

#### 4.2 LF及乳铁素将实现工业化生产

随着LF的分子结构、氨基酸序列、等电点及功能区域的研究清楚,根据其分子量大小和带电性,采用超滤法和吸附法分离提纯LF在国内已通过中试,原料一次处理量达到300kg,有望在近期实现工业化生产。将LF酶解生成抗菌活性多肽—乳铁素的研究也取得了很大进展,工业化生产途径正在研究,有望开发出安全高效的天然防腐剂,广泛应用于食品、药品及化妆品领域<sup>[21]</sup>。

#### 4.3 LF的多种生物学功能将得到进一步的开发利用

随着LF的分离纯化技术的完善,生产成本的下降,LF应用也将更加广泛:在婴幼儿食品中添加LF,可增强免疫力、促进生长发育;在口香糖、化妆品、胶囊或饮料中添加LF,作为补铁制剂用来治疗和预防铁缺乏症,或用于治疗腹泻、STU症及增强抗炎症能力等;LF还可用于人乳腺炎等疾病的治疗;LF的抗氧化性可延长大豆油等油脂的保质期。此外,炎症发生时激活中性白细胞产生并释放LF,血液中的含量也随之增加,因此LF可作为免疫反应指标,也可作为中性白细胞动力学、粒细胞白血病、慢性髓样白血病、囊性纤维病变、关节炎等疾病诊断指标;LF抗体可以作为Felty's综合症诊断指标;LF还可应用于肺癌的诊断和分析<sup>[22]</sup>。总之,随着研究的不断深入,LF的多种生物学功能将得到广泛应用。

#### 参考文献:

- [1] 曹劲松. 初乳功能性食品[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2000.
- [2] Hiroyuki Tsuda, Kazunori Sekine, et al. Milk and dairy products in cancer prevention: focus on bovine lactoferrin[J]. Mutation Research, 2000, 462: 227-233.
- [3] Keiichi S Z. Lactoferrin: A marvelous protein in milk [J]. Animal Science Journal, 2000, 71(4): 329-347
- [4] Masanori Ikeda, Akito Nozaki, et al. Characterization of antiviral activity of lactoferrin against hepatitis C virus infection in human cultured cells[J]. Virus Research, 2000, 66: 51-63.
- [5] Naidu A.S. Immobilized lactoferrin antimicrobial agents and the use [P]. US Patent 6,172,040 B1, 2001.
- [6] Dalmastri C, Valenti P, et al. Enhanced antimicrobial activity of lactoferrin by binding to the bacterial surface [J]. Microbiological, 1998, 11: 225-230.
- [7] Naidu A, Satyanarayan. Activated lactoferrin a new approach to meat safety [J]. Food Technology, 2002, 56(3): 40-45.
- [8] 薛京伦, 卢大儒. 乳腺生物反应器的研究现状[J]. 生物技术通报, 1998, 3: 17-20.
- [9] Patrick H C, van Berkel, Mick M, Welling, et al. Large scale production of recombinant human lactoferrin in the milk of transgenic cows [J]. Transgenic Research, 2000, 9: 71-78.
- [10] 曹阳, 高华颖, 于黎, 等. 人乳铁蛋白基因克隆及细胞表达研究[J]. 遗传, 2002, 24(1): 9-14.
- [11] 凌雪萍, 庞广昌, 李国强. 乳铁蛋白的最新研究进展[J]. 食品科学, 2003, 24(1): 160-163.
- [12] 张大兵. 中国科学院上海植物生理研究所研究生毕业论文, 1998.
- [13] Daniel K X, Chong, William H R. Expression of full-length bioactive antimicrobial human lactoferrin in potato plants [J]. Transgenic Research, 2000, 9: 71-78.
- [14] Liang Q, Richardson T. Expression of human lactoferrin in *S. cerevisiae* [J]. Agric Food Chem, 1993, 41: 1800-1807.
- [15] Ward P P, May G S, et al. An inducible expression system for the production of human lactoferrin in *Aspergillus nidulans* [J]. Gene, 1992, 122: 219-223.
- [16] Conneely O M. PCT Patent, WO/93/22348.
- [17] 岛崎敬一, 黑田清隆. 限外滤过膜によるチズホエ中のタンパク質成分の分画について[J]. 酪农科学・食品の研究, 1989, 38(6): 95-102.
- [18] DUBOLS E. Process for separate from whey or from milk protein of high molecular mass such as immunoglobulins or lactoferrin [P]. 法国专利: FRP 2605322. 1988.
- [19] 卢蓉蓉, 许时婴, 王璋, 等. 预分离初乳中乳铁蛋白的超滤工艺[J]. 食品与生物技术, 2002, 21(1): 67-70.
- [20] 凌雪萍, 庞广昌, 李国强. 牛初乳中乳铁蛋白的分离及纯化[J]. 食品工业科技, 2002, 23(12): 40-41.
- [21] W. Bellarmy, M. Takase, H. Wakabayashi, et al. Antibacterial spectrum of lactoferricin B, a potent bactericidal peptide derived from the N-terminal region of bovine [J]. Journal of Applied Bacteriology, 1992, 73: 472-479.
- [22] 王崇道, 强亦忠. 乳铁蛋白的提纯及其放射免疫分析在肺癌诊断中的应用[J]. 同位素, 1999, 12(1): 5-8.

## 生物技术食品的安全性及其评价方法

郑大明

(山东省疾病预防控制中心, 山东 济南 250014)

摘要: 生物技术食品是指利用基因工程技术将外源性基因转移至各种微生物、植物和动物体内, 或通过改变现

收稿日期: 2003-07-16

作者简介: 郑大明(1976-), 女, 主管技师, 研究方向为食品微生物检验。

有基因表达等方式所生产的食品。本文简要介绍了生物技术食品安全性评价的实质等效性概念,并就转基因及其产物的内在毒性,新的遗传物质插入宿主基因组所造成的意外影响两大主要问题从理论推测和实验结果评述两个方面对生物技术食品安全性进行全面的分析和探讨。另外叙述并分析了目前的安全性评价方法的现状和挑战。

**关键词:** 生物技术食品; 安全性; 转基因; 评价

## The Safety and Its Evaluation of Biotechnology-derived Foods

ZHENG Da-ming

(Shandong Province Center for Disease Control and Prevention, Jinan 250014, China)

**Abstract:** Biotechnology-derived (BD) foods are those foods produced from gene modified organisms, which are developed by those processes whereby genes that are not endogenous to the organism are transferred to microorganisms, plants, or animals employed in food production, or where the expression of existing genes is permanently modified, using the techniques of existing genes is permanently modified, using the techniques of genetic engineering. It was briefly introduced the concept of substantial equivalence for the assessment of safety for BD foods. Two key issues for the safety of BD foods, i.e. the inherent toxicity of the transgenes and their products, and unintended effects resulting from the insertion of the new genetic material into host genome, were analyzed and discussed from the perspectives of both theoretic conjecture and reviews of trial results. The status and challenges of current safety assessment methodologies for BD foods were also summarized.

**Key words:** biotechnology-derived foods; safety; transgene; evaluation

中图分类号: TS201.6

文献标识码: B

文章编号: 1002-6630(2004)03-0195-04

生物技术(Biotechnology-Derived, BD)食品是指利用基因工程技术将外源性基因(转基因)转移至各种微生物、植物和动物体内,或通过改变现有基因表达等方式所生产的食品。BD食品过去也称为基因改造(Genetically Modified, GM)食品;但由于常规的动植物育种也涉及到基因改造,并且其基因改变的幅度要大于转基因方法,现已很少使用。因此对转基因食品而言,评价其对人体和环境的安全性主要是针对此类食品本身,而非基因改造的过程。BD食品上市现已超过十年,在其安全性评价方面已积累了丰富的经验,本文重点综述近年来在BD食品的主要安全性问题,其安全性评价的原则和方法等方面的研究进展。

### 1 BD食品的潜在毒性

BD食品的生产过程一般都涉及转基因,在基因转移过程中除向宿主转移某些所期望的目的基因之外,还包括启动子和性状选择标记基因;后者主要用于分离转化细胞或转化体。植物中常见的选择标记包括抗生素(卡那霉素、新霉素或氨苄霉素)或杀虫剂耐受基因。

与BD食品潜在毒性有关的有以下两个重要问题:转基因及其产物的内在毒性,新的遗传物质插入宿主基因组所造成的意外影响(突变作用或多向性效应)。后者包括宿主固有的有毒或药理活性物质表达升高,宿主正常基因的沉默或宿主代谢途径的改变。

### 2 实质等效性概念

欧洲和美国的管理机构评价BD食品的指导原则为:将BD食品与目前正在使用的对应产品或过程对比考虑时,评价其对人类和环境的安全性效果最好。并由此产生“实质等效性”这一概念<sup>[1]</sup>。

即若某一新食品与一种现有食品在组成成分和营养价值方面均实质等效,其安全性则与常规食品相等,且无需进行广泛的安全性检测。实质等效性评价包括:转基因特性及其对宿主可能的影响等方面的考虑,测定蛋白质、脂肪、淀粉含量和氨基酸组成,测定维生素和矿物质等含量,检测已知变应原和毒物的含量。据此可将BD食品分为以下几类:与现有食品实质等效,除某些方面存在差异外与现有食品实质等效,或非等效。对非等效性食品应进行广泛的安全性检测。虽然目前对BD食品安全性评价的“实质等效性”原则还存在较大的争议,但最近全美总会计署认为目前的BD食品安全性评价方案是合适有效的<sup>[2]</sup>。

### 3 BD食品对人体健康的几个关键问题

#### 3.1 转基因是否有毒?它能否转移到消费者的基因组中?

人体每天至少要从膳食中摄入0.1~1g DNA<sup>[3]</sup>,因此基因改造类植物中的转基因对人消化道而言并非是新物质,且含量极低。如转基因玉米中的转基因仅占总DNA的

0.0001%。多年的研究表明膳食DNA本身无直接毒性。相反,外源性核苷酸对肠道功能和免疫系统还有很大的益处<sup>[4]</sup>。同样,人体已进化出多种机制防止外来DNA的掺入和表达:消化过程中对DNA的广泛降解,切除已整合的外源DNA,DNA定向甲基化使外来基因沉默<sup>[5]</sup>。虽然膳食DNA在哺乳动物体内的命运尚待进一步研究,但是BD食品通过直接毒性或基因转移对人体造成有害效应的可能性很小。

### 3.2 转基因所编码的蛋白质是否对消费者或食品工作者有害?

#### 3.2.1 产生毒素

某些转基因植物利用所转入的细菌而产生对病虫害的天然抵抗力,但植物本身也随之会产生细菌毒素[如苏云金杆菌(Bt)、内毒素。毒素本身及其生产过程的风险水平可通过标准的毒理学试验来评价。如美国环保局对Bt内毒素的评价即采用此种方法。由于Bt内毒素易被消化,对哺乳动物无固有毒性<sup>[6]</sup>,因而含Bt毒素的BD食品对人是安全的。同化学物质的安全性评价一样,新的转基因产品的安全性应从接触水平和毒素的毒性大小两方面综合考虑。

#### 3.2.2 产生变应原

变应原性是最令人关心的转基因食品问题。与变应原性有关的问题包括:新基因的产物是否能在对同一蛋白或结构类似蛋白敏感的个体体内诱发变态反应?转基因技术能否改变宿主植物中现有的蛋白质变应原的表达水平?新基因的产物是否能在易感个体中诱导新的致敏反应?

蛋白质的变应原性评价方法近年来发展较快,目前应用最为广泛的是国际生命科学研究所(ILSI)所建立的分级评价法<sup>[7]</sup>。其它各种评价方法的基本原理包括以下3个方面的内容:

确定结构相似性,序列同源性和血清学等同性 确定新蛋白与已知的其它蛋白质变应原是否相似及相似的程度。首先确定新蛋白的整体结构与已知变应原的相似性;其次再通过蛋白质序列数据库比对确定新蛋白的整个氨基酸序列或某些区域与已知变应原的同源性,若与已知变应原存在完全序列等同性则表明有共同的抗原表位;第三,确定从致敏个体中所采集的特异性IgE抗体能否识别新蛋白。

评价蛋白的降解稳定性 蛋白质的变应原性与抗降解性有较高的相关性,因为抗降解作用可促进变态反应的诱发<sup>[8]</sup>。因此,测定新蛋白对胰蛋白酶及模拟胃液的敏感性是评价蛋白质变应原性的一种途径。

使用实验动物模型 目前尚未见被广泛接受的筛选蛋白质变应原的动物模型。然而近年来有多家实验室报道利用啮齿类和其它动物评价蛋白质变应原的方法<sup>[9]</sup>。如Penninks等<sup>[10]</sup>利用挪威棕鼠评价食品蛋白的变态反应潜能,发现血清特异性IgE抗体水平,胃肠道粘膜的通透性,呼吸频率及血压是反映经口摄入导致食品变态反应的敏感指标。Dearman等<sup>[11]</sup>发现BALB/C小鼠腹腔注射评价蛋白质变应原比经口

灌胃给药要更为敏感。

至今为止仅有1例基因工程向食品中导入人类变应原案例报道。为提高大豆的营养价值,有公司将富含蛋氨酸的巴西核果蛋白,即2S白蛋白导入转基因大豆中;巴西核果可诱发变态反应,故Nordlee等<sup>[12]</sup>检测巴西核果过敏者血清对新品种大豆的反应性,结果发现新品种大豆具有强变应原性。该产品进一步开发也因此被终止。

### 3.3 插入转基因是否增强宿主体内的毒素或药理活性物质的潜在危害性?

目前在遗传工程试验中,被转移的基因大多随机插入到基因组内,因而可能导致多向性效应和插入突变。前者是指单个基因引起宿主出现多种表型改变,后者是指插入新基因引起其他基因的表达改变。这两种变化均可导致宿主代谢速率改变或出现新的代谢反应<sup>[13]</sup>。

美国农业部动植物卫生监督服务局通过5000次以上的田间试验,在70多种转基因植物的研究中仅发现1种由转基因所导致的插入突变,即矮牵牛花因甲基化沉默突变引起花色的模式改变。此外,在至今已上市的转基因植物中也未见转基因导致的植物有毒成分或药理活性成分发生改变。但Sullivan等<sup>[14]</sup>报道嗜酸性粒细胞肌痛综合症爆发与食用经基因改造的色氨酸膳食补充剂有关。虽然插入转基因导致宿主代谢途径改变的发生率不高,但是为了进一步阐明这一问题应采用代谢组学,转录组学等新的研究手段确定是否存在新的次生代谢产物<sup>[15]</sup>。

### 3.4 抗生素耐药性标记基因可能从所摄入的BD食品向胃肠道微生物转移,是否会因此对人造成危害?

致病菌出现抗生素耐药性是一个非常重要的人体健康问题。不过由于胃肠道能有效降解耐药性基因,植物与微生物之间基因转移的速率过低BD食品中的耐药性标记基因向胃肠道转移的可能性极低,也未见有关的试验报道。事实上目前环境中已广泛存在抗生素耐药性基因,如人胃肠道菌落中约有 $10^{12}$ 个耐卡那霉素细菌<sup>[16]</sup>。此外,目前已有不使用抗生素耐药性的基因转移技术,今后BD食品中很可能也不再包含此类标记基因<sup>[16]</sup>,因而未来的BD食品已无须担心这一问题。

### 3.5 基因转移是否对BD食品的营养价值有不良影响?

经检测BD食品在常量和微量营养素的含量上均与常规育种所生产的食品相当。如耐增甘腴大豆种籽及烤豆面的蛋白质、油脂、纤维素、灰分、碳水化合物及水分含量,氨基酸及脂肪酸组成均与一般大豆相近。但豆类中常见的抗营养素(胰蛋白酶抑制剂、卵磷脂和异黄酮)含量BD大豆要略高<sup>[17]</sup>。此外,大鼠、鸡、奶牛、鲑鱼的饲养试验表明两种食品的营养价值无明显差异<sup>[18]</sup>。其他转基因作物的家畜饲养试验也证明BD食品的营养价值未见明显降低。

## 4 BD食品安全性评价的未来挑战

目前的化学物安全性评价方法主要是评价单个化学物的

毒性,然而食品是多种化学物的复杂混合物。动物模型只能评价膳食中某一组分,如Bt内毒素的安全性。未来的基因技术可能对植物的化学组成进行更为复杂的操作,因而安全性评价也更富挑战性。另外BD食品中的新组分可能与已知的有毒成分发生不利的相互作用,毒理学家对此尚无恰当的解决办法。所有这些均要求急需建立评价整个食品安全性的有效方法<sup>[19]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] Kuiper H A, Kleter G A, Notchurn H P J M, et al. Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods[J]. *Plant J*, 2001, 27: 503-528.
- [2] U S General Accounting Office. Genetically modified foods: experts view regiment of safety tests as adequate, but FDA is evaluation process could be enhanced[D]. Document GAO-02-566.
- [3] Doerfler W. Foreign DNA in mammalian systems[M]. Wiley-VCH, Weinheim, 2000.
- [4] Carver J D. Dietary nucleotides: effects on the immune and gastrointestinal systems[J]. *Acta Paed*, 1999, 88(1): 83-88.
- [5] Doerfler W. Patterns of DNA methylation-evolutional vestiges of foreign DNA inactivation as a host defense mechanism[J]. *Biol Chem Hoppe-Seyler*, 1991, 372: 557-564.
- [6] Siegel J P. The mammalian safety of *Bacillus thuringiensis*-based insecticides[J]. *J. Invertebr. Pathol*, 2001, 77: 13-21.
- [7] Metcalfe D D, Astwood J D, Townsedn R, et al. Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants[J]. *Crit Rev Food Sci. Nutr*, 1996, 36(1): 165-186.
- [8] Astwood J D, Leach J N, Fuchs R L. Stability of food allergens to digestion in vitro[J]. *Nature Biotechnol*, 1996, 14: 1269-1273.
- [9] Kimber I, Dearman R J. Can animal models predict food allergenicity[J]. *Nutr Bull*, 2001, 26: 127-131.
- [10] Penninks A H, Knippels L M J. Determination of protein allergenicity: studies in rats[J]. *Toxicol Lett*, 2001, 120: 171-180.
- [11] Dearman R J, Kimber I. Determination of protein allergenicity: studies in the mice[J]. *Toxicol Lett*, 2001, 120: 181-186.
- [12] Nordlee J A, Taylor S L, Townsedn J A, et al. Identification of a Brazil nut allergen in transgenic soybeans[J]. *N Engl J Med*, 1996, 334: 688-692.
- [13] Conner A J, Jacobs J M E. Genetic engineering of crops as potential source of genetic hazard in the human diet[J]. *Mutat Res Genet Tox Environ Mutagen*, 1999, 443: 223-234.
- [14] Sullivan E A, Staehling N, Philen R M. Eosinophilia-myalgia syndrome among non-L-tryptophan users and pre-epidemic cases[J]. *Rheumatol*, 1996, 23: 1784-1787.
- [15] Flavell R B, Dart E, Fuchs R L, et al. Selectable marker gene: safe for plants[J]. *Biotechnology (N.Y.)*, 1992, 10: 141-144.
- [16] Koprck T, Mc Elroy D, Louwerse J, et al. An efficient method for dispersing Ds elements in the barley genome as a tool for determining gene function[J]. *Plant J*, 2000, 24: 253-263.
- [17] Padgett sr, Taylor N B, Nida D L, et al. The composition of glyphosate tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans[J]. *J Nutr*, 1996, 126: 702-716.
- [18] Hammond B G, Vicini J L, Hartnell G F, et al. The feeding value of soybean fed to rats, chickens, catfish, and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance[J]. *J Nutr*, 1996, 126: 717-727.
- [19] Royal Society of Canada. Report of the expert panel on the future of food biotechnology[M]. Royal Society of Canada, Ottawa, Ontario, 2001.

## 中国乳业发展状况

黄筱声

(中国食品协会, 北京 102218)

**摘要:** 阐述中国乳业的现状、发展趋势、中国乳业的竞争要遵纪守法、中国乳业的发展要靠科技振兴。针对部分媒体有关乳业生产和消费方面的概念炒作, 本文对杀菌乳、灭菌乳、酸奶、乳酸菌饮料、还原奶、早产奶、奶粉、奶酪等乳制品作了概念上的澄清, 并对“乳糖不耐受症”作了综合表述。

**关键词:** 乳; 乳制品; 产品; 产量; 发展; 膳食结构; 科技振兴乳业

### The Developing State of China Milk Industry

收稿日期: 2004-01-15

作者简介: 黄筱声, 男, 高级工程师。