，因此鉴定此类影响即便不是不可能也将会非常困难，这是由于受到许多复杂的因素和群体遗传可变性的调节的影响。如果传统食物造成的负面影响背景过高，那么流行病学的方法也将无法检测到该效应。小组同时认为上市前的安全性评估已经保证了GMF和其它传统食品一样的安全性。实验研究，随机人体试验如果操作得当，将会为人

类长期食品安全提供额外的证据。

2.4 食品安全法规

尽管国际上有公认的评估转基因食品的方法，但是各国的规则又不尽相同（表5）。安全评估可以在转基因生物的不同水平进行。对于转基因作物而言，究竟是采用整株作物、不同组织或是纯化后的产品水平，取决于应用的尺度。除了食品和食品材料外，作为食品添加剂的纯化产品同样也在考虑范围之内。欧盟在1997年颁布了有关食品和新品种食物材料的法规。它区分了六大类新食物产品，其中两大类是直接从GMO中衍生出来的。应用该法规进行分析时，新的食物将和最合适的批准食品比较，这种标准食品倒不一定是传统的食品，很有可能是刚被批准的转基因食品。对于新食品是否和已上市食品本质等同的比较分析，同时也是对食品毒理学和营养学评估的基础。该标准规定，如果需要额外的体内实验，那么对新食品的营养学特征的充足了解是必需的，这包括能量物质、蛋白质和适合生物利用的微量营养素。最高的测试剂量应该是实验动物食物中能包含的最大剂量，最低测试剂量为人类食物中能包含的最小剂量。如果预期的安全系数（safety factor）不能够通过此途径得到的话，那么动物最终在人类层面上对新食品的再吸收（resorption）和代谢（metabolism）研究就是必须的了。但是，在特殊情形下，如果额外的数据显示了新食品的安全性的话，较低的安全系数也是可以接受的。承受风险的估计（exposure assessment）必须包括特殊的易感消费群体（specific vulnerable consumer group）。对于营养上的评估，在一些情况下需要启用试验后跟踪程序（post-launch monitoring program）。同样，对于致敏性，欧盟主要跟随国际标准。为防止食品供应中出现新的抗原，新食品中潜在的致敏性就需要用已有的方法进行检测。从GMO中衍生的食品添加剂（food additives）在澳大利亚/新西兰、加拿大、欧盟、美国和日本有不同的管理规定，食品添加剂的定义在这些国家中也不尽相同。欧盟和加拿大对食品添加剂（食品中通常不存在的无营养物质）的评估不区分从GMO衍生而来还是其它来源。对于澳大利亚和新西兰，从GMO中衍生的食品添加剂都会按照已有食品添加剂的成分进行分析。而美国方面，食品添加剂被定义为非公认安全的（non-generally recognized as safe, non-GRAS）食品成分。在欧盟法律下，食品添加剂成分会被认为是食物材料（GRAS）或是美国的“食品添加剂”。商业化使用美国食品添加剂需要得到食品药物管理局（FDA）的安全评估。引入新的基因产品被认为是食品添加剂，也就是非公认安全的成分，除非它们已经被宣布是公认安全的。

表5 不同国家转基因食品安全法规的比较

		遗传上的改变类型				
国家	法律规则	基因插入	插入基因为已证基因产品	插入基因为同种基因	不同转基因系之间的杂交	变异繁殖及体细胞无性系变异（non GMO）
澳大利亚	ANZFA Food Standard A18	＋	-	＋	-	-
加拿大	Food and Drug Act	＋	＋	＋	(＋)	＋
欧盟	Regulation 258/97/EC	＋	＋	＋	＋	(＋)
日本	Food Sanitation Law	＋	＋	-	＋	-
新西兰	ANZFA Food Standard A18	＋	-	＋	-	-
美国	FFDCA	＋	-	(＋)	(＋)	(＋)

注：+表示需要被评估的；（+）表示只有在本质等同性不一样时才需评估；-表示不需要评估。
数据来源：Harry A. Kuiper et al. (2001). Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. *The Plant Journal*, 27(6): 503-528.

2.5 GMF非预期风险检测鉴定

基于特定DNA序列随机插入基因组（预期影响）事件造成的干扰，如活化基因（active gene）的修饰或沉默，或是沉默基因（silent gene）的活化都可能发生，这就有可能产生新的代谢产物或是改变已有的代谢产物。在知道转基因DNA插入部位、插入特征的功能或是其在代谢途径中的作用的情况下，就可以部分地预测非预期的影响。其它的影响就难以预测，这是因为对基因调节和基因-基因相互作用的有限了解。值得注意的是，这种非预期的影响不是重组DNA技术的特定产物，传统的繁殖过程也会出现。非预期影响可以通过分析新食品农艺学/形态学特征或是关键营养素、抗营养素和毒素来鉴定。但是这种分析方法的效力是有限的，对于未知的毒素或是抗营养素就需要通过比较方法了。

随着现代生物技术的发展，高通量的检测方法得以开发利用，使得我们更加容易且真实地检测新的食品不能预期的影响（图10）。仿形技术（profiling techniques）使在不同水平，如基因组水平、基因表达和蛋白质翻译过程、代谢通路水平上等对被修饰生物的潜在生理变化的检测变为可能。决定食物形态学、农艺学和生理学特征的因素很多，如遗传特质（培栽品种（cultivar）、个体差异、同源系（isogenic lines）及杂种优势（heterosis））、农艺学因素（土壤、肥料及植物防护措施）、环境因素（地理位置、天气、时间及环境压力）、植物-微生物相互作用、成熟阶段和收获后效应（post-harvest effect）等。当外源基因簇（clusters of gene）插入宿主基因组后，农艺学和营养学上的特征将发生重大改变，这样扫描这些特质的潜在改变就变得非常重要。

图10 检测非预期影响的不同集成度水平。分别从植株（plant）、组织（tissue）、DNA、mRNA、蛋白质和代谢产物（metabolites）等水平上展开分析比较。
数据来源：Harry A. Kuiper et al. (2001) Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. *The Plant Journal*, 27(6): 503-528.

分析外源基因的插入位置是比较直接的预测和鉴定由转基因引起的可能出现的效应的方法。如果转基因插入位置在内源基因内部或是接近该基因，相邻区域的信息就值得进一步分析了。转基因的染色体定位和结构可以通过基因组原位杂交（genomic *in situ* hybridization）、荧光原位杂交（fluorescence in situ hybridization）和直接对相邻区域的测序等技术来确定。虽然我们对植物基因组了解仍然甚少，但是随着对基因组密码和基因表达调控知识的增多，测定插入位置DNA序列就可获得巨大信息量。更加直观的在不同层次展示差异的方法有DNA微阵技术（DNA microarray technology）（图11）、蛋白质组学（proteomics）（图12）和化合物指纹图谱（chemical fingerprinting）等。DNA微阵技术是研究基因表达的一种强大的工具。从组织中提取的mRNA通过荧光染料标记后与高密度微阵中固定的目标序列杂交，目标序列代表着特定基因。每个点上的荧光强度可以表明该基因的表达强度。DNA微阵技术与传统的基因仿形（gene profiling）技术相比，优势在于能够一次性对数目庞大的基因进行小尺度的分析，且灵敏度和定量性都要更高。同时，它也允许对不同条件下的基因表达图谱进行比较。但是，mRNA的表达与蛋白质的水平相关性并不是很强，这是因为细胞内mRNA和蛋白质的降解速率差异很大。因此，蛋白质组学能够很好地拓宽理解生物复杂性的思路。随着质谱（mass spectrometry）技术的发展，传统的、用来研究复杂蛋白质混合物的双向凝胶电泳（two-dimensional gel electrophoresis）技术得到了升级。蛋白质组学主要包括三个方面的研究内容，它们分别是鉴定蛋白质及其化学修饰、对不同组分进行差异性展示的蛋白质组学及研究蛋白质-蛋白质相互作用。不管是mRNA表达还是蛋白质组学的差异最终都会反映在体内活性化合物的差异上。因此，对化合物的比较分析可以更好地预测由于基因转入造成的预期或非预期的影响。三种较为常用的分析技术分别是气相色谱（gas chromatography, GC）、高效液相色谱（high-performance liquid chromatography, HPLC）和核磁共振（nuclear magnetic resonance, NMR）。这些方法能够在一次上样后进行检测、分离和定量数目庞大的化合物。色谱和NMR的联合使用使得分辨率进一步提高。如LC-NMR采用1H-NMR波谱可以大范围地比较样本间的微小差异，尤其是对于

低分子量（MW < 10 kDa）的组分敏感。这些技术的应用都比单一化合物分析（single-compound analysis）更能够提供可能变化的细节信息。一旦差异被鉴定出来，进一步的安全评估就需要通过体内和体外实验进行验证。这些实验的设计也都是以仿形技术为基础的。

但是要使这些技术成为常规技术必须解决以下几个问题：样品收集、制备和提取程序的标准化；测量的标准化和有效性；图表和自然变异的有效性限制；能够处理大量数据的强有力的生物信息学手段。

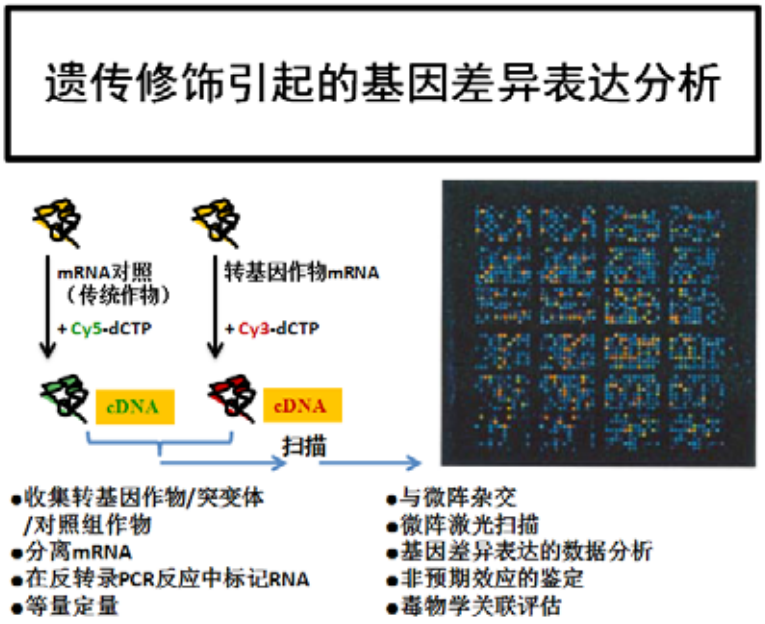


图11 微阵技术（microarray technique）现在作为一种非特定系统，在检测GMO和传统亲系之间的基因表达差异方面起着非常重要的作用。
数据来源：Harry A. Kuiper et al. (2001) Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. *The Plant Journal*, 27(6): 503-528.

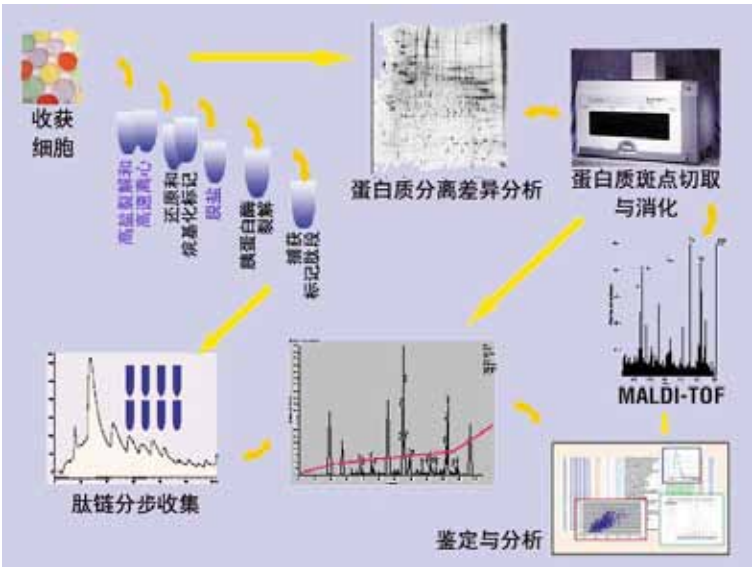


图12 蛋白质组学技术过程，包括蛋白质提取、分离、消化和检测等步骤。蛋白质组学技术可以高通量地分析生物体整体蛋白质的变化。
图片来源：http://www.dnaq.cn/360/title82e167a4d4db11de9a4ea3ee7e26fc51.html。

四、转基因食品的发展之路

自20世纪90年代起，越来越多的转基因食品出现在市场、餐桌上。当然，依法商品化的GMF在现行的安全法规下被认为是安全的，没有危害人类的案例出现的，因此消费者大可以放心使用。事实上，当GMF被证明与传统食品本质等同或是没有发现预期或非预期的影响时，两者就无法进行区别对待了。但是任何理论、方法和技术都是有时间和空间限制的，就像量子力学正是在经典力学和经典电动力学无法描述微观粒子运动规律时应运而生的。当对GMF评价的新理论、方法和技术出现后，现有的GMF和传统食品是否还适合使用就需要进一步鉴定了。此外，在转基因食品上市过程中，很多环节都是可人为操控的。因此，规范转基因食品商业化的运作流程定会对食品安全起到重要作用。在转基因食品的研发环节，政府应该对国内研究状况进行监管。在实验室研发环节上可以适当采用开放态度，但是对于实验室研究的生物安全方面需加大力度以防止出现新物种实验室外逃现象。对于国内转基因食品立项和基金资助情况要建立强有力的监督制度，尽量跟踪国内现行的转基因项目的进展动态。对于田间试验就要做到百分之百的知情，对于其内容、安全和技术细节都应严格把关以避免其外逃入侵。其产品也需严格按照食品安全评估标准进行安全性评估，通过评估的食品才能允许上市。当然，我们也需要完善和发展已有的安全评估方法。时下生物技术突飞猛进，人工生成新的物种已不是遥不可及的幻想，对于全新的物种如果找不到传统的参照物以进行比较分析，就需要发展不依赖传统食品作为参照的、新的安全评估方法。也就是说，食品检测方法的发展趋势是不区别对待任何品种的食物，只需要将送来检测的食品按程序操作下来就可以得出其是否安全的结论。

转基因食品的快速应用说明整个产品链对其带来的利益的满意度是非常高的，这也预示着转基因食品产业依然会持续快速地增长。另一方面，转基因生物的迅猛增长也给生态学家带来了忧虑，他们认为这将不可避免地给生态系统带来负面影响。转基因生物造成的影响有直接的作用，即生物入侵，也有间接的作用，即对农艺实践的改变。转基因生物的生态学风险可以分为三类，一是基因组结构；二是转基因向野生亲属的转移；三是对整个生态系统的非确定影响。转基因向野生亲属逃逸是一个包含杂交（hybridization）和稳定（establishment）两个步骤的过程。这种逃逸的发生是必然的，其频率取决于该转基因物种附近的亲属数量和它们间的距离。由于转基因生物都是在某方面比传统生物优越的生物（简单地说，即它们更具有产率和具有优于传统食品的特质），自然选择或是人为驯化都会选择转基因生物作为幸存者。这在生态学上会减少地球生物多样性，而正是这种生物多样性维系着地球生物圈的稳态健康的存在。这一切的发生都是因为转基因生物的存在不光会替代传统生物，而且可能还会对野生亲属以外的物种产生影响。转基因物种的入侵可能通过农艺选择使得原有的品种消逝，同时可能造成其它物种的灭绝。这就得和濒临灭绝生物保护工作协调进行。此时种子资源库的建设就显得非常的重要，这对保留快要灭绝消失的物种非常实用，但对于生态系统的修复帮助不是很大。因此，要尽可能地在转基因生物向环境释放前消除可能带来的影响，或是在转基因生物生产过程中采取更为严密的防逃逸措施。此外，我们还可以想象，如果预先在转基因生物体内设置自杀式程序，一旦检测到对环境造成不可逆影响时就立即启动自杀程序以达到严控转基因入侵的目的。这种自杀式的防治方法可能是最有效、防护面最广的一种方法。

消费者对转基因食品的态度很大程度上会决定转基因食品产业的发展潜力和方向，因此，即时掌握消费者的态度和想法就显得非常重要。一方面这是由市场经济决定的，产品的供求关系是经济运作的基石；另一方面则是出于政治层面上的考虑。消费者的呼声定会影响决策者的决议。对于消费者的态度，政府也应两面考虑。为了加速某种安全评估达标的转基因食品商品化，政府应该引导消费者尽快接受使用该产品，方法主要是加大宣传力度、多渠道降低消费者对新食品的恐惧，让他们感受新食品的优点。但无论如何，政府取得消费者信任后要将判断权交给消费者自己。因为我们知道，在转基因食品的安全性问题上谁都不能给与肯定的回答。虽然现有技术方法和参照使得我们相信转基因食品是安全的，但还是会有人持怀疑态度。消除消费者可能的不满情绪的最好的办法是由消费者自行判断。事实上，很多国家都明文规定通过标签来区分转基因食品和非转基因食品。市场上转基因商品上贴上了标签（图13），一些转基因产品甚至通过降价来促进销售。不论时代如何变更，“以人为本”这一宗旨是任何行业都应遵循的底线。衷心希望转基因食品沿着它最初“造福于民”的出发点健康快速地发展，给人类带来更多的便利。

图13 国家卫生部颁布的《转基因食品卫生管理办法》中明确规定含转基因成分的食品产品应在包装上表明“转基因标识”。目前，许多国家都有将转基因食品标注出售的规定。
图片来源：《转基因食品卫生管理办法》。

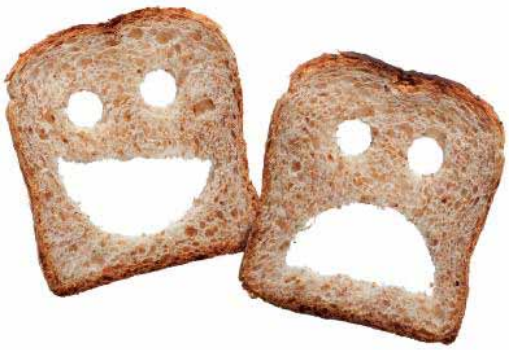
参考文献

1. Harry A.Kuiper et.al. (2001) Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. *The Plant Journal*, 27(6): 503-528.
2. Miguel A, Gama Sosa, Rita De Gasperi and Gregory A. Elder. (2010) Animal transgenesis: an overview. *Brain structure and function*, 214(2-3): 91-109.
3. Huangguang Qiu, Jikun Huang, Carl Pray and Scott Rozelle. (2012) Consumers’ trust in government and their attitudes towards genetically modified food: empirical evidence from China. *Journal of Chinese economic and business studies*, 10(1): 67-87.
4. Kiran K. Sharma, Pooja Bhatnagar-Mathur and Trevor A. Thorpe. (2005) Genetic transformation technology: status and problems. *In vitro cell development biology-plant*, 41: 102-112.
5. Domingo J. L. (2007) Toxicity studies of genetically modified plants: a review of the published literature. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 47(8):721-33.
6. Jan-Peter Nap, Peter L. J. Metz, Marga Escaler and Anthony J. Conner. (2003) The release of genetically modified crops into the environment. Part I. Overview of current status and regulations. *The plant journa*l, 33: 1-18.
7. David A. O’Brochta and Alfred M. Handler. (2008) Transgenesis and the management of vector-borne disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 627: 1-18.
8. Abdul Qayyum Rao et.al. (2009) The myth of plant transformation. *Biotechnology advances*, 27: 753-763.

9. Shyamkumar Barampuram and Zhanyuan J. Zhang. (2011) Plant chromosome engineering: Method and protocols, *Methods in molecular biology*, 701, Springer, Germany, 1-35.
10. Pallava Bagla. (2012) Negative Report on GM Crops Shakes Government’s Food Agenda. *Science*, 337: 789.
11. Rosie S. Hails. (2000) Genetically modified plants-the debate contibues. *TREE*, 15: 14-18.
12. Quan Li et.al. (2002) Co nsumer attitudes toward genetically modified foods in Beijing China, *AgBioForum*, 5(4): 145-152.
13. George Gaskell et.al. (1999) Worlds apart? The reception of genetically modified foods in Europe and the U.S.. *Science*, 285: 384-387.

五、《自然》杂志相关报道
——饱受争议的转基因农作物

近年来，有关转基因农作物掀起了一连串的夸大宣传和炒作，也引起了不断的讨论和质疑。所以本期《自然》（*Nature*）杂志特别推出了这个专题，希望能够去伪存真，帮助读者认清转基因农作物的真实面目。



科学家们大约在三十年以前就首次成功地将外源基因转入到植物当中。从那以后，转基因农作物（genetically modified crop）就给人们带来了掀起第二次绿色革命的新希望，大家希望转基因农作物能够极大地提高粮食的产量，为我们提供大量的能源和纤维，解决全球的粮食危机，提高农民的收入，同时减少环境污染，创造出一个更加绿色的世界。从很多角度来看，这场绿色革命的确已经到来了。目前全球至少有28个国家在种植转基因农作物，这些拥有特殊（更有价值）性状的转基因作物的种植面积已经超过了1.7亿公顷。

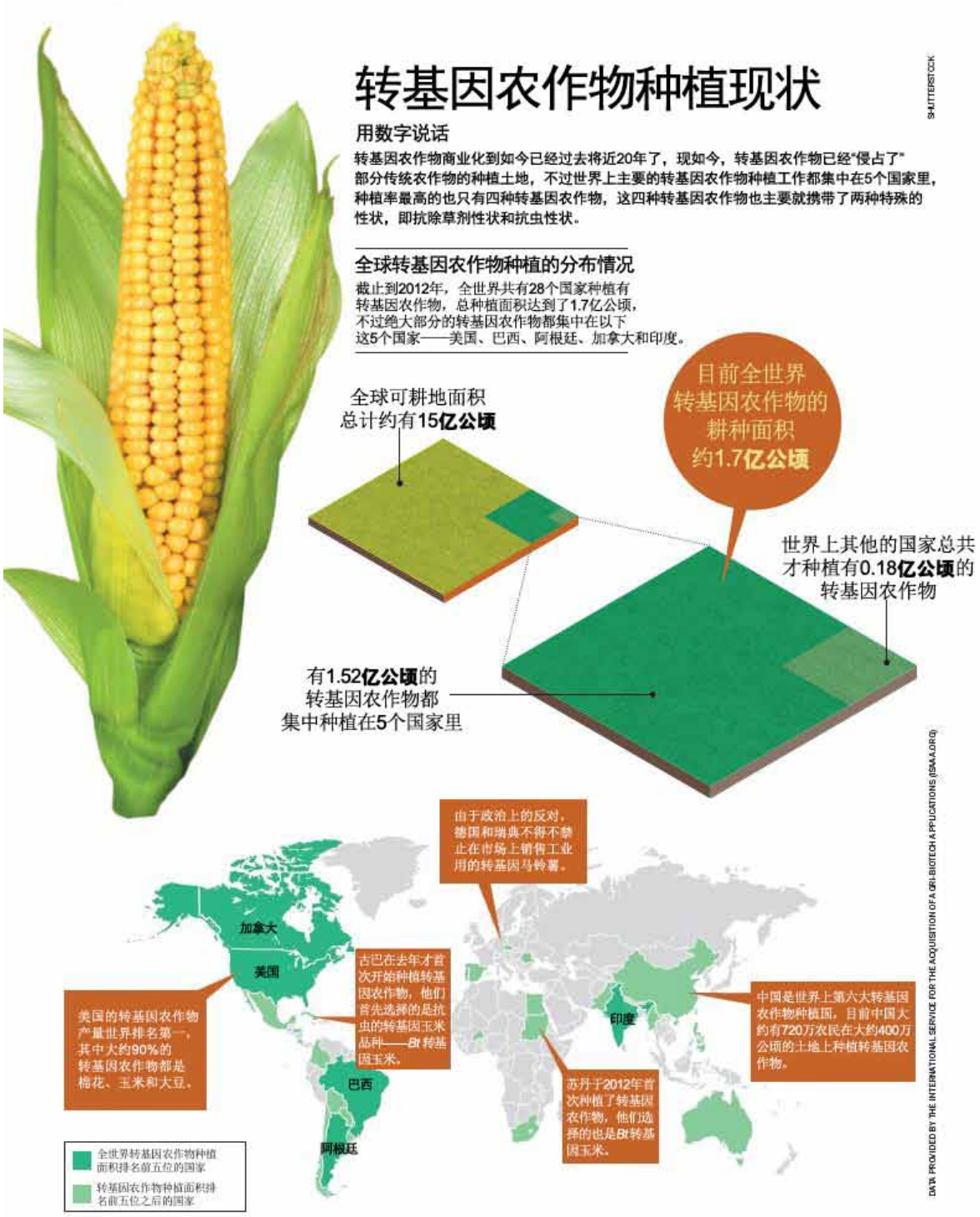
可是从另外一些角度来看，转基因农作物又是失败的。目前在转基因农作物市场中比较成功的只有少数几种携带了抗虫基因（insect-resistant）和抗除草剂基因（herbicide-tolerant）的产品。所以大家对于转基因农作物对环境是否带来了有益的改变还存在着争议，同时很多人也对转基因农作物的食品安全问题表示担忧。不过因为政治的原因或者是立场的原因，在针对转基因农作物的口水战中，不论是支持者还是反对者，双方都有意无意地忽视了事实的真相。

本期《自然》杂志将为读者揭开迷雾重重的中间地带。杂志刊登的一则新闻特写重点介绍与饱受争议的转基因农作物效用有关的试验证据。英国国际发展部（UK Department for International Development）的首席科学咨询官Christopher Whitty等人认为，发达国家对转基因农作物持有的负面态度损害了转基因农作物在发展中国家的发展潜力。而且这种负面的情绪也耽误了第一种转基因食用动物——一种生长速度较快的大马哈鱼（salmon）的上市批准进程。

不过新一代的转基因农作物可能也会“因祸得福”，比如位于中国北京的中国农业大学资源环境与食品安全中心（Center for Resources, Environment and Food Security at China Agricultural University in Beijing）的主任张福锁（Fusuo Zhang）就认为，目前在全球转基因农作物种植面积排名第六的中国未来有可能成为转基因农业的热土。

本期《自然》杂志还刊登了一篇综述，重点回顾了植物膜转运子（membrane transporters）方面的研究工作，这些工作有可能使农作物获得新的特性，比如耐应激性状（stress resistance）或者提高植物的营养素含量等。另外一篇新闻特写则重点介绍了与新

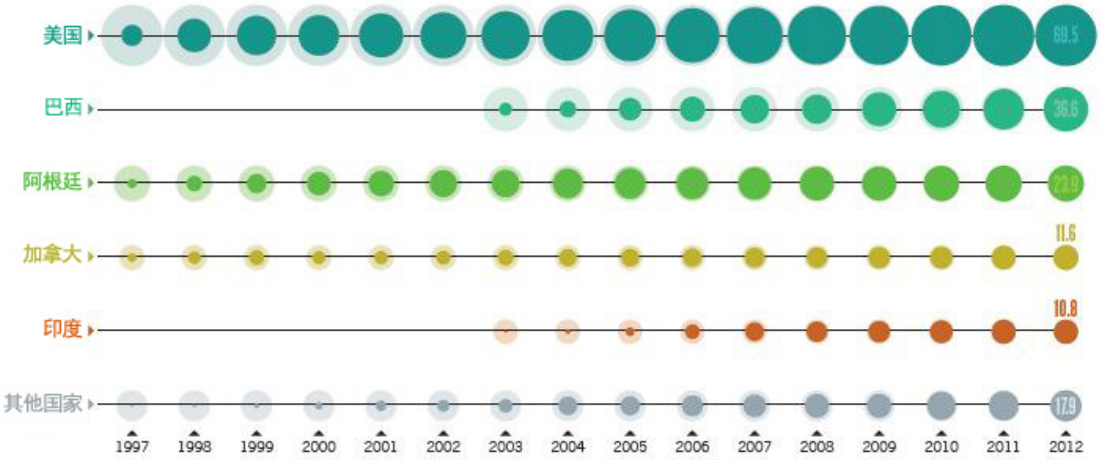
一代转基因农作物相关的遗传工程学新技术。虽然这场有关转基因农作物的论战还远没有结束，但是我们希望开展一场科学的、理性的讨论，只有这样才有助于转基因技术的健康发展。



不均衡增长

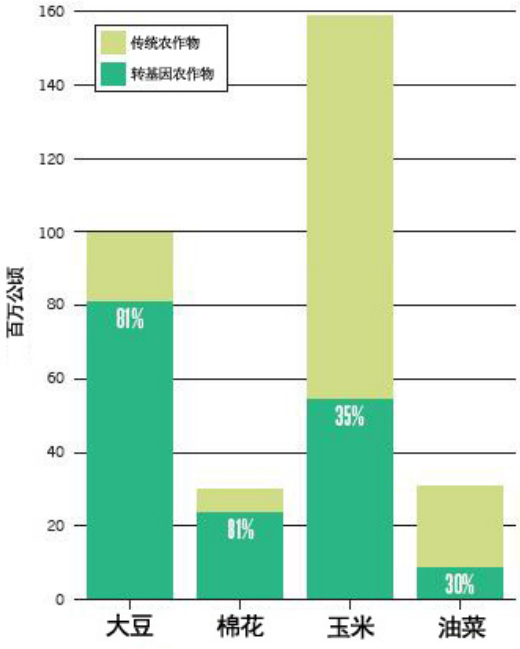
世界上很多转基因农作物种植大国的转基因农作物增长速度在逐渐减缓，不过巴西的年均增长率还保持在非常高的水平，达到了21%（约合630万公顷），巴西在2012年的种植面积比2011年还要多。

转基因农作物的种植面积（单位：百万公顷） 10 转基因农作物在2012年的种植面积



最受欢迎的转基因农作物

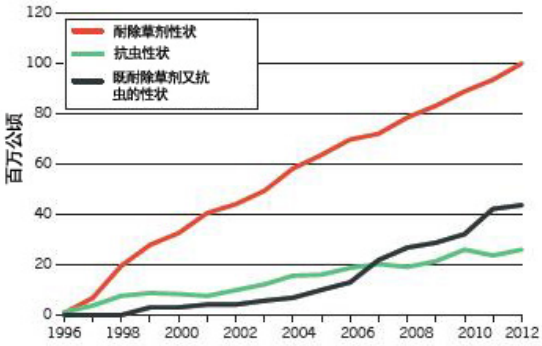
大豆、玉米、棉花和油菜是2012年最受欢迎的转基因农作物，世界上种植的转基因农作物无外乎以上这四种。



2012年全球转基因农作物种子的销售额达到了150亿美元。

最受欢迎的转基因性状

在目前已经被商业化使用的大约30种转基因性状里，最受欢迎的就是耐除草剂性状、抗虫性状和既耐除草剂又抗虫的性状。



1. 转基因农作物三大关键问题之思辨

转基因农作物孕育了超级杂草吗？我们种植转基因农作物是自寻死路吗？转基因农作物里携带的外源基因会偷偷摸摸地跑到其它天然植物里吗？下面让我们一起来认识转基因农作物的真相、谬误和不为人知的秘密。

在有关转基因农作物和转基因食品的争论当中，我们其实很难看到科学的证据，满耳充斥的全都是武断的结论和毫无根据的猜测。转基因农作物商业化至今已经将近20年了，公众对转基因农作物技术的认识也有了极大的提高。支持者们会这么说，转基因农作物极大地提高了农作物的产量（价值超过了980亿美元），减少的杀虫剂用量达到了4.73亿公斤。不过批评者也对转基因农作物对环境、社会和经济的影响作用提出了质疑。

科研人员、农民、社会活动家和转基因农作物开发公司各持己见，但是有关的科研数据却往往又得不出一个确定的结论，有时还会自相矛盾。我们知道，激烈的争论只会让复杂的真相更加难以捉摸。荷兰瓦赫宁根大学和研究中心（Wageningen University and Research Centre in the Netherlands）的农业社会经济学家Dominic Glover就表示，大家吵了这么久，还是一点进展都没有，这真是让人绝望。双方各说各的理，谁也没有听对方在说什么。

《自然》杂志将就以下这三个比较集中的问题进行讨论，这三个问题分别是：转基因农作物促进了耐除草剂超级杂草的诞生吗？是转基因农作物让印度的农民自杀的吗？转基因农作物里携带的外源基因会传播到其它天然植物当中吗？通过针对上述三个问题的讨论，我们将发现责任是如何被转移的，谣言是如何传播的，对文化差异的漠视又是如何进一步激化矛盾的。

转基因农作物孕育了超级杂草吗？是的

Jay Holder是美国乔治亚州Ashburn（Ashburn, Georgia）的一名农业顾问，他大约在5年前第一次在一位客户种植转基因棉花的地里注意到了长芒苋（Palmer amaranth，学名*Amaranthus palmeri*）。长芒苋是一种让美国东南部地区的农民非常头疼的植物，因为这种植物会与地里的棉花争夺营养、光照和水分，而且很快就会取得优势，占领整块棉花地。

鉴于此，美国农民在上世纪90年代末开始广泛种植一种由美国密苏里州圣路易斯的孟山都公司（Monsanto in St Louis, Missouri）生产的耐草甘磷（glyphosate）除草剂的转基因棉花——Roundup。农民最开始种植这种Roundup转基因棉花作物时，配合使用草甘磷除草剂取得了非常好的效果，可是后来问题就出现了。2004年，人们在美国乔治亚州某一个县的农田里首次发现了一种耐除草剂的苋属植物（amaranth），到了2011年，这种耐除草剂的杂草已经扩散到了76个县。Holder注意到有一些农民就因为这种耐除草剂的杂草，已经失去了一半的棉花地。

有一部分科学家，以及反对转基因农作物的人士警告说，由于种植了耐除草剂的转基因农作物，所以农民开始肆无忌惮地大肆喷洒除草剂，这促使自然界中的杂草也进化出了耐除草剂特性。自1996年开始种植耐草甘磷的转基因农作物以来，已经发现了24种耐草甘磷的杂草。不过不论农民是否种植转基因农作物，除草剂耐药性始终都是他们必须面对的一个问题。比如至少已经有64种杂草进化出了耐除草剂莠去津（atrazine）的特性，可是现在还没有耐莠去津的转基因农作物出现。

耐草甘膦杂草的出现其实也可以看作是他们自己成功的受害者。农民们历来都会使用多种除草剂，因为这样会有助于减少杂草产生耐除草剂抗性的机率。农民们还会用犁地和翻耕等方式去除杂草，通过这些物理方式可以破坏表层土壤，释放二氧化碳，而且这种方法绝对不会让杂草产生“耐药性”。耐草甘膦转基因农作物的出现让农民放弃了上述传统的方法，开始大规模使用草甘膦除草剂，因为草甘膦比其它大多数除草剂的毒性都要低，而且效果也不错，不需要辛苦犁地就可以消灭大部分的杂草。就这样，农民们开始年复一年地重复种植这些转基因农作物，再也不会像以前那样进行轮种，也不再使用其它种类的除草剂了。

这一状况的出现也要归咎于孟山都公司，因为他们宣称只要正确地使用草甘膦除草剂，就不会让自然界里的杂草产生耐药性。直到2004年，孟山都公司还在大肆宣传一篇历时多年时间完成的研究论文，该文章指出，轮种和使用其它除草剂无助于防止杂草产生耐药性。目前在孟山都公司杂草项目部担任技术负责人一职的Rick Cole当时在一份行业内刊物上刊登的广告里这样写道：“如果按照孟山都公司推荐的剂量来使用草甘膦除草剂，是可以有效地清除杂草的，而且我们都知道，死掉的杂草是不可能产生耐药性的。”这篇研究论文于2007年进行了发表，之后招致了科研人员的广泛批评，因为试验设计的样本量很小，所以不论采取什么措施，杂草都很难产生耐药性。

据总部位于美国奥勒冈州科瓦利斯市的国际耐除草剂杂草调查组织（International Survey of Herbicide Resistant Weeds, based in Corvallis, Oregon）的负责人Ian Heap介绍，现在世界上已经有18个国家发现了耐草甘膦除草剂的杂草，其中受害最严重的国家是巴西、澳大利亚、阿根廷和巴拉圭。孟山都公司现在对草甘膦除草剂的态度也发生了改变，他们开始鼓励农民使用多种除草剂，也鼓励采用犁地的方式去除杂草。不过孟山都公司并没有承认是他们导致的问题。Cole向《自然》杂志的记者介绍说：“由于对转基因农作物充满了信心，再加上因为经济的原因没有使用多

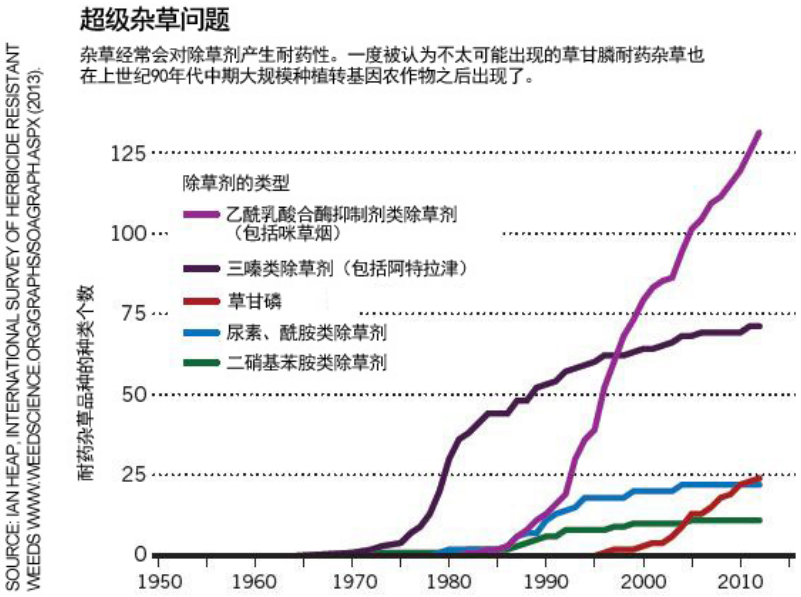
种除草剂，所以才导致了今天的问题。”

不过反过头来看，耐除草剂的转基因农作物也不是一无是处的，至少它们对环境的危害就要比工业化种植的传统农作物小得多。PG Economics公司这家位于英国多切斯特市（Dorchester, UK）的咨询公司就接受转基因技术公司的资助进行过一次调查，他们发现在1996至2011年间，全球因为种植耐除草剂的转基因棉花作物，除草剂的使用量总共减少了1550万公斤，与种植传统棉花作物需要使用的除草剂剂量相比减少了6.1%。而且据PG Economics公司的副经理，同时也是这项研究项目负责人之一的Graham Brookes介绍，转基因技术让环境影响指数（environmental impact quotient）提高了8.9%，这项环境影响指数里就包含了杀虫剂对野生生物的毒性作用等因素。很多科学家都认为这项研究是转基因技术领域里投资最大，也是最权威的环境影响研究工作之一。

不过这些影响作用能够持续多长时间呢？到目前为止，农民还在用加大草甘膦除草剂用量的办法对付耐药的杂草，当然同时也会采取犁地和使用其它除草剂的措施。由美国宾夕法尼亚大学（Pennsylvania State University in University Park）的植物生态学家David Mortensen开展的一项研究显示，他们估计到2025年时，美国每公顷耕地上的除草剂用量将会由目前的1.5公斤上升到3.5公斤，这还只是因为种植转基因农作物而带来的直接后果。

为了给农民们多一种控制杂草的选择，孟山都公司和其他一些生物技术公司，比如位于美国印第安纳州印第安纳波利斯的Dow AgroSciences公司（Dow AgroSciences, based in Indianapolis, Indiana）正在开发新的耐除草剂转基因农作物，这是可以耐其它除草剂的转基因农作物，预计会在几年之内上市。

不过Mortensen认为这些新的技术最终也会失效。可是以色列雷霍沃特魏茨曼科学研究所（Weizmann Institute of Science in Rehovot, Israel）的杂草专家Jonathan Gressel认为，完全不使用除草剂也不太现实。使用化学药物去除杂草还是要比犁地等方法管用得多，而且效率更高，对环境的危害也更小。Gressel表示，如果农民们采用更加可持续的耕种方式，同时也混合使用多种除草剂，那么问题就会少得多。



是转基因棉花让印度的农民自杀的吗？不是

今年3月，印度的环保活动家，女权主义者Vandana Shiva在接受采访时不断提到这样一个值得警惕的统计数字，自从孟山都公司进入印度的种子市场之后，已经有27万印度农民自杀了。“这简直就是一场种族灭绝行动。” Shiva愤怒的说道。

自从孟山都公司从2002年开始在印度市场销售转基因农作物的种子以来，就不断有这种传言传出，不过印度的总体自杀率从上世纪末开始就已经出现了逐步增加的趋势。

携带了一种苏芸金芽胞杆菌（*Bacillus thuringiensis*, *Bt*）基因的*Bt*转基因棉花具有抗虫特性，不过这种转基因农作物在最开始进入印度市场时可是饱受了挫折。因为这种农作物种子的价格是其它杂交品种种子价格的5倍，所以有一些经销商就“以次充好”，将普通的种子和这种转基因种子混合之后进行销售。由于这些假种子的出现，再加上厂家没有及时宣传转基因种子的正确用法，所以不论是在种植上还是在最终的收益上都没能展示出应有的表现。这些农民往往因为印度银行严格的信用系统贷不到款，所以不得不找当地的民间资本（高利贷）借钱购买种子，这无疑就给他们增加了沉重的经济负担。

不过Glover认为，不能因为这个就说是*Bt*转基因农作物增加了印度农民的自杀率。虽然财务压力是促使印度农民自杀的因素之一，但是印度农民的自杀率在*Bt*转基因棉花进入印度之后和之前并没有本质上的差别。

美国华盛顿特区的国际粮食政策研究所（International Food Policy Research Institute in Washington DC）的科研人员也搜集了有关*Bt*转基因棉花和印度自杀率的政府统计数据、学术论文和媒体报道，对此课题进行了研究。他们于2008年发表了此次研究的成果，并且于2011年更新了数据。他们发现，印度每年的自杀人数从1997年时的不到10万增加到了2007年时的12万多，但是同期印度农民的自杀人数却一直徘徊在每年2万左右。

不过据德国哥廷根大学（Georg August University in Göttingen, Germany）的农业经济学家Matin Qaim（近十年来他一直在研究转基因棉花对印度的社会和经济带来的影响作用）介绍，在度过了最开始的艰难期之后，*Bt*转基因棉花开始给印度的农民们带来收益。Qaim对印度中部和南部地区的533户*Bt*转基因棉花种植户进行了调查，结果发现这些农户在2002年至2008年间的棉花产量每英亩增加了24%，这主要是因为降低了虫害造成的减产量。这些农户在此期间的收入也因为增产而增加了50%左右。所以现在印度90%以上的棉花都是转基因棉花。

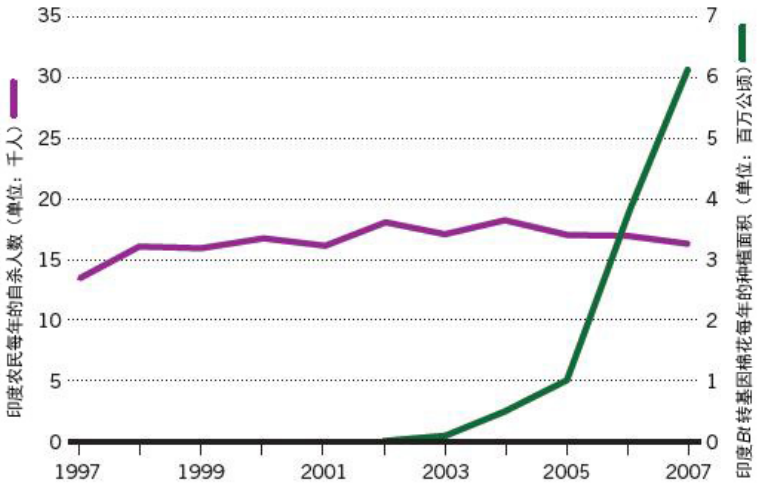
Glenn Stone是美国华盛顿大学（Washington University in St Louis）的一名环境人类学家（environmental anthropologist），他认为现在还没有确实的证据能够表明是因为种植了*Bt*转基因棉花才使棉花增产的。对此，Stone进行了原始的现场研究（original field studies），同时也对印度*Bt*转基因棉花产量的研究文献进行了分析，他发现大部分经过同行评议的研究都认为，因为种植*Bt*转基因棉花而使棉花增产的作用只局限在一个很短的时间里，也就是最开始的那几年。Stone认为这里面存在一个问题，因为最开始接受转基因作物的那批农民本身也就是经济条件比较好，受教育程度较高的，他们土地上的棉花产量原本就要比普通农民高一些。他们种植*Bt*转基因棉花之后能够提高产量还有可能是因为他们对这些“金贵的”种子更加上心，耕种更加细致所导致的。可现在的问题是，在印度几乎找不到种传统棉花作物的农民了，所以很难进行比对研究。Qaim也承认，有很多研究都发现转基因作物的经济提升表现只会在短期内出现，但是在他于2012年发表的论文里已经考虑过这些因素，并且作了对照，还是发现转基因作物的确具有经济提升作

用。

Glover认为，*Bt*转基因棉花不会使印度农民的自杀率上升，但是也不是促使棉花产量增加的唯一因素，他指出，简单地下结论说转基因技术是好还是不好这都不科学，也不客观。印度的情况还在发展之中，我们现在还不能下一个定论。

稳定的自杀率

在2002年进入印度的*Bt*转基因棉花作物与印度农民的自杀现象并没有必然的联系，这与风传的流言截然不同。



墨西哥的转基因农作物将外源基因传播到了野生植物中吗？目前还不清楚

2000年，墨西哥瓦哈卡州（Oaxaca, Mexico）山区的农民想为他们种植的玉米申请有机农作物认证，希望能够借此增加收入。当时在美国加州大学伯克利分校（University of California, Berkeley）工作的微生物生态学家David Quist答应为这些农民提供帮助，作为回报，Quist可以进入瓦哈卡州山区开展科学研究。不过Quist对这些农民提供的玉米进行了遗传学检测之后惊奇地发现，这些当地出产的玉米里居然含有一种特别的DNA片段，这种DNA是孟山都公司为了提高耐草甘膦除草剂转基因农作物和抗虫转基因农作物里外源基因的表达量而专门设计的。

由于墨西哥并没有批准转基因农作物的商业化生产，所以在当地玉米中发现的这些DNA片段只可能是来自从美国进口的转基因农产品，墨西哥当地的农民可能不清楚这些农产品是转基因产品，所以就糊里糊涂地种了下去。当时Quist怀疑墨西哥当地的玉米已经与这些转基因产品发生了杂交，所以获得了这种外源的DNA序列。

瓦哈卡州山区的这一发现被发表在了《自然》杂志上，结果这一事件引发了一系列的媒体报道和政治事件。很多人都宣称孟山都公司污染了墨西哥的玉米，要知道墨西哥可是玉米的故乡，在当地玉米已经被看作是神圣的象征。后来Quist的研究也因为技术上的失误而备受指责，比如他用来检测转基因物质的方法就有问题，他得出的结论，即认为转基因物质可以碎片化，并且分散到植物的基因组当中的观点也有问题。后来《自然》杂志撤销了对Quist论文的支持意见，甚至还差一点撤销了

Quist的论文。《自然》杂志在2002年发表了这篇文章，不过编辑对这篇文章这样评论道："文中提交的证据还不足以让我们发表这篇文章。"

从那以后，几乎就再也没有有关转基因物质进入墨西哥玉米的文章发表过了。这主要是因为相关的研究缺乏科研经费的支持，而且研究的结果也是各种各样的。比如美国俄亥俄州立大学（Ohio State University in Columbus）的植物生态学家Allison Snow就曾经在2003至2004年间到墨西哥瓦哈卡州山区进行过采样研究，他一共从125块田地里采集了870份玉米样品，可是并没有在玉米的种子里发现转基因遗传物质。

可是墨西哥国立自治大学（National Autonomous University of Mexico in Mexico City）的分子生态学家Elena Alvarez-Buylla与现在就职于美国加州大学伯克利分校的植物分子遗传学家Alma Piñeyro-Nelson曾经于2009年也进行过一次类似的调查，他们也检出了当年Quist检出的那种转基因物质。Quist曾经在2001年对瓦哈卡州山区的23个地点进行采样，最后从3份样品中检出了那种转基因物质，后来他又在2004年对上述地区重新进行了采样，结果又从两份样品中检出了那种转基因物质。Alvarez-Buylla等人还进行过另外一次研究，他们对从墨西哥境内1765个农户那里收集来的玉米种子样品进行了检测，结果发现其中有少部分玉米种子里含有转基因物质。其他一些在当地社区里开展的研究也多次发现了转基因物质，不过这些研究成果极少得到发表。

Snow和Alvarez-Buylla一致认为，取样方法上的差异有可能导致检测结果出现偏差。Snow就解释说："由于我们的采样地点不一样，所以他们发现了转基因物质，可我们就没有发现。"

关于转基因物质是否已经污染墨西哥玉米的这个问题，科学界也持有两种截然不同的观点。墨西哥政府也在纠结要不要批准*Bt*转基因玉米的商业化问题。

Snow认为，目前看来，转基因物质污染墨西哥当地的玉米似乎已经是不可避免的了。有一些证据表明这种污染已经发生了，但是我们现在很难评价污染的程度，也无法估计其可能导致的后果。Alvarez-Buylla认为，转基因物质的播散将损害墨西哥玉米的品质，甚至使墨西哥玉米的性状发生改变，比如让墨西哥玉米的外形或者口味发生改变，这对于当地的农民可是意义重大的一件大事。如果转基因物质真的已经污染了墨西哥玉米，那么即便是有可能去除这些外来的遗传物质，那也会是非常困难的一件事。批评人士还怀疑这些积累在墨西哥当地植物基因组中的转基因性状最终还会影响植物的适应性，比如转基因物质有可能会耗尽植物的能量和资源，又或者会破坏植物正常的代谢进程。

Snow表示，到目前为止，还没有证据表明转基因物质污染造成了不良的影响。她希望如果目前已经商业化使用的转基因物质污染了其它植物，也只会对其它植物的生长造成中性的或者是有利的影响。2003年，Snow等人发现，如果将*Bt*转基因向日葵（*Helianthus annuus*）和野生向日葵杂交，得到的转基因子代向日葵还是需要像对待亲代向日葵一样仔细地照料，但是这些子代向日葵会比较耐虫害，而且和非转基因向日葵相比，产子量更高。不过据Snow介绍，还很少有人开展类似的研究，因为持有这项技术的公司不愿意让科研机构进行这项试验。

墨西哥的故事还没有结束，事实上，转基因物质"泄露"所造成的影响并不仅限于对环境造成的影响。比如墨西哥国际玉米及小麦改良中心遗传资源项目组（genetic resources programme at the International Maize and Wheat Improvement Centre in El Batan, Mexico）的主任，农作物专家Kevin Pixley就认为，那些对转基因技术持有异议的科学家漏掉了一个关键点，那就是大部分科研人员都不能理解墨西哥人民对玉米持有多么深厚的感

情，墨西哥文化与玉米有多么深厚的渊源。

对于转基因农作物，不论是支持的一方还是反对的一方，如果都只关注事件中自己感兴趣的那一部分，那就好像盲人摸象一样，难免会出现问题。转基因农作物不能够解决发展中国家或者发达国家面临的所有农业问题，正如Qaim说的那样：“转基因农作物可不是一枚银子弹（意指解决问题的王牌杀手锏）。”但是一味地诋毁转基因技术同样不能解决问题。事情的真相其实就在中间的某个地方。

2. 新的转基因农作物品种

新一波的转基因农作物正在大踏步地走向市场，而且这些新产品的问世将有望缓解人们对转基因食物（Frankenfood）的恐惧和担忧。

据Anastasia Bodnar介绍，在第一批转基因农作物开发的时候，他们给大家描绘了一个美好的未来：希望能够开发出富含超级营养素的农作物，提高全世界的粮食产量，彻底解决全世界的饥饿问题。

可是到目前为止，这项技术还只是对农业生产有所帮助，比如使农作物具备耐除草剂的特性，或者具备抗虫特性。这的确可以提高农作物的产量，也可以减少杀虫剂的使用量。

不过美国威斯康辛州Biology Fortified这家非营利转基因推广组织的生物技术专家Bodnar认为，绝大部分普通消费者是看不到这些改善的。而且这些改变还有可能成为转基因技术反对者的把柄。这些反对者认为转基因技术会进一步巩固少数几家生物大公司的特权，给他们带来高额的利润，同时这也是科研人员一味改造自然，无视科技危险的例证。

不过幸亏有了新一代的转基因农作物，随着这批产品逐渐走向市场，这一切将有望得到改变。这些新一代的转基因农作物将会解决一系列的新问题：比如不会变色的苹果和黄金大米，再比如可以改善最贫穷国家人民营养状况的，富含多种营养素的黄金香蕉（bright-orange banana）等。

使用更先进的、高精度植物基因组编辑遗传操作技术可以开发出更多的新一代转基因

农作物。使用这种技术可以减少使用外源基因对商用作物进行遗传改造的需要，这种方法能够最大限度地减少人们对转基因作物的批评。当然这也可以打消公众对转基因食品的担忧。

不过事情可能也不会这样发展。不论这些转基因作物在实验室里的表现如何，它们都必须通过昂贵的、细致的农田试验努力地展现自己的价值，而且还要历经多重监管的严格审查，最终让充满疑虑的公众放心。美国华盛顿大学（University of Washington, Seattle）专门研究新技术相关政治和社会问题的Philip Bereano认为，最后这一点将是最难以完成的

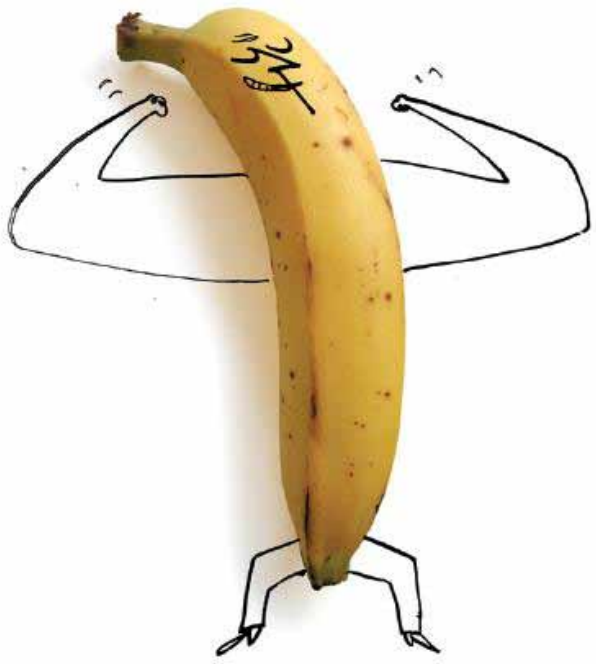
一步。Bereano指出，大家对转基因农作物的担忧涉及到了方方面面，从食品安全、用标签表明转基因成份到伦理道德问题等无所不包。“人们非常关心自己子女的食品安全问题，这一点是无论如何都不会改变的。” Bereano这样说道。

不过大部分从事转基因作物研究的科研工作者似乎都非常自信地认为，转基因产品的寒冬已经过去了，而且前途是一片光明的。比如Bodnar就说道：“如果你还在寻找转基因农作物的黄金时代，别找了，眼下就是。”

第一批转基因农作物的主要销售对象是农民，因为这些产品可以使农民的耕种工作变得更容易，而且使农作物的产量更高，增加农民的收入。比如在1996年，美国密苏里州圣路易斯的孟山都生物技术公司（Monsanto of St Louis, Missouri）就推出了第一款畅销的转基因农作物产品——Roundup Ready。这是一种转基因大豆，可以耐Roundup这种同样由孟山都公司出品的草甘膦类除草剂。农民们只需要使用草甘膦这一种除草剂就可以去除农田里的大部分杂草，再也不用像以前那样使用好几种除草剂了，而且还不会对农作物造成伤害。很快，市场上又陆续出现了其它几种转基因农作物产品，比如孟山都公司推出的*Bt*转基因棉花等，这种转基因棉花可以生成苏云金芽胞杆菌表达的一种毒性蛋白，杀死棉铃虫（bollworm），从而减少杀虫剂的用量。

新一代的转基因产品还是会把农民当作主要的客户群。比如位于英国Harpenden的Rothamsted研究中心（Rothamsted Research in Harpenden, UK）里的科研人员就正在开发一种新型的转基因作物，与*Bt*转基因棉花相比，种植这种作物可以进一步减少杀虫剂的用量，甚至可以完全不使用杀虫剂。该技术的关键是一种“警报信息素（alarm pheromone）”，有一些野生植物可以表达这种警报信息素，这种信息素可以模拟温带最主要的农田害虫——蚜虫（aphid）在遭受袭击时释放的报警信号。如果小麦携带了这种基因，那么就可以骗过蚜虫，让它们以为附近有危险，赶紧逃离小麦。与*Bt*转基因棉花以及其它一些转基因作物不同，种植这种转基因小麦将完全不需要使用杀虫剂。

据Rothamsted研究中心的首席执行官Maurice Moloney介绍，他们开发的这款产品现在正在进行农田试验。Moloney等人开发的这款产品在温室里的表现是相当不错的。如果在农田里也能表现得同样优异，他们将对其进行更进一步的优化，进一步增强它的抗虫特性，使这种产品适于大规模的农业生产。Moloney还表示，他们中心还会继续努力，寻找更多的植物天然保护机制，并且想办法利用这些天然机制开发出更多的抗虫农作物产品。比如还有一种挥发性的化学物质可以驱逐毛虫（caterpillar）和钻蛀害虫（stem borer）这一类的害虫。如果他们也能够利用这种化学物质，那么抗虫转基因农作物的适用范围将会进一步的扩大。



满足部分人的需求

还有很多从事转基因农作物开发的科研人员专挑大公司忽视的领域下手。比如在瑞士苏黎世的瑞士联邦理工学院（Swiss Federal Institute of Technology in Zurich）里就有一个由Herve Vanderschuren领导的植物生物技术课题小组，他们专攻木薯（*Manihot esculenta*）这种热带灌木类植物，因为在很多发展中国家里，木薯是当地居民的主要口粮作物。据Vanderschuren介绍，他之所以关注这个物种是因为没什么人关注木薯的育种和改良问题，这方面也没有太大的投资。

Vanderschuren的课题组选择了一种天然抗木薯花叶病毒（cassava mosaic virus）的木薯，并对这个品种进行了遗传学改造，还在其中插入了另外一种抗病基因，使其对木薯褐色线条病毒（cassava brown streak virus）也产生了抗性，这样得到的转基因木薯就对两种主要的病害病毒产生了抗性。天然的抗病毒木薯已经可以满足当地的需要和市场需求。Vanderschuren表示，这种对当地需求的适应性是我们在开展科学研究工作中需要考虑的一个非常重要的部分，而这一点恰恰是被很多只关注全球市场的大型农业科技企业所忽视的。Vanderschuren的团队已经成功开发出了这种产品，现在正在非洲寻找合作伙伴进行农田试验，进一步确定这种木薯是否适合在当地种植。

发达国家开展的转基因作物开发工作则主要集中在如何提高农作物的营养素含量这一方面。比如最近非常著名的黄金大米就是其中的一个例子，大米是全世界一半人口的主要口粮。黄金大米之所以能够呈现出金黄色是因为里面额外添加了β胡萝卜素（β-carotene），β胡萝卜素是维生素A的前体物质，而东亚人习惯的饮食搭配里往往就比较容易缺乏维生素A。经过了艰苦的开发工作，也承受了众多转基因技术反对者的阻挠，第一代黄金大米最终于2000年问世了，现在黄金大米正在菲律宾进行农田试验（I. Potrykus *Nature* 466, 561; 2010）。该产品将通过最后一道审批手续，有望于2014年上市销售，到达农民们的手中。

还有很多人也在从事类似的工作，比如位于澳大利亚布里斯班的昆士兰大学热带农作物及生物群落研究中心（Centre for Tropical Crops and Biocommodities at Queensland University of Technology in Brisbane, Australia）的主任James Dale就正在开发一种抗香蕉巴拿马病（Panama disease，香蕉巴拿马病是一种由真菌导致的疾病，能够使香蕉枯萎，给整个香蕉产业带来毁灭性的打击）的香蕉，他们同时还会提高这种香蕉里β胡萝卜素和另外一种含铁营养素的含量。“微量元素缺乏的问题在乌干达和非洲地区非常普遍，而香蕉又是非洲人民主要的粮食作物，所以我想开发这种转基因香蕉。” Dale解释说。目前这款转基因作物正在澳大利亚进行农田试验。

虽然在新一代转基因作物中绝大部分产品还是以农民为主要销售对象，不过还是有一些产品选择以食品工业的中间环节为销售对象。比如位于美国西弗吉尼亚州美国农业研究服务中心阿巴拉契亚水果研究站（US Agricultural Research Service’s Appalachian Fruit Research Station in Kearneysville, West Virginia）的分子植物生物学家Chris Dardick就向我们介绍说，梅子（plums）很难加工成工业化的食品，因为在去除坚硬的木质梅子核时会产生很多的木屑。所以Dardick选择了一种常常会没有核的梅子品种的基因，开发出了一款彻底无核的梅子新品种。他们最关心的是食品加工厂和消费者会不会欢迎他们的产品。幸好他们得到的绝大部分反馈都是正面的评价。

当然，也有直接面向终端消费者的转基因产品。比如“北极苹果（Arctic Apple）”，

这种苹果切（咬）开之后不会像普通苹果那样立马变成褐色。这是因为在北极苹果里插入了一种来自其它苹果的基因，这种基因会使苹果里多酚氧化酶（polyphenol oxidase）的表达量降低，而多酚氧化酶在让苹果变成褐色的生化反应中又是最关键的一种酶，所以这种北极苹果才不会那么容易变色。

据这种北极苹果的开发者，加拿大英属哥伦比亚省Okanagan Specialty Fruits公司（Okanagan Specialty Fruits in Summerland, British Columbia）的主席Neal Carter介绍，他和他的妻子都是苹果种植户，现在苹果的消费量一直在下降，所以他们很担心。据Carter介绍，现在苹果在超市里的地位已经开始被胡萝卜和其它新鲜的、洗净切好、方便食用的袋装农产品所取代。如果苹果在食品加工过程中不会变色，可能会对苹果的销售有所帮助。Carter还表示，如果这种北极苹果的市场反应不错的话，他还会陆续推出北极酪梨（avocado）、北极梨（pear），甚至是北极莴苣（lettuce）等新产品。

更先进的技术

目前开发出的绝大多数转基因产品基本上使用的都是比较粗糙的、“过时的”技术，比如直接将吸附有外源DNA物质的纳米金颗粒注入目标作物细胞里的基因枪技术（gene gun）。我们知道通过基因枪技术注入的外源DNA片段会在目标细胞基因组的任意位点进行插入。不过据美国明尼苏达大学（University of Minnesota in St Paul）的Dan Voytas介绍，最新的遗传操作技术能够以无与伦比的精确度对基因进行编辑操作。比如转录活化因子样效应核酶（transcription activator-like effector nucleases, TALEN）和锌指核酶（zinc-finger nucleases, ZFN）都能够根据试验者的需要，在特定的位点对DNA进行特异性切割。然后通过对断裂DNA的修复过程进行操控，这样就可以在基因组中特定的位点插入我们所需要的特定突变，或者进行单碱基，乃至对整个基因进行替换的操作。Dan Voytas就是专门研究这项技术的专家。他表示，有了这种技术，我们就可以对目标作物的基因组进行精确的遗传插入操作，这样我们就可以明确地知道外源基因插入在目标作物基因组里的准确位置，还能够让外源基因插入最适合表达的位点，使它的表达量达到最大。同时也可以尽可能降低外源基因对目标作物带来不利影响的风险。Voytas的科研团队已经通过实验表明，采用锌指核酶技术可以对烟草植物进行改造，使其具备耐除草剂特性。其他的课题组也使用锌指核酶技术培育出了耐除草剂的玉米新品种；还有课题组使用TALEN技术对水稻进行了改造，剔除了水稻基因组中对枯萎病病菌（blight）易感的基因，打造出了抗病转基因水稻。

不过Voytas也承认，这种新技术的最大威力还是在于能够对作物的原生基因进行改造，使其具备新性状。比如可以不用对植物进行遗传学改造，通过插入耐旱细菌基因的方法使其变得耐旱（*Nature* 466, 548–551; 2010），我们只需要对植物的天然基因进行一些调整，就可以使植物获得耐旱特性。Voytas解释说：“这种核酶技术发展到下一阶段就是要进入基因内部，对基因进行调整。”

美国北卡罗来纳州Precision BioSciences生物技术公司的合伙人Derek Jantz对于不需要使用外源基因，只需要对植物自身基因进行调整的新技术也感到非常兴奋。比如所有的植物都携带有细菌*EPSPS*基因的类似物。我们知道孟山都公司的Roundup Ready产品其实

就是插入了一个*EPSPS*基因。如果我们对植物的基因组进行某种改造，应该就可以让植物获得相似的耐除草剂特性，根本不需要插入外源基因。

与其他在企业里从事遗传改造工作的科研人员一样，出于保密的考虑，Jantz也不太愿意详细介绍他们的研究工作。不过他还是用非常通俗的话语告诉我们：“我们正在从事的工作就是想办法充分地利用现有的、丰富的基因组功能数据。”

新型育种技术

还有一些科研人员正在利用遗传修饰技术加快传统的育种进程。比如美国农业研究服务中心阿巴拉契亚水果研究站的植物科学家Ralph Scorza就正带领他的研究小组对梅子树进行遗传学改造。这种改造过的梅子树只能在温室里生长，不过由于插入了白杨树的基因，这种梅子树的花期会大大地提前，而且花期可以持续很长的时间。这就给科研人员提供了绝佳的机会，可以在一整年的时间里开展育种工作，通过选择、杂交以及其它一些传统的育种技术，在短短几年的时间里就能培育出具备某种特殊性状的新品种。而在过去，这样一套工作往往需要好几十年的时间才能够完成。等到新品种培育成功之后，我们又可以去除促进开花的外源基因，这样就能够得到一株非转基因的遗传改造新品种。Scorza等人现在就正在利用这种快速育种法培育能够抗洋李痘疱病毒（plum pox virus）、同时梅子含糖量还有所提高的梅子树新品种。还有一些科研人员也在采用这种技术培育其它的新品种，比如柑桔等。

美国的管理部门已经表示，采用这种新技术培育的不含外源DNA物质的新品种不会被当作传统意义上的转基因作物对待，而且也能够打消公众的担心。美国加州大学河边分校（University of California, Riverside）的分子遗传学家Alan McHughen就认为：“这种遗传改良作物至少有希望打消一部分转基因技术反对者的顾虑。”

不过Bondar也强调，他们不会停止转基因作物的开发工作。Bondar指出，目前遗传改造工作的进入门槛已经很低了。生物黑客早就已经在自家的车库或者空闲的客房里对细菌进行遗传学改造的工作了，所以他们将来一定会对植物或动物进行类似的改造，我们根本无法阻止他们。

Bondar说道：“转基因技术的难度一直都在降低。我相信人们都渴望这种东西。我认为现在是时候让每一个人都拥有能够满足自己需要的转基因作物了。如果市场不能从上至下的满足人们的需要，那么大家一定会自下而上地自己来满足自己的需要。”

原文检索：

Natasha Gilbert. (2013) A HARD LOOK AT GM CROPS. *Nature*, 497:24-26.
Daniel Cressey. (2013) A NEW BREED. *Nature*, 497:27-29.

YORK/编译

GeneCopoeia™
Expressway to Discovery

基因功能研究专家

慢病毒完整解决方案

- **40,000**个现货克隆，即选即包，完全**免费**！
- ORF表达克隆的病毒低至**8000**元；miRNA、shRNA克隆的病毒低至**3000**元！
- 滴度高达**10^{10}**copies/mL！
- 最快**20**个工作日内送货！
- 已发表几十篇**高分文章**，详情见官网。

活动时间：6月13日-12月31日

注：以上荧光图为真实实验结果图

Genecopoeia（复能基因） Tel：400-6020-200 / 020-32068595 Email：sales@fulengen.com Web：www.genecopoeia.com.cn

热点

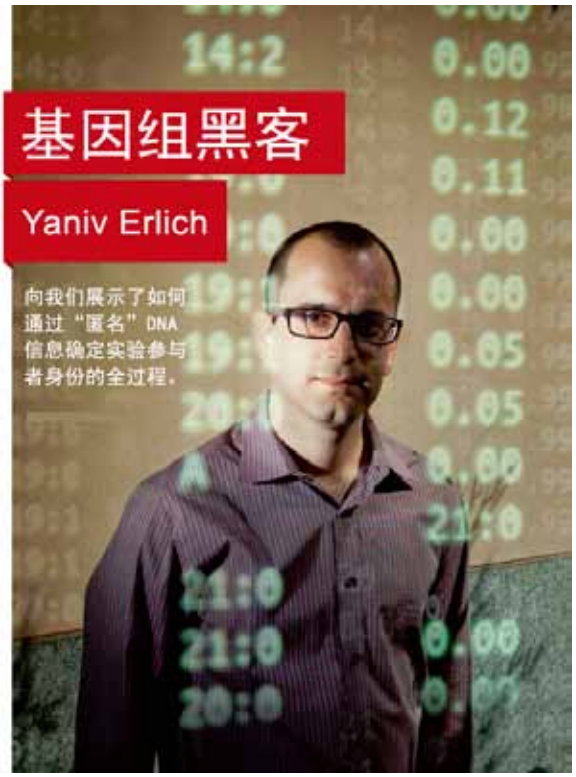
Hot Topics

基因组黑客

夜已经很深了，以色列一家大银行的监视器镜头里突然冒出来一个人，他正在打开这家银行信息技术部门紧锁的大门。在夜晚，只有刷指纹才能打开这道门，但是监视器里的这个人却连碰都没碰一下指纹锁，他直接按下了门旁连接警卫处的对讲器。铃声响起之后，这个人马上拿出了他自己的手机，然后对着对讲器按下了手机上的数字“8”这个按键。让人意想不到的是，手机的按键声居然打开了这扇门。这个人从容不迫地走进了房间，而且还得意地对着监视器镜头耸了一下肩，那意思太明显不过了，这道门对他来说简直就是小菜一碟。

这段视频拍摄于2006年，Yaniv Erlich就是视频中的那个人，他自己也认为那件事是他最得意的一次黑客经历。Erlich曾经在以色列特拉维夫（Tel Aviv）一家安保公司工作过两年时间，他在这家公司的主要工作就是利用各种技术手段突破银行的安保系统，2006年的这段录像只是他的一项工作而已。不过在那之后，年仅33岁的计算生物学家（computational biologist）Erlich又干回了他的老本行——生物学。Erlich现在就职于美国马萨诸塞州坎布里奇的白头生物医药研究院（Whitehead Institute for Biomedical Research in Cambridge, Massachusetts），他正在探索人类基因组数据的新用途，这一次他的目标还是突破各个数据库，不过这些数据库里储存的是全球公民的个人信息。

Erlich的实验室在今年的1月发表了一篇论文，文中介绍了如何利用公共资源，通过交



叉比对（cross-referencing）的方法确定遗传学研究参与者的个人身份。之前的研究发现，人们“遗留”在各个数据库里的匿名遗传学信息其实还是会泄露他们的真实身份信息的，只需要将这些数据与个人的DNA进行一下比对就可以了。而且Erlich发现，只需要连上互联网就足以完成这一切工作。

Erlich的这项工作向我们揭示了一个迫在眉睫的伦理道德难题。现在科研人员们正越来越频繁地将患者的个人信息与其它各种类型的信息，比如社交媒体上的信息或家族谱系网站上的信息等结合在一起，所以对个人隐私的保护似乎变得越来越困难了。对这些相互之间存在关联的信息进行研究可以得到很多有（商业）价值的发现，但是同时也会泄露个体的隐私，尤其是有可能泄露科研人员和临床医生们信誓旦旦承诺过一定会替人保密的个体遗传信息和医疗信息，这些信息一旦被公开，甚至会影响到人们的工作、保险和社交关系等生活中的各个方面。

Erlich的这项研究发现让整个科学界都感到不舒服，更是让公众对医学研究的私密性提出了质疑。不过Erlich可不这么认为，他们认为自己的工作意义重大，给全世界的隐私系统都敲响了一记警钟，并且能够督促科研人员让他们更加诚实，最终促进科学健康的发展。比如今年3月，位于德国海德堡的欧洲分子生物学实验室（European Molecular Biology Laboratory in Heidelberg, Germany, EMBL）就宣布，他们之前公布的HeLa细胞系基因组测序结果不会透露任何有关Henrietta Lacks女士（HeLa细胞就是由她的宫颈癌细胞构建而成的细胞系）及其后人的私人信息。Erlich对此消息做出了尖锐的回应，他在推特上写到：“EMBL的这个谎撒得真漂亮！”果然，不久之后，这段序列就从公共数据库中被拿掉了，EMBL也承认这段序列有可能会泄漏Lacks家族成员的个人信息，因为之前的很多研究也都陆陆续续地公布过HeLa细胞的部分遗传信息。

曾经给Erlich的研究提供过建议的白头研究院的院长David Page评论道：“绝大部分科研人员不论是出于对整个科研工作的考虑，还是出于个人的考虑，都不会涉及这个问题。但是Erlich这么做可不是为了出风头，这事关勇气，他感兴趣的问题是整个宇宙是如何整合在一起的，这是他工作的核心。”

生物黑客

早在1983年，当Erlich还是一个小孩子时，当他看过电影《战争游戏》（WarGames）之后就立志要自学计算机编程，因为在这部电影里，年轻的男主人公就黑进了一个政府计算机系统，而且差一点就引发了一场“全球性热核战争（global thermonuclear war）”。Erlich原本认为他读大学之后会选择数学和物理学专业，但是一位朋友告诉他其实生物学也需要很多的数学知识，所以他最终选择了计算神经科学专业（computational neuroscience）。2006年大学毕业之后，Erlich又来到美国纽约大名鼎鼎的冷泉港实验室继续深造，并且在这里获得了遗传学博士学位。

Erlich在他的博士生导师，分子生物学家Greg Hannon的指导下开发出了被他戏称作“DNA数独（DNA Sudoku）”的DNA测序新算法，使用这种算法可以同时对上万个标本进行DNA测序，还可以让科学家借助计算机的力量从一堆DNA中快速找出携带罕见突变的基因，并且确定这个基因来自哪一个标本。Erlich现在就在使用这种方法对年轻的阿什肯纳兹犹太人（Ashkenazi Jews）进行检测，希望找出这些年轻人是否携带致病突变，以给他们的婚姻提供参考信息（类似于婚前遗传学检查）。

Erlich于2011年在白头研究院建立了属于他自己的实验室，就在这时，他也认识了美国科罗拉多州的一名妇女Wendy Kramer，这位妇女的儿子希望可以找到他的“亲生”父亲——一位匿名的捐精者，他们打算对专为消费者建立的遗传谱系（genetic-genealogy）数据库进行检索，看看是不是能够从中找出和这孩子DNA相似的人。

Erlich也很想知道他和大学生Melissa Gymrek共同开发的一款计算机程序是不是能够破解人类研究基因组数据库里的基因组信息，找出这些基因组的真实来源（即某段DNA的所有人信息）。Erlich等人开发的这个名叫lobSTR的计算机程序首先会将DNA序列信息收集起来，然后对其中的一种重复遗传学标志物——短串联重复序列（short tandem repeats, STR）进行分析。我们知道，在确定人物身份时经常会用到STR标志物。那么Erlich是不是能够从匿名的数据信息中提取到有价值的STR，并且在公共数据库中找到与这段STR匹配的人的身份信息呢？“由于我有安保工作的专业背景，而且我有lobSTR软件，所以我就会想‘如果将这些资源结合起来，我是不是就可以破解个体基因组背后的身份信息呢？’”

说干就干，Erlich等人拿2007年公开发表的J. Craig Venter的全长基因组序列进行了试验。他们首先使用lobSTR软件得出了Venter Y染色体的STR特征图谱，然后对家族谱系公共数据库进行了Y染色体检索，结果还真找到了几个匹配的人，知道了这几个人的姓氏（surname）。然后他们进一步对这几个人进行了重点的检索，结果在公共数据库里发现其中有一个人的特征和J. Craig Venter的信息非常匹配——地址、年龄和姓氏都对。实际上，Venter早就公开表示过这段序列的确是他本人的基因组测序结果，所以Erlich才选择用Venter进行试验，这样就不会有侵犯他人隐私的风险。但是这就等于提前知道了答案，所以不能确定这套方法对于其他人是不是也同样有效。

原理论证

Erlich将这一发现写成论文投给了《科学》（*Science*）杂志，不过论文的评审要求Erlich等人再拿一个真正完全匿名的人进行一次试验，以验证这套方法的真实可靠性。于是Erlich研究小组又将千人基因组计划（1000 Genomes Project）里的一部分男性当作了试验目标。在美国新泽西州Coriell医学研究所（Coriell Institute for Medical Research in Camden, New Jersey）的网站上可以找到这群人的详细资料，包括他们的年龄和具体的家族谱系资料等信息，Coriell医学研究所提取了这些人的组织细胞构建了细胞系，然后将这些细胞系分发给部分科研人员进行了测序。

Erlich等人使用lobSTR软件对千人基因组数据库里这部分人的STR进行了分析，然后对Y染色体数据库进行了检索，找出了最相似的那几个人的姓氏。缩小范围之后，后面的事情就比较简单了，只需要用这几个姓氏对其它的公共数据库进行检索，找出年龄、地址和家族信息都相符的人就不会错。Erlich小组用这种方法确定了差不多50个人的身份，其中包括DNA捐赠者和他们的亲戚。后来据Erlich回忆，当他第一次看到检索结果后自己都吓了一跳，没想到他们的方法这么轻易地就破解了匿名DNA的身份信息，以至于他不得不到外面溜达了一圈才让心情平复下来。

另外一些遗传学家其实也早发现了匿名遗传信息隐藏的安全漏洞。比如美国亚利桑那州凤凰城转化基因组学研究所（Translational Genomics Research Institute in Phoenix, Arizona）的计算生物学家David Craig早在2008年就曾经报道过，他可以利用个体DNA样品透露的信息确定这个人是否参与过全基因组关联研究（genome-wide association study, GWAS），哪怕参加这次研究的有成百上千的人，Craig也只需要这份研究报告总结里的统计学数据，就可以得出正确的结论。

这些“研究成果”促使美国国立健康研究院（NIH）的政策制定部门决定，将GWAS数据从公共数据库里撤掉，同时要求科研人员必须获得允许才能浏览这些信息。对于这项决定，很多科研工作者都表示不能接受，因为这样一来他们就很难搜集不同研究项目的数据了。

Erlich的研究进一步加剧了这个问题，因为Erlich发现即使不涉及其它研究数据，只需要使用互联网上公开的数据，还是可以通过某个人自己的遗传数据确定他的身份。Erlich意识到一旦他的研究成果发表了，极有可能会引起公众的愤怒，所以他决定先征求其他科研人员和伦理学家们的意见。Erlich说：“大家（科研人员）都很关心NIH是否会关闭数据库，也很关心公众看到我的研究成果之后是不是就再也不会捐赠细胞等材料供我们研究了。”所以Erlich也和NIH的官员取得了联系，并且在去年的12月亲自到美国马里兰州贝塞斯达的NIH总部和他们进行了会谈。之后，对Coriell数据库提供资助的NIH下属的美国医学研究所（National Institute of General Medical Sciences）决定，将他们网站里的年龄信息隐去，公众将无法看到这些信息。

“大家（科研人员）都很关心NIH是否会关闭数据库，也很关心公众看到我的研究成果之后是不是就再也不会捐赠细胞等材料供我们研究了。”

拒绝透露信息

最终，Erlich还是在今年的1月份发表了他的论文，不过他没有透露任何个人的姓名等信息，也没有详细介绍每一步破解步骤。Erlich指出，其实他们很纠结，因为作为一名科研工作者，实际上有一种迫切的愿望，那就是想非常详细地向别人介绍你的科研工作。可是你又不能这么做，因为这会向全世界泄漏个人的隐私。

我们还是不知道将来应该如何处理个人的隐私信息。像打鼹鼠游戏（whack-a-mole）那样发现一个问题再解决一个问题看起来是远远不够的。

不过有一些遗传学家认为，公众现在对公开个人信息其实已经比较习以为常了，而且这也没有给他们带来任何的伤害。可是包括美国田纳西州纳什维尔市范德堡大学（Vanderbilt University in Nashville, Tennessee）的Brad Malin在内的众多科研人员却不这么认为。Malin认为，虽然很多人都想当然地认为，由于现在信息的流动要比十年前自由得多，所以根本就毫无隐私可言，可事实并不是这样的。大家还是希望某些个人信息不要公之于众，尤其是有关个人健康和医疗情况的信息。不过至少到目前为止，还没有通过破解匿名遗传数据得来的个人信息被公开，所以我们现在也不能肯定这些遗传数据就不存在泄漏个人隐私的风险。

据美国人类基因组研究院（US National Human Genome Research Institute, NGHRI）的院长Eric Green介绍，NIH正在想办法既能够让大家自由地获取数据信息，同时又可以保护个体的隐私。据Green介绍，有人希望尽可能地开发信息，让更多的人能够自由地获取这些信息，但是这样就无法控制数据的用途，也不能保护个人的隐私和机密。Green等人一直都在想办法在这两种极端中间寻找一个平衡点。

严格的审查制度

目前，任何一个可以上网的人都可以浏览千人基因组计划的数据库。不过科研人员要想浏览其它大部分研究项目的遗传数据信息可就没这么方便了。他们首先要进行申请，获得许可之后才能够进入这些数据库，而且每进入一个数据库都需要获得批准。这样一来，如果要将多种数据整合在一起进行分析就比较麻烦了。

世界上很多大型的数据库目前采用的都是这种准入制度，比如欧洲分子生物学实验室欧洲生物信息研究中心（EMBL’s European Bioinformatics Institute in Hinxton, UK）就设立了一个信息获取准入委员会，由这个委员会来决定他们的数据信息可以被用于哪些方面的研究工作。据该研究中心DNA数据资源部门的负责人Paul Flicek介绍，由于这些研究数据绝大部分工作都是基于知情同意开展研究之后获得的，所以他们想不出比现在这种方法更好的解决办法了。

部分研究人员认为，遗传数据应该由一个中心数据存储机构来保管，只有受到许可的人才可以访问这些数据。这就意味着公众无法获得这些数据信息，可是这样一来科研人员就方便了，他们在访问每一个数据库时就不再需要一一的请求许可了。据NGHRI的政策、教育及沟通部门的负责人Laura Rodriguez介绍，NIH的数据管理委员会对这种方案也不太放心，Rodriguez介绍道：“我们接到了很

多科研工作者提交的申请，希望访问我们的数据库，可是从他们提交的申请中可以很明显地看出，他们根本就没有认真阅读我们的使用说明，不知道这些数据不能应用在哪些方面。”

不过Erlich认为还是应该让更多的人接触到这些遗传信息，可是科研工作者也应该承认保护个人隐私有难度。Erlich在发表论文之前曾经向美国德克萨斯州休斯敦市贝勒医学院（Baylor College of Medicine in Houston, Texas）的伦理学家，同时也是律师的Amy McGuire进行过咨询，McGuire也同意Erlich的意见。不过Erlich还不太肯定，告诉公众他们的个人身份信息有可能会泄漏是不是就可以了。让某位参加科学试验的志愿者完全理解他们的遗传学信息将来有可能会被应用到哪些领域、存在哪些风险，这几乎是不太可能的。更别说科研人员自己都还不清楚未来存在哪些风险了。“将这么多可能都写进知情同意书里也是不太现实的。” McGuire这样说道。

Erlich认为，科研人员应该想更多其它办法来保护试验参与者的个人隐私，比如在存储数据之前先进行加密，然后给需要使用这些数据的人提供不同安全等级的密匙，这样既可以满足这些人的科研需要，又不会泄漏个人隐私。不过Green担心加密过的数据总是不如没有加密的数据好用。

关于这个问题没有一个简单的答案，不过由于Erlich将这个问题摆到了明面上，所以科研工作者们对他还是赞赏有加的。Page认为这个问题对于Erlich这位年轻的科研工作者会是一把双刃剑，他说道：“在Erlich众多感兴趣的问题中，这项工作只是一个很小的一部分而已，如果他完全陷入了这场争论那可就划不来了。”

可是Erlich似乎非常乐于陷进去。他正与美国麻省中心医院（Massachusetts General Hospital）的遗传学家Daniel MacArthur和美国哈佛大学公共卫生学院（Harvard School of Public Health）的生物统计学家Alkes Price开展一项名为遗传流行病学2.0（Genetic Epidemiology 2.0）的新项目，他们想发掘出信息背后的社会关系网络，由此发现与人体复杂性状遗传学基础相关的蛛丝马迹。这项研究主要关注以家族谱系为基础的社交网络，这些构成了庞大家族树的家族成员给他们提供了丰富的、与遗传性状相关的数据信息。

Erlich很清楚这项研究在伦理道德方面的复杂程度。所以他决定先针对已经过世的人开始研究工作，将他们这项工作的潜在危害降到最低限度。但是如果他们的工作取得了成功，Erlich就会继续跟踪其他的家族成员，问问他们是否愿意提供其他的信息，比如医疗记录等，这将有助于他们发现更多与病理性状相关的线索。

Hannon认为这个是Erlich最拿手的项目。“如果Yaniv说‘那里有什么数据？’他的意思可不是‘那些文献里有什么数据’，他指的是所有有关的数据。如果这种方案行得通的话，那么我们就可以利用公共数据资源解决遗传学家们认为最难以解决的一个问题——如何将大量相关的人集合到一起，解答一个复杂的人类生物学问题。在Yaniv看来，没有什么是办不到的。” Hannon介绍说。

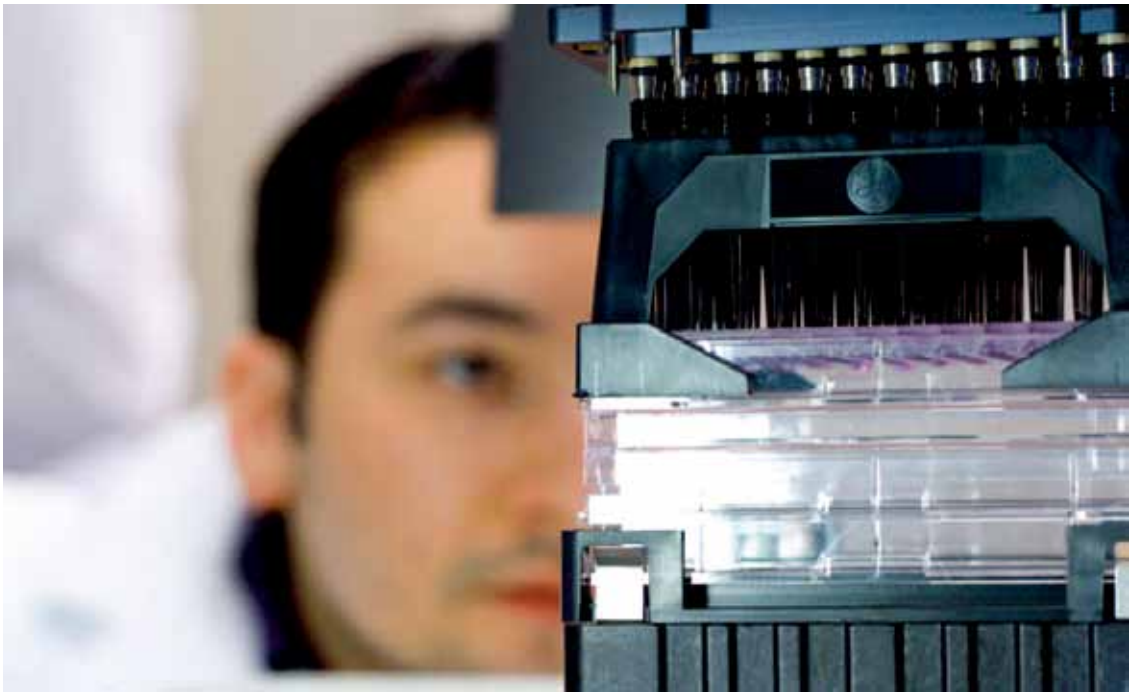
当然，这又会引发一系列其它问题。不过这就和Erlich之前黑入银行一样，也不是什么坏事。“作为美国银行的客户，你肯定希望他们通过了我的测试。你肯定不想说：‘可别发现什么我们不愿意看到的事情吧。’” Erlich说道。

原文检索：

Erika Check Hayden. (2013) THE GENOME HACKER. *Nature*, 497:172-174.

筱玥/编译

最新的三维立体细胞培养技术



科研人员新近发明了一种三维立体细胞培养技术，这种培养条件可以模拟天然的组织环境，让细胞在更接近于自然的状态下生长。

细胞培养技术的进步意味着科学家们对细胞培养基的成分有了更深入的了解和认识，让细胞有一个更加天然的生长环境，即便在实验室里也不例外。

因为细胞可以在实验室条件下生长和培养，这让科学家们的科研工作容易了许多，所以科研人员都希望细胞能够在实验室里更好地生长下去；同样的道理，如果科研人员不能提供一个适宜细胞生长的环境，那么他们的科学研究工作就会遇到障碍。

因此，细胞培养基（culture media）市场是一个非常活跃的市场，科研人员希望在实验室里培养各种细胞，所以市面上也就出现了各个试剂生产厂家提供的各种各样的细胞培养基商品，甚至还有一些“独家秘方”产品出售，这些产品为实验室里培养的各种细胞提供了充足的“口粮”。不过细胞培养工作更依赖经验的积累，所以培养细胞更像是一门艺术，而不是一种高度可重复的科学，很难通过一套方法或者理论选择出合适的培养基。

细胞培养基上的即便极其细微的差别都会对细胞的生长带来明显的影响，但是具体的原因现在还不清楚。所以很多科研工作者在培养细胞时都会使用自己的“独家秘方”，但这样做就违背了科学的基本准则——可重复性原则。英国伦敦大学学院（University College London）的试验病理学家，同时也是多本有关动物细胞及人类细胞培养学术专著编委之一的John Masters就认为，这种“独家秘方”式的培养基是很难重复的，因为即便是同一个人配制的独家培养基，各批次之间也会因为配方各成分的绝对含量有所不同而出现差异，而且从不同的供应商那里买来的各配方组分，或者是采自同一家供应商，但是不同批次的各配方组分的纯度和含量也都会出现偏差。而且我们都知道，在配制少量化学混合溶液时是最容易出现各批次产品的质量不均一的情况的。

不过随着对培养基成分的重要性有了不断深入的认识，科学家们也越来越意识到这个问题的重要性，对培养基成分的标准也正变得越来越严格。比如有一些科研人员就正在尝试彻底去除培养基中的动物来源组份，因为他们担心它们会“污染”或者影响应用于临床治疗的细胞系产品。还有一些科研人员则正在努力通过人工培养技术模拟出天然细胞的生长环境，比如我们下面将要介绍的三维立体细胞培养技术（three-dimensional tissue structures, 3D tissue structures）。

有很多细胞是不能（很难）在实验室里培养的

细胞培养技术非常重要，这一点在正蓬勃发展的诱导多潜能干细胞（induced pluripotent stem cell, iPSC）研究领域显得更加突出。使用这种干细胞技术可以将成体已分化细胞（adult cell）的分子时钟往回拨，让它们倒回到最初的状态，即未分化之前的状态，这样，这些已分化的细胞就又可以进行新一轮的分化，形成各种终末细胞。这项新技术对于再生医学（regenerative medicine）领域意义重大，我们可以用这项技术在实验室里重新培养出各种“新鲜的”组织，用于治疗组织受损的患者。

比如日本神户的RIKEN发育生物学研究中心（RIKEN Center for Developmental Biology in Kobe, Japan）的眼科学研究专家Masayo Takahashi就正在申请开展全球首例基于诱导多潜能干细胞技术的临床治疗试验，他将用这项技术对老年黄斑变性（age-related macular degeneration）患者进行治疗。我们知道老年黄斑变性这种疾病会让患者的视网膜（retina）坏死，Takahashi的治疗策略就是对患者自身的皮肤细胞进行重编程（reprogrammed）操作，然后用得到的新生视网膜组织替换患者眼内已经坏死的视网膜组织。

与此同时，世界上还有一群科学家在尝试另外一个方向，这就是转分化（transdifferentiation）技术，即通过遗传学方法让一种已分化细胞转变成另外一种已分化细胞的方法，这种方法和诱导多潜能干细胞方法相比，省掉了中间的干细胞环节。其中最具代表性的工作就是由美国马萨诸塞州坎布里奇白头生物医学研究所（Whitehead Institute for Biomedical Research in Cambridge, Massachusetts）的Rudolf Jaenisch和Yosef Buganim开展的工作。Jaenisch等人利用细胞培养技术将结缔组织细胞（connective-tissue cell）转化成了能够表达Sertoli细胞（这是一种主要见于睾丸组织的细胞）特征标志物的细胞。这一研究成果有助于我们了解男性不育症

的发病机制，也可以帮助我们开发出新的细胞培养技术，让以往不能，或者很难在实验室里进行培养的细胞走进科学家们的培养箱。

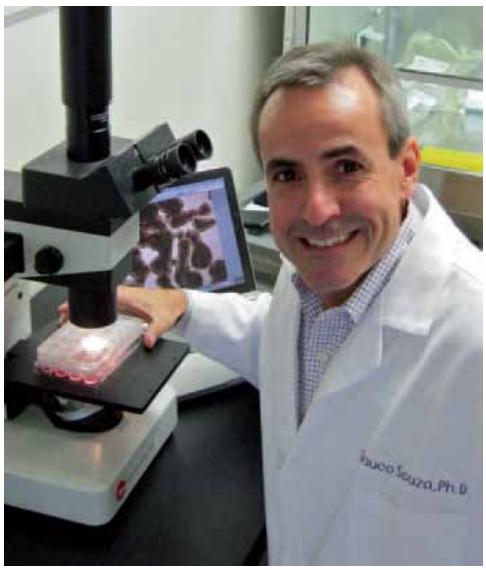
Buganim表示，培养条件能够决定培养细胞的命运。因为转分化细胞、诱导多潜能干细胞或者体外培养的神经元细胞，每一种细胞都有自己特定的需求，所以也需要给予不同的培养基和培养条件。比如每一种细胞需要的生长因子不一样，有的细胞可能需要这一种生长因子；有的细胞又不能给那一种生长因子；有的细胞需要较高浓度的氧；有的细胞则需要较低浓度的氧，这些因素都会影响到细胞的正常状态和特性。

不过据美国威斯康辛州麦迪逊市Primorigen生物科技公司（Primorigen Biosciences in Madison, Wisconsin）的技术及市场开发部经理Bradley Garcia介绍，干细胞研究人员更加需要的是能够维持干细胞生长，并且诱导干细胞定向发育、分化的培养基和培养技术。Primorigen生物科技公司的主要业务就是开发并销售这一类的产品。如果培养基能满足细胞的要求，那么分化的干细胞——无论是干细胞、心脏细胞还是神经细胞，都有可能在培养基中生存数天、数月甚至一年以上。

细胞的生长是不可预测的，它们在这一种培养基里的生长速度可能要比在那一种培养基里快很多，但是没人知道这是为什么。而且据Primorigen生物科技公司产品开发部的高级经理Scott Monsma介绍，干细胞在这方面的表现更加突出，它们会对不同的培养条件（比如培养操作不精细、细胞生长太密或者存在应激刺激等）做出反应，进而发生相应的分化。由于存在这些因素，所以开发干细胞培养基非常困难，但是这方面的市场需求却相当大，因为干细胞在医疗上的应用潜力是无限的。

少而精的培养基

还有一些科研人员使用供给培养系统（feeder-based system）进行干细胞培养。在这套培养系统里会使用一些支持细胞（supporting cell），比如小鼠胚胎成纤维细胞（mouse embryonic fibroblast）等，让这些细胞分泌生长因子供人工培养的干细胞使用。但是据销售干细胞培养基的加拿大温哥华英属哥伦比亚肿瘤研究所附属干细胞技术研发中心（research and development at Stemcell Technologies, a spin-off from the British Columbia Cancer Agency that is based in Vancouver, Canada）的资深科学家Erik Hadley介绍，这种方法非常容易出问题。这不仅仅是因为每一批支持细胞会有所不同，而且很难控制由这些支持细胞分泌的生长因子的数量以及生长因子分泌的时机，所以也就无从谈起哪一些生长因子（培养成分）才是干细胞进行某种分化时必需的了。

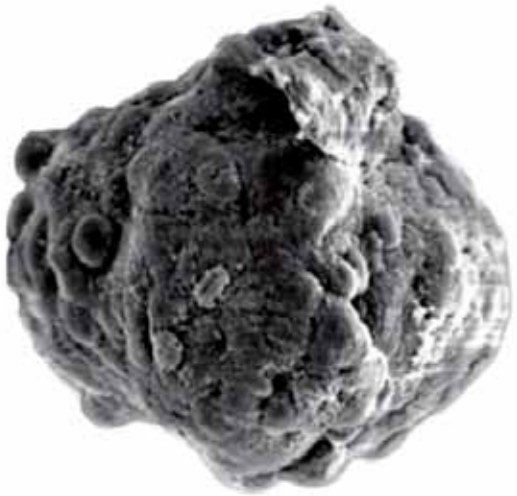


Glauco Souza开发出了一种能够模拟体内环境和蛋白质分泌情况的微组织（microtissues）细胞培养技术。

为了解决这个问题，干细胞技术研发中心专门开发了一种不含供给细胞的干细胞维持培养基（feeder-free stem-cell maintenance medium），这就是市面上销售的mTeSR1培养基。此后开发的第二代产品TeSR2培养基更是完全不含任何的动物来源蛋白。在今年1月新推出的TeSR-E8培养基则只含有8种组份，这是根据美国威斯康星大学麦迪逊分校（University of Wisconsin–Madison）的干细胞研究专家James Thomson提供的专利配方开发的新产品。美国加利福尼亚州生命科技公司（Life Technologies in Carlsbad, California）也推出了一款同样的产品，他们称之为Essential 8 Medium。

美国休斯敦得克萨斯大学健康科学中心（University of Texas Health Science Center in Houston）的干细胞研究专家Mikhail Kolonin认为，这种成分确定的培养基产品的出现终于让细胞培养操作走出了“炼丹”时代，也让细胞培养试验和临床应用结果更具可重复性。

不含动物成分的医药产品



这是一幅经过艺术加工的肝癌细胞扫描电镜显微照片（scanning electron micrograph）。

据Monsma介绍，供给培养系统除了存在上述这些问题之外，还有一个因素也是影响试验可重复性的拦路虎，那就是在干细胞培养基中常用的胎牛血清（fetal bovine serum, FBS）中含有的生长因子、蛋白质和其它的营养成分。在干细胞培养基中，胎牛血清通常都达到了20%的比例。每一个批次的胎牛血清产品都来自不同的胎牛，所以它们的组份必然或多或少会存在一些差异。据Kolonin介绍，问题在于他们根本不知道这些组份出现了哪些改变。这也正是关注干细胞临床应用问题的干细胞研究者在使用含血清的培养基时格外谨慎的原因之一。

Kolonin还介绍了另外一个原因，那就是使用含动物来源成份的培养基培养出来的细胞在应用于临床组织移植（tissue transplantation）时有诱发受体出现免疫排斥反应的风险。总部位于美国马萨诸塞州的Thermo Fisher Scientific公司（Thermo Fisher Scientific, headquartered in Waltham, Massachusetts）细胞培养及生物工艺业务部的产品经理Nathan Allen还提到了另外一种可能，那就是污染（Contamination），这也是一大风险，而且会带来更为严重的后果，比如疯牛病（mad cow disease）就是一个极好的例子。在英国爆发的变异型克雅氏病（variant Creutzfeldt–Jakob disease），即疯牛病就是因为人食用了被感染了疯牛病的牛肉制品污染的食物而导致的。

美国食品与药品监督管理局（FDA）已经禁止医药产品供应商使用含动物来源物质的材料。这一禁令的出台也给临床前研究（preclinical research）带来了一定的影响，因为据Thermo Fisher Scientific公司产品开发

部的Roberta Morris介绍，在开发新产品时，最理想的状态就是在新产品、新技术开发的初期，提前考虑今后进行大规模工业化生产的需要。

所以Allen认为，基于这个考虑，今后开发的细胞培养基新产品都应该是不含动物血清的产品。Allen的公司现在已经推出了好几款不含动物血清，以及不含任何动物来源成分的细胞培养基产品。但是要完全不含动物来源成分可不容易，这至少意味着需要重新进行大量的工作对培养基配方进行优化，而且这还会影响到后续的生产工艺，并且造成其它影响。

上述所有特质会使新产品的价格居高不下。去年秋天，美国密苏里州圣路易斯的Sigma-Aldrich公司（Sigma-Aldrich in St Louis, Missouri）启动了干细胞维持培养基产品的开发工作，这也是该公司推出的干细胞产品系列中的一个组成部分。据该公司的首席科学官Dan Allison介绍，虽然这种培养基并不是完全不含动物来源成分的培养基产品，而且其中的所有成分都是已知的，而且绝对不含任何的、在其它配方培养基中常见的粗制蛋白（crude protein）成分，比如血清提取物或者脑垂体提取物（pituitary extracts）等。这些产品都是专门为了满足旨在开发干细胞应用产品实验室的细胞培养需要，以及需要大量培养基的用户而开发的。

Monsma表示，仅仅使用化学试剂和非动物来源的原料来开发完全不含动物来源成分的细胞培养基产品，意味着需要使用由人体细胞或者细菌表达并纯化的蛋白原料，比如人体血清白蛋白或者各种重组生长因子等蛋白。他们公司和其他一些公司正在从事这方面的工作。比如Primorigen公司就正在与好几个大学的实验室合作，将一种促干细胞分化的培养基（differentiation medium）改造成不含动物来源成分的培养基新产品。

对于从事干细胞研究的科研工作者而言，培养基发生这种改变意味着他们的实验室里今后也将不再需要某些试验材料，比如小鼠胚胎成纤维细胞等支持细胞。另外，在实验室里还有一些传统的试验材料，比如用于覆盖细胞培养皿内表面的材料等也都是含有动物来源成分的。之前由美国新泽西州的Becton, Dickinson公司（Becton, Dickinson of Franklin Lakes, New Jersey，该公司已经在去年秋天被美国纽约的Corning公司收购）生产的Matrigel就是一种源自小鼠肿瘤组织的产品，它主要被用来覆盖细胞培养皿的内表面，提供一层供培养细胞生长的基质。美国密歇根大学安娜堡分校（University of Michigan in Ann Arbor）的科研人员早就发现，虽然使用Matrigel可以帮助科研人员确定诱导多潜能干细胞需要哪些培养成分，但是如果培养的干细胞将来被应用于人体，那么Matrigel的动物来源属性，及其不稳定性都会成为一个大问题。

工业化生产的细胞培养基

还有一部分科研人员只喜欢使用他们自己配制的细胞培养基。据Masters介绍，这一部分人都是有丰富细胞培养经验的人，他们很清楚自己在干什么。

不过Masters也补充说：“但是在这群人中，绝大部分的人都只知其然而不知其所以然，而且他们对培养基的配制原理也不感兴趣，只关心培养基是否好用。”不过他们也想买到商品化的细胞培养基。现在已经有公司开始为这群人提供培养基订制服务。在接受《自然》（*Nature*）杂志采访的公司当中就有公司表示他们提供的产品要比科研人员自己配制

的更好，因为从原材料的检测、储存和配制过程，他们都有更为严格的质量控制流程，而且整个生产过程也都是在更加严格、稳定的环境中进行的。

使用工业化生产的细胞培养基会更好。比如在实验室里，细胞都是低温保存在液氮里的，每个人使用的低温保存培养基（cryopreservation media）也都不一样，其中就包括自己配制的低温保存培养基。但是据Hadley介绍，这样保存的细胞在解冻时会损失很大一部分，这是从事细胞培养工作的科研人员面临的一大问题。

不过Thermo Fisher公司在去年底推出了一款不含血清，也不含动物来源成分的低温保存培养基产品HyCryo（该产品主要用于普通细胞系细胞），以及另外一款专用于干细胞冻存的HyCryo-STEM产品。使用HyCryo-STEM可以极大地改善冻存干细胞解冻、复苏之后的复原速度。据Thermo Fisher公司的细胞培养专家Cindy Neeley介绍，过去科研人员在复苏神经干细胞时只有10-20%的细胞会存活，不论使用哪种冻存培养基，包括所谓的独家秘方培养基，基本上都不能解决这个问题。然而使用HyCryo-STEM之后，细胞复苏之后的存活比例就可以提高到50-60%。

干细胞一般都储存在-196 ℃的液氮里，但是这种方法的复苏效率非常低。

改善细胞培养环境也意味着对细胞培养器皿进行改良。比如Corning公司的生物工程师Po Ki Yuen就通过工程学方法新开发出了一款96孔细胞培养板，这种培养板能够为细胞提供营养，同时还可以去除细胞生长过程中产生的有毒废物，更神奇的是，这种培养板还可以在不使用外部泵的情况下自动更换培养基。据Yuen介绍，使用这种培养板不仅可以减少培养基每天的使用量，而且还可以最大限度地减少人工操作的次数，减少细胞污染的机会，除此之外，这种培养板还可以模拟人体内的体液流动运动，这也是以往实验室培养系统所不具备的一项功能。

Yuen还介绍说，他是在和另外两位同事召开新产品开发研讨会时突然有了开发这种细胞培养板的灵感，让他想到可以利用装载不同液体量的培养孔孔壁之间的压力差。通过连接在培养孔之间的由纤维素膜（cellulose membrane）或滤纸构成的窄纸条，培养基就可以从液面较高的培养孔单向流动到液面较低

的培养孔，直至最后所有孔的液面全都达成一致。据Yuen介绍，培养基在他们这种培养板里的流速是可以人为控制的，只需要控制相邻孔之间的液面差高度以及连接在孔之间的滤纸条的宽度和孔径就可以了。

据Corning公司的产品开发经理Brian Douglass介绍，目前这种96孔板还没有推向市场，但是使用相同技术的6孔细胞培养板已经开始销售了。使用这种6孔培养板最长可以72小时不需要人工换液，对于科研人员来说，这就意味着他们可以轻轻松松地回家过周末了。

三维立体细胞培养技术

科学家们和生物技术公司还开发出了一种三维立体细胞培养技术，使用这种技术可以让细胞聚集生长，形成组织样结构，这样有助于细胞之间紧密连接，促进细胞之间的信息交流。使用这种三维立体细胞培养技术，干细胞可以生长成球形的胚状体结构（embryoid bodies），而这种结构正是干细胞分化发育过程中必经的一个阶段。

据Neeley介绍，这意味着使用这种三维立体细胞培养技术，细胞将不再与培养皿的表面接触，因为只要与培养皿的表面有接触，细胞就会附着在培养皿上，单层生长。Thermo Fisher公司也开发出了一系列的细胞培养皿和培养板产品，这些培养材料的表面都覆盖了一层聚苯乙烯（polystyrene）材料，这起到了降低细胞附着力的作用。我们还可以使用生长支架（Scaffolds）帮助细胞成团生长，但是一旦去除生长支架，细胞的立体结构就会随之垮掉，就好像帐篷被抽掉了支撑杆一样。而且这些生长支架会妨碍我们在显微镜下对细胞进行观察。

为了满足科学家们对三维立体细胞培养技术的需要，Thermo Fisher公司专门开发了一种名为Nunclon Sphera的细胞培养板。据Neeley介绍，使用他们这种Nunclon Sphera细胞培养板，细胞将不会贴附在培养板的表面，它们会聚集在一起，形成一种球状的三维立体结构。这样就可以很方便地使用移液管移取细胞，不需要对细胞进行消化，也就不会破坏细胞的三维立体结构。目前已经有客户正在对这种新型培养板进行测试（beta-testing）。

其它针对细胞培养板开展的改良工作则主要集中在对基础结构进行改造这个方向上。据美国马里兰州巴尔的摩约翰霍普金斯大学（Johns Hopkins University in Baltimore,Maryland）的生物学家Ross Harrison介绍，三维细胞培养技术其实可以追溯到100多年以前。Harrison就曾经在一滴悬浮的蛙淋巴液中培养过神经组织，而且还观察到了神经细胞生出的轴突（axon）。

目前瑞士一家名为InSphero的生物技术公司正在使用这种液滴技术开发细胞立体培养板产品，这种培养板还是会使用传统的聚苯乙烯材料，但是因为采用了全新的设计，所以能够达到让细胞立体生长的目的。据InSphero公司的创始人，之前就职于瑞士苏黎士大学（University of Zurich）的生物技术专家Jens Kelm介绍，在他和苏黎士大学的同事Wolfgang Moritz以及瑞士联邦理工学院（Swiss Federal Institute of Technology，ETH）的工程师Jan Lichtenberg拿出了原型产品之后，瑞士联邦理工学院于四年前在大学的产业孵化器里成立了这家InSphero公司。

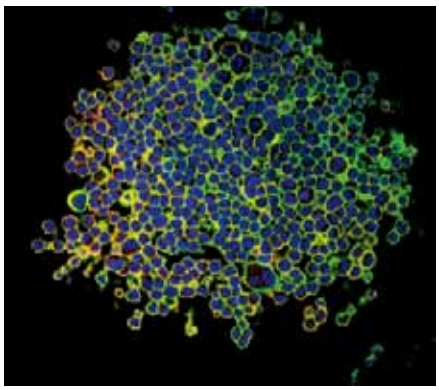
InSphero公司设计的这种培养板采用了类似于香槟酒杯的V型孔底的设计，这不同于其它培养板常用的圆底设计。据Kelm介绍，他们采用的这种设计让培养板的孔底变得比较平，所以培养基液滴里的细胞就可以沉积下来，聚集成球形生长。

为了让细胞聚集成团，培养孔的开口也借鉴了窄口花瓶的方案进行了重新设计，这样可以让培养孔壁与移液管能够贴合得更加紧密。科研人员发现，培养孔壁与移液管之间的密闭接触可以让每一个培养孔里的细胞数量接近均等，这可以让科研人员在对不同孔之间的试验结果进行比较时更加准确、更有意义。据Kelm介绍，为了达成设计目标，他们先从移液管的枪头开始试验，他们先将枪头尖切掉，从上面滴入培养基液滴，然后观察液滴是如何滴下的。

2011年，InSphero公司和美国马萨诸塞州的PerkinElmer公司（PerkinElmer in Waltham, Massachusetts）达成了合作协议，那就是用PerkinElmer公司生产的自动成像扫描设备直接对InSphero公司生产的细胞培养板进行观察和扫描，PerkinElmer公司生产的自动成像扫描设备是各大药厂的必备设备之一。这次合作让InSphero公司开发出了更多的产品，比如他们设计了一款可以直接形成球形肝脏微组织（liver microtissue）的培养板，制药公司使用这种培养板可以很方便地进行药物毒性筛查试验。

Kelm认为他们的技术在国际上拥有更加广阔的市场空间。比如欧洲的法律就禁止在化妆品测试中用动物做实验，这样就创造了极大的市场需求，因为化妆品生产厂家需要大量的模型进行产品测试，体外培养的微组织就是一个很好的解决方案。制药企业和化工企业也需要进行细胞学试验检测他们产品的毒性。此外，能够培养干细胞的液滴培养技术（hanging-drop technology）还可以应用于医学应用领域。

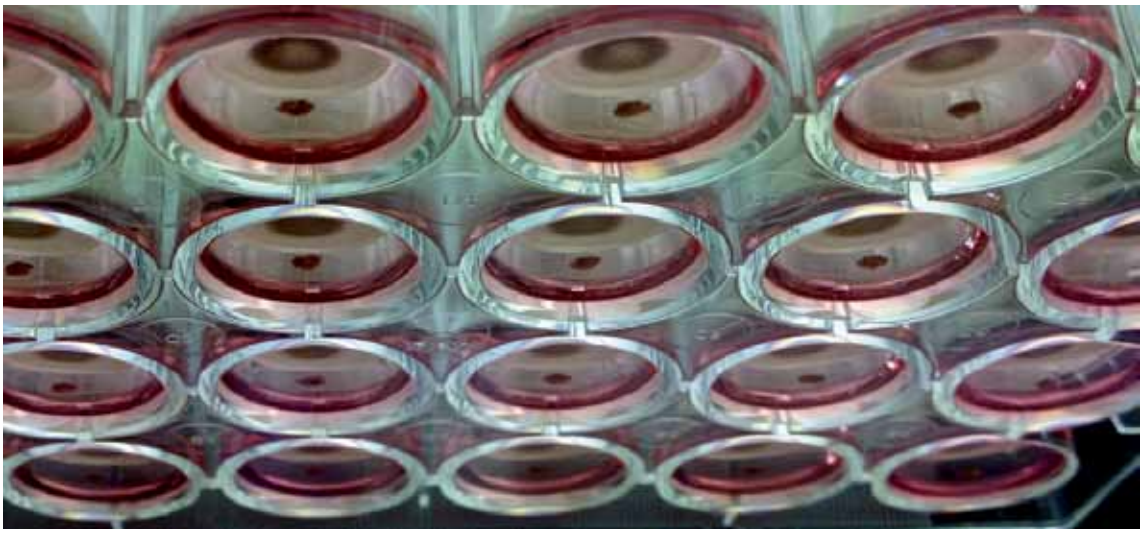
法国国家健康及医学研究所（French National Institute of Health and Medical Research，INSERM）的生物学家Nadia Benkirane-Jessel使用InSphero的产品对如何缩短患者的骨修复时间（骨再生时间）进行了研究。为了让骨细胞处于更利于生长的位置，Benkirane-Jessel将骨细胞接种到了由纳米纤维组成的支架上，细胞在这种支架上形成了球形三维微组织结构，然后Benkirane-Jessel将这种组织球移植到了试验鼠体内。Benkirane-Jessel还打算用InSphero公司的技术为她自己成立的Artios Nanomed公司开发一款新产品，这款产品主要用于骨再生和软骨再生领域。



图中所示的是结肠癌细胞，诸如此类的很多细胞都可以在缺乏生长支架的情况下聚集生长，成为图中这种微组织（microtissues）结构。

细胞漂浮培养法

还有一种三维立体细胞培养技术是由美国休斯敦市的n3D Biosciences公司开发的，n3D Biosciences公司也是由学术科研机构成立的一家附属公司。据该公司的首席科学官，同时也是公司创始人之一的Glauco Souza介绍，使用他们的技术可以让培养的细胞漂浮在培养基里，聚集成团生长。他们首先会用公司独家开发的纳米磁珠NanoShuttle对培养细胞进行修饰，这种NanoShuttle纳米磁珠上吸附着与多聚赖氨酸（polylysine）交联的金和铁的氧化物。然后，他们会将培养板放置在磁场中。“将培养板置于磁场环境之中，这些纳米磁珠就会悬浮起来，将细胞聚拢到一起。”Souza介绍说。



n3D Biosciences公司开发的最新细胞培养技术使用了纳米磁珠（magnetic nanoparticle），这些纳米磁珠可以在磁场的作用下悬浮起来，进而能够将培养皿里的细胞聚集到一起。

细胞之间的相互作用是促进细胞生长的重要因素之一，通过纳米磁珠使细胞悬浮起来可以增加细胞之间的相互作用，与传统的细胞培养方式相比，这种悬浮培养方式更接近体内的真实情况。而且使用这种培养板对细胞进行换液也会更方便，因为磁场可以吸住细胞组织块，不用担心在换液操作时被吸走。 Souza继续介绍道。

Souza之前是在美国休斯敦市MD Anderson肿瘤研究中心（MD Anderson Cancer Center in Houston）工作的一名物理化学家，据他介绍，制药公司以及科研机构使用了他们开发的这种培养板之后都发现，培养出来的细胞组织微块（microtissues）不论是在外型上还是在蛋白表达水平上都更加接近体内的组织，所以用这种培养板培养出来的细胞组织是一种非常好的体外药物筛选组织模型。n3D Biosciences公司的细胞悬浮培养板已经打进了大学的实验室和制药公司，他们现在正在开发高通量药物毒性筛查设备，也有意从事药物开发方面的工作。

罗马真的一天就可以建成

Kolonin是n3D Biosciences公司的客户之一，他主要使用这项技术对脂肪组织开展研究，同时他也认为这项技术比较适合进行干细胞组织培养方面的工作。如果要在体外（培养皿中）再造一个组织，那么就需要提供组织中存在的所有类型的细胞，而且要让这些细胞彼此之间建立联系。可是在实验室里常用的扁平培养皿中，通常只能生长一种细胞，因为只有

最适于在塑料表面和某种特定培养基环境中生存的细胞才能胜出，其它细胞都会慢慢死去。可是使用n3D Biosciences公司的培养板就不一样了。据Kolonin介绍，头一天晚上你把磁珠丢到细胞培养板里，第二天再把培养板放到磁场中，第三天你就会惊奇地发现长出了球状细胞团块（spheroid），这种细胞团块里就含有各种组织细胞。整个过程真的就需要一天时间。

Kolonin还补充说，这种磁场细胞悬浮培养方法非常适合脂肪组织的生长，也很适合干细胞的培养，用这种方法能够很好地保持干细胞的分化能力。

不过这些纳米磁珠也有可能会对含有磁珠的细胞带来不好的影响，但那是比较罕见的情况，在培养的细胞中只有少部分细胞会受到影响。而且细胞组织微块会紧密地团结在一起，保持团块状结构，含有磁珠的细胞也会“吐出”磁珠，这些磁珠又会进入到培养基中，继续发挥作用。

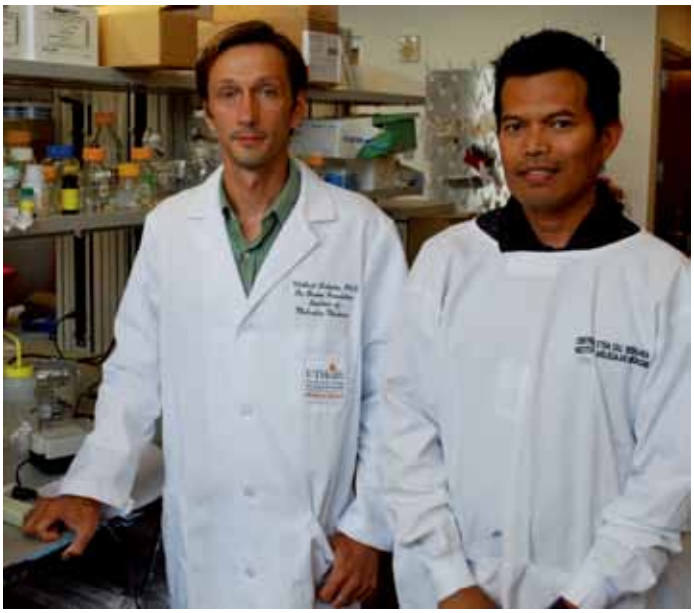
美国布朗大学（Brown University in Providence, Rhode Island）的生物工程师Jeffrey Morgan评价道：“我们对细胞三维培养这项技术反应太迟钝了，不过我相信大家很快就会接受这款新产品，并且对其做出中肯的评价。” Morgan认为，细胞彼此接触之后就会彼此发生相互作用，并且进行信息传递，这一点是人工生长支架无法提供，也无法满足的，所以使用这种悬浮培养技术可以让细胞在更接近体内真实状态下的环境中生长，尤其适于培养肝脏和心脏这种细胞密度比较大的实体器官。

Morgan也开发了一款细胞三维培养皿，并且于2009年在布朗大学所在地普罗维登斯（Providence）成立了他自己的Microtissues公司。他们去年与Sigma-Aldrich公司达成了合作协议，由Sigma-Aldrich公司负责这款产品的销售工作。Morgan的客户主要也是大学的实验室和开展药物毒性筛查工作的制药企业，以及从事细胞治疗相关业务，比如培养移植用细胞组织团块的生物公司。

据Morgan介绍，他们之所以想到开发这款三维细胞培养皿，是因为Morgan当初与他的研究生Anthony Napolitano想在实验室里用细胞培养出多细胞的球形细胞团块。他们当时需要一种细胞不能够贴附的培养材料，可这一点恰恰是传统细胞培养器材无法满足的。而且他们还希望这种培养材料不要破坏细胞之间微弱的粘附力，因为细胞就是依靠这种相互作用粘附在一起的。最终他们的目光锁定在了琼脂糖（agarose）上。琼脂糖主要被用作合成水凝胶（hydrogel），我们知道水凝胶里98%都是水，所以Morgan在介绍他们的工作时会开玩笑地说道：“我们是在进行水‘雕’。”

有人曾经将融化的琼脂糖制成微型培养板（micro-moulds），等琼脂糖凝固之后，再将这种琼脂糖材料放置到普通的培养板里。再在培养板里加入细胞和培养基，由于重力的作用，细胞会沉积到琼脂糖培养板里，彼此聚集在一起，形成球形的多细胞团块。这种琼脂糖培养板经过高压灭菌处理之后还可以重新再利用。

据Morgan介绍，这种微型培养板培养出来的球形细胞团块外形都比较均一，可以通过控制接种细胞的数量来控制球形细胞团块的大小。而且和使用生长支架的方式相比，使用这种方法培养的细胞更加容易收集，只需要将培养板倒过来就可以倒出细胞，非常方便。



美国得克萨斯大学（University of Texas）的Mikhail Kolonin (图左)和Alexes Daquinag（图右）正在从事脂肪组织与干细胞方面的研究工作。

更广阔的应用前景

Primorigen公司的CEO Chuck Oehler认为，虽然干细胞研究和细胞培养技术的发展日新月异，但是我们现在离细胞治疗还有相当长的一段距离。不过包括他们公司在内的诸多生物技术公司还是经常会接到干细胞治疗的要求。不过这可不是干细胞研究者希望看到的局面。

有一位身患糖尿病的科研人员注射了30多年的胰岛素。几年前他接受了胰岛β细胞移植手术，手术后他有将近1年的时间没有注射胰岛素，同时他的病情也有所缓解，比如手指和脚趾的麻木感有所减轻。

“从我自己的切身经历就可以发现，细胞治疗技术拥有非常广阔的应用前景，只要我们这些科研人员能够生产出足够的、有活性的细胞。通过这次手术，我也真实地体会到了再生医学（regenerative medicine）对我自己，和我家人的生活质量带来了多么大的影响和改变。所以对于那些不了解我们这一行情况的患者和医护人员对我们的工作进展得如此缓慢表示出的不耐烦和焦急的心情，我也非常理解。”这位科研人员这样说道。作为第一批吃螃蟹的人，他真实地体会到了细胞培养技术的现实意义。

原文检索：

Vivien Marx. (2013) A BETTER BREW. *Nature*, 496:253-258.

筱玥/编译

GeneCopoeia™
Expressway to Discovery

基因功能研究专家

克隆青春

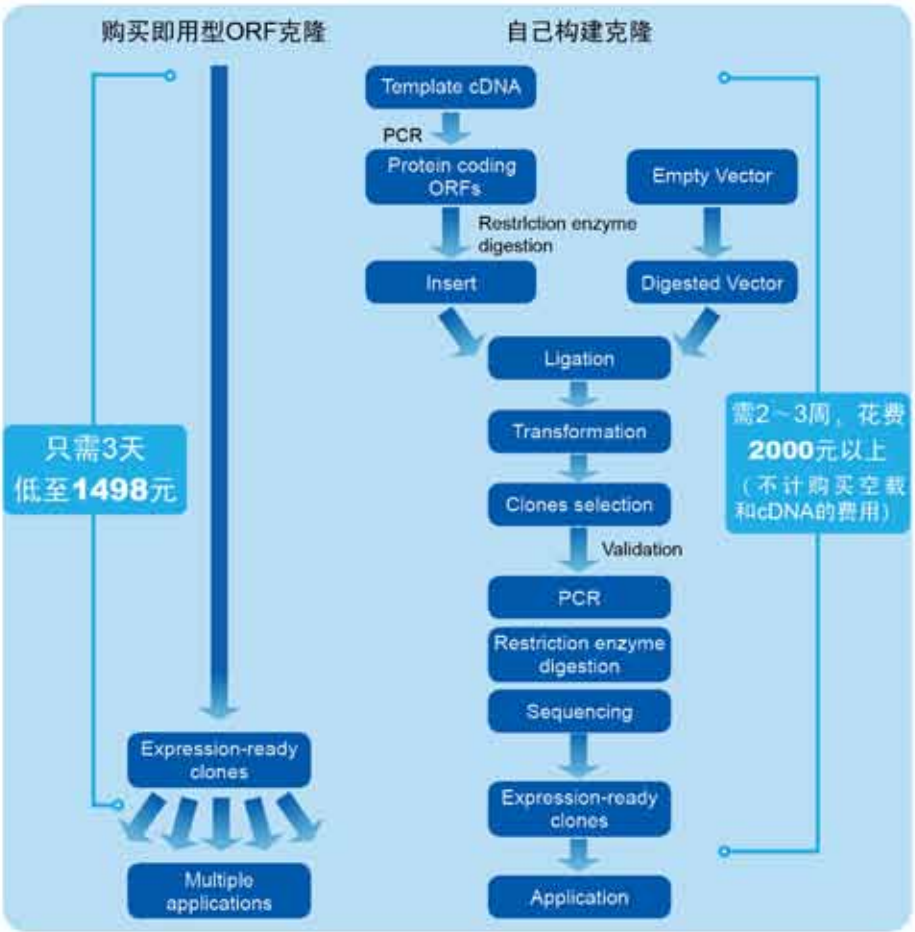
致我们终将发表的论文

美国GeneCopoeia（广州复能基因）是NCBI推荐的克隆供应商。公司致力于为客户提供高性价比的克隆产品与服务。

即用型ORF克隆 20,000个人类基因可选

保证序列无误，3个工作日内送货

将目的基因的ORF（开放阅读框）装载在带有不同蛋白标签或无标签的表达载体中，可直接用于不同宿主或表达系统的蛋白质表达和功能研究。我们也提供ORF*EXPRESS*™ *Gateway® PLUS穿梭克隆，该克隆与Invitrogen公司的 Gateway®克隆技术的兼容。



克隆类型	标签	筛选标记	人源基因(条)	价格(RMB)	应用
哺乳动物载体表达克隆	Native	Neomycin	20,000	≥1498元	✓基因过表达 ✓shRNA和miRNA抑制基因的功能拯救试验等 ✓其他
	C-Flag	Neomycin			
	C-eGFP (monomeric)	Neomycin			
慢病毒载体表达克隆	Native	Puromycin	20,000	≥1598元	
	C-V5	Puromycin			
穿梭载体克隆	和Gateway®（Invitrogen Inc.）克隆技术的兼容		20,000	≥1498元	通过基因重组原理将目的基因整合到表达载体上

*商标Gateway®由Invitrogen公司所拥有。
已有大量论文发表，查看请登录官网。

GeneCopoeia

（复能基因）

Tel： 400-6020-200 020-32068595
Email： sales@fulengen.com
Web： www.genecopoeia.com.cn

百态

Amazing Lives

关于传粉生物的全球性困境

据称，野生传粉生物的数目正在减少，即使人们对蜜蜂介入管理也无法补偿这种损失。这是我们面临的一道全球性的难题，它会演变成为粮食危机吗？

据我们所知，全球至少四分之三的粮食产量部分依赖于动物（通常是昆虫）的传粉行为，而且这类作物在全球粮食需求中呈现出一种逐步增长的态势。鉴于这种重要性，传粉生物的地位显得非常特别。然而目前，传粉生物的多样性正呈现出一种广泛的衰退趋势，这使人们不禁担忧全球性的“传粉危机”。不过，有人辩驳说，这有点儿杞人忧天了，因为人们仍然无法证明保护措施是否是建立在传粉行为退化的基础上的。那么，人们对传粉生物的危机是忧虑过度吗？我们能否以更好地管理蜜蜂种群的方法来解决这个问题呢？本期《科学》杂志（*Science*，29 MARCH 2013 Vol339）的两篇文章就针对以上问题提出了令人瞩目的答案。在该期杂志第1611页，Burkle等人证实了本国的野生传粉生物的数量正在减少。而在第1608页，Garibaldi等人表明，即便对蜜蜂介入管理也无法补偿这种损失。

目前，人们反对传粉危机说法的理由是基于无需动物传粉的主要农作物，比如稻米、玉米和小麦的数目仍然较大。进一步说，他们一直质疑的是，传粉行为是否真的出现了全球性的衰退？如果传粉生物确实出现减少甚至灭绝，那么其它具备这种技能的生物物种也可能通过驯化蜜蜂（这种蜜蜂的数量尽管在特定地区减少，但在世界范围内却是增加的）来填补

这个空缺。那么，这种看法能站得住脚跟吗？我们能否只依赖蜜蜂呢？

为了测量过去120年间环境变化对植物-传粉生物相互关系的破坏程度，Burkle等人在2010及2011年再次造访了伊利诺伊州，因为人们曾于19世纪末及20世纪70年代在那儿取过样本，可以进行对照研究。结果他们发现，过去存在的蜜蜂品种有一半消失了，而在过去存在的植物-传粉生物相互关系之中，只有不到四分之一仍然可见。而且，许多植物曾经接受的传粉行为的数量和质量都下降了。比如，多年生草本植物弗吉尼亚春美草（*Claytonia virginica*）现在接受的传粉次数只有20世纪70年代的四分之一。另外，那些依然为植物传粉的生物对它们以往的植物“客户”也没那么“忠诚”了（也就是说，它们会携带来自多种其它植物的花粉），这样可能会为传粉成功率带来消极的影响。

研究者运用网络的方法对植物-传粉生物之间的相互关系进行研究，结果发现一些变化（图1），这些变化能够表明整体的传粉行为对植物未来的灭绝具有较低的抗性。研究表明，那些未曾在过去收集的样本记录中出现，而目前却存在的植物-传粉生物相互关系趋向于涵盖了过去传粉范围较窄的品种。这与网络中的优先连接（preferential attachment）概念（拥有高度联系的品种应该会更容易获取与其它品种的新关系）形成了反差。而Burkle则有一个反证性发现，表明即便是看上去特殊的物种的灭绝，也可能对填补传粉行为的空缺起着重要的作用，传粉生物和植物物候学的变化或许可以解释这个发现。另外，Burkle等人还发现，物种的消失并非毫无规则，比如说，特殊生物、寄生生物、洞穴生物以及原有相互关系弱的生物物种更容易灭绝。这一研究结果以及最近关于部分生物栖居地的传粉生物相互关系的缺失具有非随机性的发现预示着，全球传粉网络在一系列的环境改变下发生着系统性的变化。这充分说明了自然规律的不可抗性和自我调节作用，也在某种程度上对传粉危机起到一定的抵抗作用。

这样看来，传粉危机是否变得无足轻重了呢？从粮食生产的立场来看，如果蜜蜂能够完成同样的传粉工作，那么野生传粉生物的减少或许可以忽略。甚至有这样的观点认为，在传粉方面，蜜蜂能完成得更出色。如果这个观点正确，那么我们就应该将所有的努力集中在保护蜜蜂上面，并且尽可能多地投入在一手掌握着全球粮食安全的它们身上，以防止这种生物由于雅氏瓦螨（Varroa mite）以及其它的威胁因素而发生群体性的衰退紊乱事件。

图1 野生传粉生物的作用。图示为Burkle等人所研究的一个植物-传粉生物网络。圆圈内是植物或传粉生物物种。每一条实线代表一种植物和一种传粉生物之间的相互关系。虚线圆圈及虚线分别代表已经灭绝的物种以及物种间的相互关系。另外，Garibalidi等人发现，蜜蜂（蓝色圆圈）的传粉效率不及其众多野生传粉生物同仁（橙色圆圈）。

然而，事情并不那么简单。Garibaldi等人所完成的具有里程碑意义的研究表明，把希望和努力寄托在蜜蜂之上很可能无法如愿以偿。研究作者仔细观察了来自600个野外研究地（选址遍及除南极洲之外的每一个大洲）的41种作物系统的传粉行为，结果发现，尽管蜜蜂经常留下许多花粉，但明显做的是无用功。这是因为，得到蜜蜂传粉的花结出果实的百分比相对较低。而在系统调查中，当蜜蜂增加传粉次数时，花儿的结实率只增加了14%。与此相对的是，在野生昆虫传粉之后，花儿的结果率比蜜蜂传粉增长了两倍之多。因此，经过野生昆虫传粉的花与其结出果实的因果关系显得更为一致。值得注意的是，这种关系模式在大多数最重要的传粉依赖性作物之中具有普遍的一致性。可见，野蜂的相关优势并不依赖于蜜蜂的存在与否。所以，尽管人们还在利用饲养的蜜蜂进行传粉，但相对而言，保护野蜂的多样性将会变得至关重要。

上述所谈的两项研究具有十分重要的意义。它们突出了环境变化对传粉生物-植物相互关系的影响，以及只押宝在一种传粉模式上所导致的风险。Garibaldi等人发现，传粉生物的多样性能促进植物结果率的增加，这种趋势不易发生改变，且与蜜蜂的传粉无关。此发现突出了原生生物多样性对粮食生产的重要性。这一研究结果对于忽略耕地保护的措施（这种措施宣称只保护耕种区域之外的生物多样性，以进一步加强农业用地的利用）而言，不啻是对其正确性提出了挑战。特别值得注意的是，上述研究明确地表明了生物多样性对于粮食生产具有直接的可衡量价值；因此，即便将少数生物物种介入管理也无法补偿我们所依赖的生物多样性。

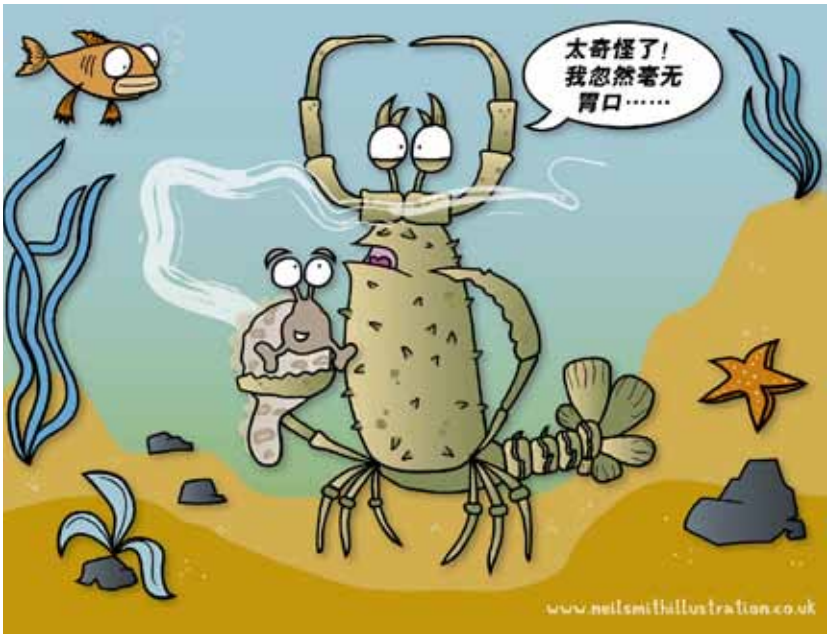
原文检索：

Jason M. Tylianakis. (2013) The Global Plight of Pollinators. *Science*, 339, 1532-1533.

文佳/编译

粘性分泌物帮助海兔逃出生天

对于大多数海洋居民而言，海兔（sea hare）并非是它们的最佳食物选择。如果你看到海兔在受到挑衅时使用的化学武器，那么就很容易明白其中的缘由了。海兔还会有化学武器吗？是的，那就是两种味道不怎么样的分泌物，它们分别是墨汁和乳白色的汁液，会在 饥饿的狩猎者面前出其不意地喷射出来。不过，尽管人们对于紫色的墨汁分泌物所导致的结果了如指掌，但对于白色粘液如何能够智取潜在天敌的威胁依然一无所知。来自美国乔治亚州立大学（Georgia State University）的Charles Derby对此很感兴趣，他希望知道这种白色汁液是否会降低海兔天敌的感觉系统活性，于是与其同事Tiffany Love-Chezem以及Juan Aggio一道设计实验，以测试这种白色汁液对偶尔想把海兔当成小吃的大螯虾（spiny



lobster）产生的作用。这三位研究者决定先测定白色汁液如何影响大鳌虾触须中发现的化学感受器和运动神经元，这两者均能被食物气味所激活，并对摄食触发和摄食能力起必要的作用。

首先，研究人员提炼出白色汁液中的水溶性成分，尽管这些成分缺乏组成原液的氨基酸和其它的化学吸引剂，但仍然拥有白色汁液所具备的粘性和物理特性。然后，研究小组将这种带有粘性的水溶性成分涂在大鳌虾的触须末端，再给予它们美味的“虾汁”，测量其化学感受器和运动神经元的电生理活性。结果，美味的虾汁无法激发触须经过汁液处理的大鳌虾的胃口，同时伴随着化学感受器和运动神经元反应的显著降低。此结果与触须未涂有汁液成分的大鳌虾所产生的反应完全不同。

接着，研究小组希望了解白色汁液中所含的氨基酸是否也能抑制神经元活动。于是，他们将白色汁液中发现的五种主要氨基酸混合在一块儿，然后再把它们涂在大鳌虾的触须上，用美味的虾汁引诱它们。这一次，虾的美妙气味强烈地激起了大鳌虾神经元的反应。而当氨基酸与粘性物质羧甲基纤维素（carboxymethylcellulose）相混合时，大鳌虾神经元的反应再次受到了抑制。而且，羧甲基纤维素的单独存在也会抑制神经元的激发活动。因此，似乎粘性物质就是抑制狩猎者神经元的关键所在，它使海兔趁着大鳌虾清理粘液之时，顺利逃出生天。

原文检索：

Love-Chezem, T., Aggio, J. F. and Derby, C. D. (2013). Defense through sensory inactivation: sea hare ink reduces sensory and motor responses of spiny lobsters to food odors. J. *Exp. Biol.* 216, 1364-1372.

文佳/编译

合办专题专刊
网站广告合作
邮件群发推广
请致电(020)32051255