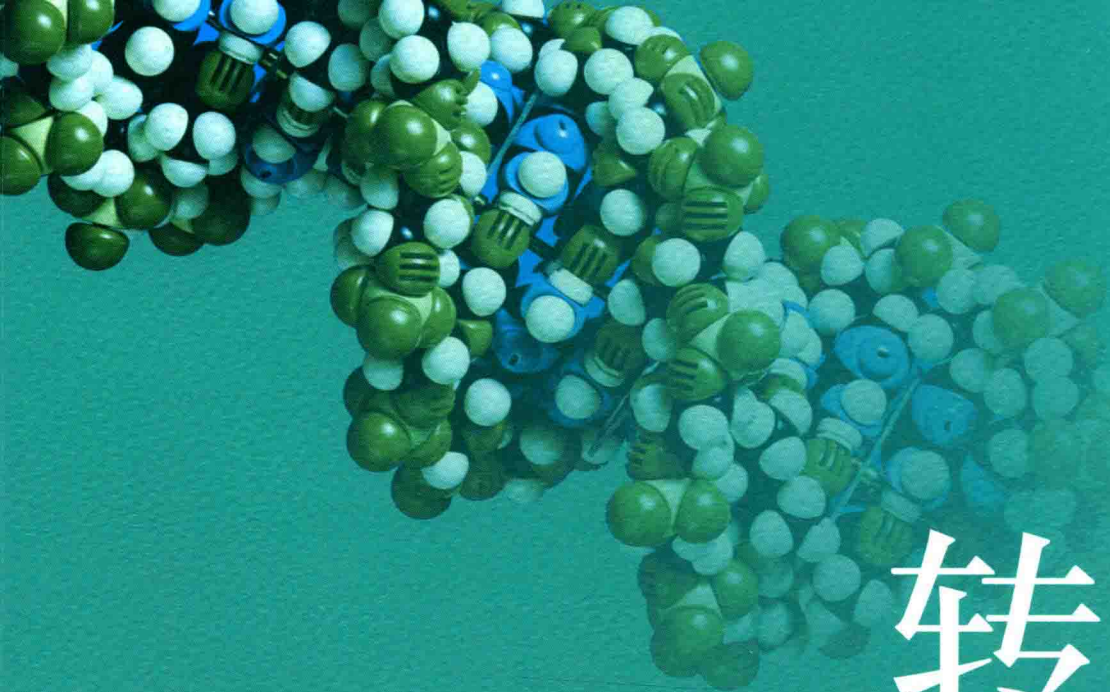


申俊江 著

转基因

的剪刀与生

*Zhuanjiyin de
Qianshijinsheng*



山东大学出版社

转基因的前世今生

申俊江 著

山东大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

转基因的前世今生/申俊江著. —济南:山东大学出版社,2015.6
ISBN 978-7-5607-5307-2

I. ①转… II. ①申… III. ①转基因技术—基本知识
IV. ①Q785

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 154884 号

责任编辑:陈 岩

封面设计:牛 钧

出版发行:山东大学出版社

社 址 山东省济南市山大南路 20 号

邮 编 250100

电 话 市场部(0531)88364466

经 销:山东省新华书店

印 刷:济南新科印务有限公司

规 格:720 毫米×1000 毫米 1/16

10.75 印张 180 千字

版 次:2015 年 6 月第 1 版

印 次:2015 年 6 月第 1 次印刷

定 价:26.00 元

版权所有,盗印必究

凡购本书,如有缺页、倒页、脱页,由本社营销部负责调换

前 言

近些年,关于转基因农作物的讨论沸沸扬扬,有人支持有人反对,但多数是反对,新闻媒体也纷纷报道关于转基因农作物的情况。著名的电视节目主持人崔永元还专门到美国做了个关于转基因农作物的调查节目。互联网和社交媒体更是充斥着各种骇人听闻的不实传闻,以期引起别人的关注。笔者认为关于转基因农作物的讨论是有益的,可以引发公众对转基因农作物更多的关注和想对它更深入了解的愿望。但是讨论不是人云亦云,而是应该本着调查研究和实事求是的原则去主动查询相关的资料,获取关于转基因农作物的知识和事实。笔者从事转基因农作物的研究近十五年,接触到了大多数主要农作物的转基因研究。笔者想根据自己对转基因农作物的了解,和对很多这方面研究的跟踪来阐述一些这方面的发展历史和事实。笔者写这本书既想照顾到普通读者对与这个领域想有所了解的需求,又想兼顾专业研究人员的一些需求,因而可能会使这本书显得不伦不类,但愿大家能各取所需吧。另外一些专业术语的中文翻译有可能不太准确,恳请见谅。

从 Watson 和 Crick (获 1962 年诺贝尔生理学或医学奖)发现 DNA 双螺旋结构到 20 世纪 70 年代开始的基因工程(genetic engineering),到 80 年代第一种转基因植物的诞生,再到 90 年代第一种转基因农作物的商业推广,之间不到 50 年的时间。和大多数其他新技术一样,这项技术引发过人们对它美好前景的欢呼,也引起了人们对它未知风险和危害的恐惧。从 1996 年第一种转基因农作物(抗除草剂大豆)的商业化种植到现在已有近 20 年时间,人们食用转基因农产品也已近 20 年。本书会用

一个章节的内容详细探讨它的益处与可能引发的危害。本书将从转基因农作物背后的生物科学,转基因农作物的研发和调控管理,转基因的作用原理,市场上的转基因农作物,转基因植物的其他用途,农作物基因改造的新技术,转基因农作物与国家粮食安全的关系,转基因农作物涉及的知识产权和人道主义援助问题,以及转基因农作物的前景分析等诸多方面进行论述和探讨,以期让读者阅读后对于转基因农作物有一个更好更全面的认识。关于转基因农作物的研究报告非常多,笔者在写这本书时尽可能地引用著名实验室出的研究报告和在严谨专业杂志上发表的研究报告,以期做到科学、严谨和实事求是。另外,本书将主要集中于对转基因农作物科学方面的探讨,对于转基因农作物引发的诸如宗教的冲突和人们因为宗教原因对转基因农作物的反对将不作评论。

希望这本书能引发人们对转基因农作物的认真思考和有意义的讨论,也恳请专业人士对其中谬误给予指正。

作者

2015年3月16日

目 录

第一章 基因是什么？	(1)
一、确认 DNA 是遗传物质的两个经典实验	(1)
二、基因是什么？	(4)
三、基因如何控制遗传性状	(7)
第二章 传统农作物育种方法	(11)
一、杂交育种	(13)
二、突变育种	(14)
三、分子育种	(14)
四、单倍体育种	(15)
五、代谢物标记育种	(16)
六、原生质体融合法育种	(17)
第三章 有机农作物、普通非转基因农作物和转基因农作物的区别	(18)
一、美国的有机农作物相关标准	(18)
二、中国的有机农作物相关标准	(21)
第四章 基因工程的发展以及基因工程改造生物的界定	(24)
一、基因工程的开始和两个经典实验	(24)
二、基因工程改造生物的界定	(26)

第五章 转基因农作物的研发与培育	(29)
一、基因的发现、分离和克隆	(29)
二、转基因的方法	(35)
三、再生植株	(41)
四、优质种质杂交	(45)
五、大田试验	(45)
六、申请批准	(46)
七、产品推广	(46)
第六章 转基因的作用原理	(47)
一、Bt 基因的作用原理	(47)
二、草甘膦的作用原理	(49)
三、草铵膦的作用原理	(50)
四、反义 RNA 技术的作用原理	(51)
五、基因沉默技术的作用原理	(51)
第七章 转基因农作物相关调控、审批与商业化	(53)
一、美国对于转基因农作物的调控和审批	(53)
二、欧盟对于转基因农作物的调控和审批	(64)
三、中国对于转基因农作物的调控和审批	(67)
第八章 市场上的转基因农作物	(69)
一、美国转基因农作物的概况	(71)
二、欧盟转基因农作物的概况	(74)
三、中国转基因农作物的概况	(76)
第九章 转基因农作物的益处、可能造成的危害和对人类健康 的影响	(80)
一、转基因农作物的益处	(81)
二、转基因农作物可能造成的危害	(89)
三、转基因农作物对人类健康的影响	(93)

第十章 转基因植物的其他用途	(105)
一、生产医用蛋白质	(105)
二、生产工业用酶	(112)
三、治理环境污染	(114)
四、提高可再生生物燃料的生产效率	(117)
第十一章 农作物基因工程的新技术	(119)
一、锌指核酸酶技术	(120)
二、类转录激活因子核酸酶技术	(121)
三、CRISPR/Cas9 系统	(122)
四、大范围核酸酶技术	(124)
五、RNA 干扰技术	(124)
六、DNA/RNA 寡聚核苷酸技术	(126)
七、人造染色体技术	(127)
第十二章 转基因农作物与食品安全	(129)
一、食品安全的含义	(129)
二、世界范围内是否存在食品安全问题	(130)
三、中国是否存在食品安全问题	(131)
四、加强中国食品安全的措施	(133)
第十三章 转基因农作物的知识产权与人道主义援助	(136)
一、转基因农作物的知识产权	(136)
二、专利保护与人道主义援助	(142)
第十四章 转基因农作物的前景展望	(144)
一、新的基因改造技术的应用	(144)
二、更多的转基因农作物来满足各种需求	(146)
三、新的测试方法的应用	(146)
四、公众参与讨论	(149)
五、产品标识的注明	(149)
六、控制利益集团的行为	(150)

七、超越自身经济利益,开放知识产权	(151)
附 录	(152)
附录一 美国批准的转基因农作物	(152)
附录二 目前已经上市和临床测试的利用植物系统生产的医用 蛋白质	(158)

■ 第一章 基因是什么？

人们经常会说谁谁家的孩子鼻子长得像爸爸，眼睛长得像妈妈。中国有句俗语叫作“种瓜得瓜，种豆得豆”。在生物学上这些特征被称为遗传性状，那么究竟是什么使得这些遗传性状得以从一代传到下一代，又是什么控制着这些遗传性状的传递？还有，人们时常注意到同样是一个家庭兄弟俩，长得却很不一样，这又是为什么？经过很多生物学家多年的研究，终于发现脱氧核糖核酸（DNA）是把这些遗传性状从一代传递到下一代的载体。DNA 早在 1869 年就被瑞士生物学家 Friedrich Miescher 从生物物质里分离出来，并在 1878 年由德国生物化学家 Albrecht Kossel（获 1910 年诺贝尔生理学或医学奖）分离出它的组成成分。不过直到 1943 年和 1952 年的两个经典实验才证明了 DNA 就是遗传物质，而不是当时普遍认为的蛋白质。

一、确认 DNA 是遗传物质的两个经典实验

下面简单地介绍一下这两个实验，以期读者能更好地理解生物实验的构思、操作，到后来的数据和现象分析，再提出相关理论的过程。

1. Avery-MacLeod-McCarty 实验

1928 年，英国微生物学家 Frederick Griffith 发现：两种肺炎链球菌，一种是光滑型的可以导致小白鼠患肺炎，另一种是褶皱型的不导致小白鼠患肺炎。杀死后的细菌不会再导致小白鼠肺炎，但是把杀死了的光滑型肺炎

链球菌(可导致肺炎)和活的褶皱型的肺炎链球菌(不致病型的)两种不同的细菌混合在一起,褶皱型不致病的肺炎球菌就会转变为光滑型致病的。但是人们当时并不知道是什么物质通过什么途径引起了这种转变。直到 1943 年美国生物学家 Oswald Avery, Colin MacLeod 和 Maclyn McCarty 用这两种肺炎链球菌菌株做了一系列的实验,证明了 DNA 是引起这种转变的物质。他们首先加热杀死光滑型的肺炎链球菌,再用除垢剂溶解细菌,然后用细菌溶解物做了一系列的实验。首先他们用细菌溶解物和褶皱型肺炎链球菌混合,发现褶皱型肺炎链球菌可以转变为光滑型的,这说明细菌溶解物里含有可以引起转变的物质。然后他们将细菌溶解物里的多糖用降解多糖的酶去除后再加入褶皱型肺炎链球菌,发现仍然可以转变为光滑型的,这说明多糖不是引起转变的物质。后来他们用蛋白酶将细菌溶解物里的蛋白质降解掉,再加入褶皱型肺炎链球菌,发现仍然可以转变为光滑型的,这说明蛋白质也不是引起转变的物质。既然多糖和蛋白质都不是引起转变的物质,他们因此猜测核酸(DNA 和 RNA)可能是引起转变的物质。他们就用沉淀和降解的方法分别将细菌溶解物中的蛋白质和多糖除去,然后用酒精将核酸沉淀分离,再重新将核酸溶解到水里,然后用核糖核酸酶(RNase)降解去除其中的核糖核酸(RNA),再将唯一剩下的 DNA 和褶皱型肺炎链球菌混合,发现褶皱型肺炎链球菌可以转变为光滑型的。当他们把唯一剩余的 DNA 用 DNA 降解酶(DNase)也降解掉后,转变就不能发生了。至此他们证明了 DNA 就是引起转变的物质。这项发现的意义非常重大,它推翻了当时蛋白质是性状遗传的传递者的流行看法。它和以后的 Hershey-Chase 实验一起证实了 DNA 才是遗传物质,这两个实验和后来 Watson 与 Crick 的 DNA 双螺旋结构的发现为现代分子生物学的迅猛发展奠定了基石,遗憾的是他们并没有为此获得诺贝尔奖。由于当时的技术条件和生物知识水平的局限,尽管从这个实验的结果知道 DNA 是引起性状转化的物质,但是人们并不知道这种引起性状转化的 DNA 的性质。现在对于这种 DNA 的性质已经非常清楚,它们是一类存在于细菌里的小型环状 DNA,这种 DNA 被称为质粒,它们可以在特定的条件下转入细菌。这种环状质粒 DNA 在用加热或除垢剂杀死细菌后仍然可以完整存在。关于质粒,后面的章节将会更详细地介绍。读者如果有兴趣可以参看这个实验报告的英文原文:Oswald Avery, Colin MacLeod, Maclyn McCarty. Studies on the chemical nature of

the substance inducing transformation of Pneumococcal type: induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from Pneumococcus type III. Journal of Experimental Medicine, 1944, 79 (2): 137-158.

2. Hershey-Chase 实验

Avery-MacLeod-McCarty 实验证实了 DNA 是引起性状转化的物质,而 Hershey-Chase 实验则直接证实了 DNA 就是遗传物质而不是蛋白质。

1952 年,美国微生物学家 Alfred Hershey(获 1969 年诺贝尔生理学或医学奖)和遗传学家 Martha Chase 用 T2 噬菌体(一种侵染细菌的病毒)做了一系列的实验。T2 噬菌体病毒有一个蛋白质构建的外壳包裹着里面的 DNA,当它侵染细菌后,噬菌体就开始利用细菌的一套系统来生产组装新的噬菌体,等到繁殖到一定数量,细菌就会被杀死,然后释放出新的噬菌体去侵染其他的细菌。Alfred Hershey 和 Martha Chase 为了验证蛋白质和 DNA 哪一个遗传物质,做了一系列的实验。他们将细菌分两批培养,分别加入不同的放射性同位素。一个细菌培养里加入只有蛋白质合成才能利用的放射性同位素³⁵S,另一个细菌培养里加入只有 DNA 合成才能利用的放射性同位素³²P。然后加入噬菌体到两个细菌培养里,这样在两个细菌培养物里繁殖的噬菌体就有这样的不同:一种噬菌体带有同位素³⁵S标记的蛋白质外壳和没有同位素标记的 DNA,另一种带有没有同位素标记的蛋白质外壳和有同位素³²P标记的 DNA。然后他们用这两种噬菌体去分别侵染细菌,之后用离心的方法收集纯细菌。他们通过同位素检测发现,用带有同位素³⁵S标记蛋白质外壳和无同位素标记 DNA 的噬菌体侵染的细菌里没有同位素³⁵S,这说明噬菌体的蛋白质外壳在噬菌体侵染细菌时没有进入细菌。而且他们还发现在这个细菌培养物里产生的噬菌体后代也没有同位素³⁵S。而用无同位素标记蛋白质外壳和有同位素³²P标记 DNA 的噬菌体侵染的细菌里发现有同位素³²P,而且这个培养物产生的噬菌体后代也有同位素³²P。这一系列的实验证明了噬菌体在侵染细菌时,蛋白质外壳并没有进入细菌,而是 DNA 进入了细菌,而且只需要 DNA 就可以在细菌里繁殖出新的噬菌体。这就证明了 DNA 才是控制遗传性状从一代传到另一代的物质。图 1-1 是噬菌体侵染细菌的示意图。

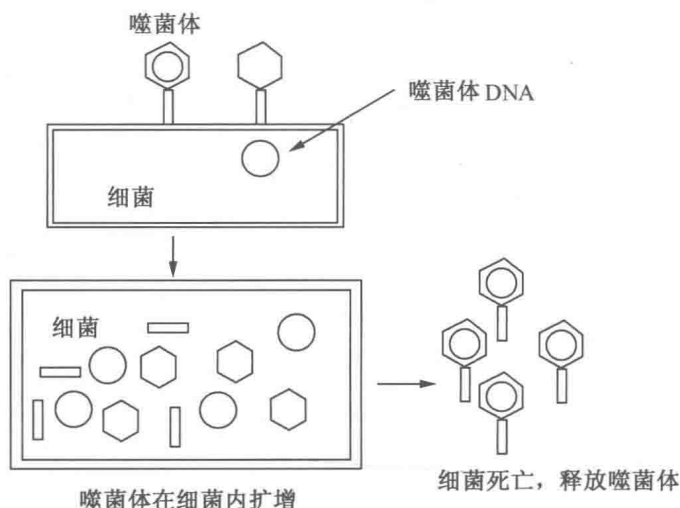


图 1-1 噬菌体侵染细菌示意图

注：噬菌体侵染细菌时 DNA 进入细菌，然后根据 DNA 上的信息再生产组装出新的噬菌体，噬菌体的蛋白质外壳并没有进入细菌。

二、基因是什么？

在知道了 DNA 是遗传物质之后，那么具体来说 DNA 到底是什么？基因到底是什么？前面提到过，早在 1878 年就由德国生物化学家 Albrecht Kossel 分离出它的组成成分，DNA 是由四种碱基（其结构式见图 1-2）——腺嘌呤 A，胸腺嘧啶 T，鸟嘌呤 G，胞嘧啶 C 和磷酸脱氧核糖骨架组成的。

下面用一个简单的 DNA 片段的结构示意图（见图 1-3）来解释 DNA 是怎么组成的。

读者可以由这个示意图看出 DNA 是由两条链组成的，每条链上的碱基通过磷酸二酯键结合在一起形成非常稳定的链结构，而链与链之间是通过氢键作用形成 A 与 T 配对和 G 与 C 配对，以此将两条链组合在一起形成 DNA 大分子。DNA 就是通过这四种碱基不同的排列组合来保存不同的遗传信息的。由于氢键结合力比较弱，因此在高温条件下，两条链可以分开，DNA 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 就是利用高温将两

条链分开,再用耐高温的 DNA 聚合酶进行 DNA 合成。

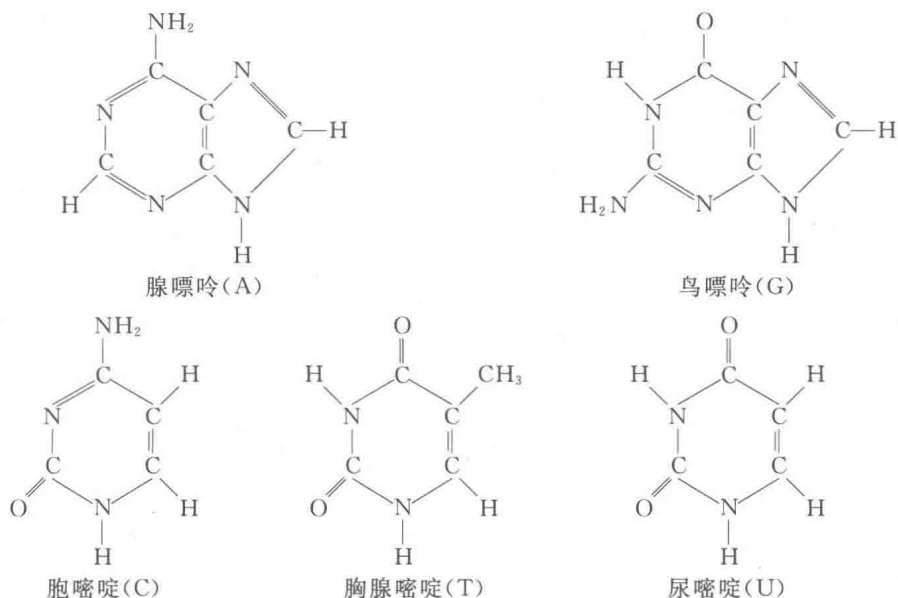


图 1-2 DNA 和 RNA 含有的碱基结构式

注:DNA 和核糖核酸(RNA)含有的碱基,DNA 含有 A,G,C 和 T;RNA 含有 A,G,C 和 U。

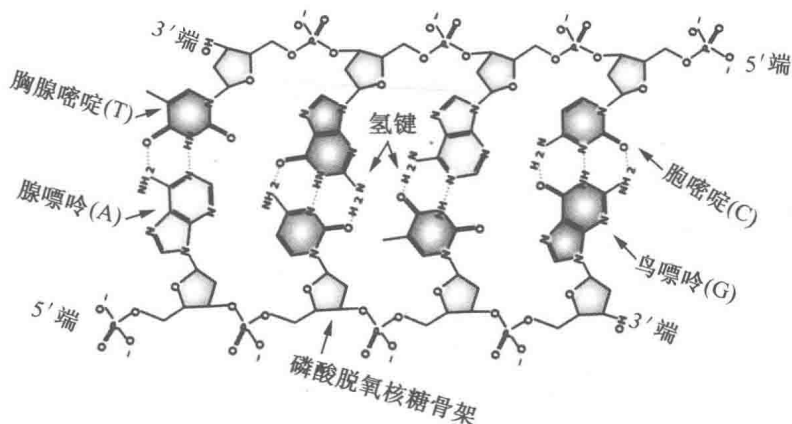


图 1-3 DNA 片段的结构示意图

注:每条 DNA 链上的脱氧核糖通过磷酸二酯键构成磷酸脱氧核糖骨架,链上的碱基通过氢键和另一条链上的碱基配对,图中虚线表示在两条链之间形成的氢键。

DNA 的碱基排列序列被称为它的一级结构,DNA 双螺旋是 DNA 的二级结构,DNA 双螺旋再和蛋白质结合组装成染色质,在细胞分裂时染色质被压缩组装成染色体。因为这些与本书所要讨论的主要内容联系不是很大,在此不作详细叙述。

那么 DNA 存在于哪里呢? 让我们以植物为例来说明 DNA 在哪里。一个植物个体是由很多具有不同功能的生命单元——细胞所组成的,图 1-4 是一个典型植物细胞结构示意图。

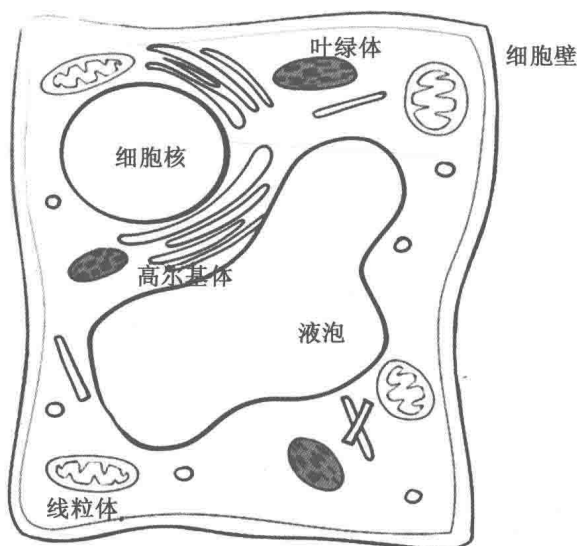


图 1-4 一个典型植物细胞结构示意图

在细胞里,绝大部分 DNA 存在于一个叫细胞核的细胞器里面(细胞器是指细胞内一些由脂膜和其他细胞物质隔开的亚单位,它们行使不同的功能,比如叶绿体是进行光合作用的细胞器,细胞核是 DNA 保存复制和 RNA 合成的细胞器)。那么 DNA 又是怎么控制遗传性状的呢? 简单地说,DNA 是通过它上面存在的基因来控制遗传性状的。什么是基因? 基因就是一段编码核糖核酸 RNA 的 DNA 序列,这包括它的编码序列和一些有调控作用的非编码序列。基因编码的 RNA 有的是用于编码蛋白质的,有的是不编码蛋白质的。这个基因定义通俗的解释就是基因是由不同碱基组合到一起的一段 DNA,这段 DNA 的功能就是编码 RNA 的。

三、基因如何控制遗传性状

让我们通过所谓的中心法则(central dogma)的示意图(见图 1-5)来看一下基因是如何来控制遗传性状的。简单地描述这个过程就是以 DNA 为模板合成 RNA,再以 RNA 为模板合成蛋白质。以基因为模板合成 RNA 的过程称为转录, RNA 转录后被加工为“成品”RNA 的过程称为 RNA 的剪切,核糖体利用 RNA 合成蛋白质的过程称为翻译,从基因到蛋白质的整个过程称为基因表达。读者在此不必详细了解基因的组成部分以及它们的功能,后面的章节还会有更详细的介绍。

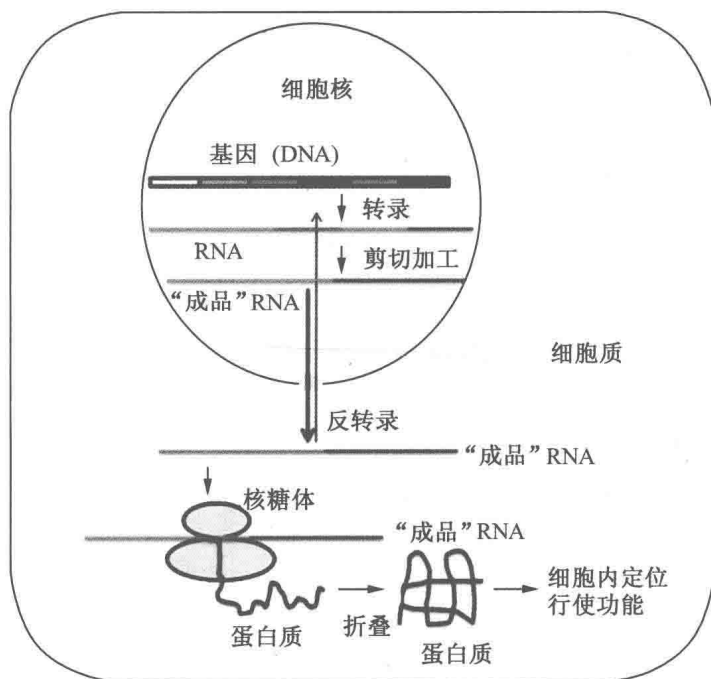


图 1-5 中心法则示意图

注:首先在细胞核内,以 DNA 为模板转录出 RNA,然后再经过一系列的加工形成最后的“成品” RNA, RNA 然后被运出细胞核外。值得指出的是 RNA 是不同碱基组成的单链结构。编码蛋白质的 RNA 被称作信使 RNA(mRNA),它们经由核糖体(Ribosome)合成出相应的蛋白质,蛋白质经过正确的折叠后形成有功能的蛋白质,然后再被运输到细胞里不同的地方行使它们的功能。

可以看出基因是通过编码 RNA,然后再利用 RNA 合成蛋白质来起作用的。比如这个最后合成的蛋白质是一个控制花瓣中红色色素合成的酶,那么有了这个蛋白质之后,红色色素在花瓣中被合成,人们就看到了红色的花瓣。前面提到过,有的基因编码的 RNA 并不用来合成蛋白质,这类基因编码的 RNA 在细胞功能里起的作用也很重要。

那么基因到底是如何通过 RNA 来编码不同的蛋白质呢?首先让我们看一下蛋白质的构成,蛋白质是由不同氨基酸通过叫作肽键的共价化学键结合在一起组成的。组成蛋白质的氨基酸一共有 20 种,不同的蛋白质由不同的氨基酸排列组合在一起形成。在细胞核内以基因为模板合成 RNA,就是以基因的特定碱基组合顺序合成一个与之对应的、有着特定碱基排列组合的 RNA,在 RNA 上每三个碱基对应一个氨基酸,这三个碱基组合被称为氨基酸密码子(codon)。表 1-1 就是与各种氨基酸相对应的密码子,在以基因为模板合成 RNA 时,基因序列中的胸腺嘧啶 T 在 RNA 里由尿嘧啶 U 来代替。大多数氨基酸有多个密码子,不同的生物使用的密码子不同,比如丙氨酸,有的生物用 GCC,有的生物用 GCA。其中起始密码子告诉核糖体在利用 RNA 和氨基酸合成蛋白质时从何处开始,而终止密码子则控制蛋白质合成在何处结束。

表 1-1 20 种氨基酸对应的密码子表

氨基酸	密码子	氨基酸	密码子
丙氨酸	GCU, GCC, GCA, GCG	亮氨酸	UUA, UUG, CUU, CUC, CUA, CUG
精氨酸	CGU, CGC, CGA, CGG, AGA, AGG	赖氨酸	AAA, AAG
天冬酰胺	AAU, AAC	甲硫氨酸	AUG
天冬氨酸	GAU, GAC	苯丙氨酸	UUU, UUC
半胱氨酸	UGU, UGC	脯氨酸	CCU, CCC, CCA, CCG
谷氨酰胺	CAA, CAG	丝氨酸	UCU, UCC, UCA, UCG, AGU, AGC
谷氨酸	GAA, GAG	苏氨酸	ACU, ACC, ACA, ACG
甘氨酸	GGU, GGC, GGA, GGG	色氨酸	UGG
组氨酸	CAU, CAC	酪氨酸	UAU, UAC
异亮氨酸	AUU, AUC, AUA	缬氨酸	GUU, GUC, GUA, GUG
起始密码子	AUG, GUG	终止密码子	UAA, UGA, UAG