

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2013.01360

# 组学技术评价转基因农作物的非预期效应

赵艳, 李燕燕

浙江工商大学食品与生物工程学院, 杭州 310018

**摘要:** 安全性评价是转基因农作物商品化应用的必要环节。组学技术能在转录物、蛋白质、代谢物水平上对转基因农作物进行无偏倚的安全性评价。文章综述了近 10 年来应用转录组学、蛋白质组学和代谢物组学技术评价转基因农作物非预期效应的研究进展, 结果表明在转基因农作物非预期变异中, 环境因素(种植地点和季节)和基因型差异比转基因本身的影响更大。

**关键词:** 转基因农作物; 非预期效应; 转录组学; 蛋白质组学; 代谢组学

## Unintended effects assessment of genetically modified crops using omics techniques

ZHAO Yan, LI Yan-Yan

College of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018, China

**Abstract:** Safety assessment is the essential process for commercial application of genetically modified (GM) crops. Omics techniques can be used to evaluate the safety of GM crops unbiasedly at different biological levels, such as transcripts, proteins and metabolites. In the present review, the researches on unintended effects assessment of GM crops using transcriptomic, proteomic and metabolomic techniques in recent ten years have been summarized. The facts show that the environmental factors (growing area and season) and genotype difference play greater roles than gene insertion does for most unintended variations in GM crops.

**Keywords:** genetically modified crops; unintended effects; transcriptomics; proteomics; metabolomics

转基因作物也称为遗传修饰(Genetically modified, GM)作物, 是指利用现代基因工程技术将外源基因导入农作物从而得到遗传性状改良的植物新品种。2012 年, 全球转基因农作物种植面积达到 1 703 亿公顷, 比 2011 年的 1.6 亿公顷增长了 6%。从 1996 年~2012 年, 转基因农作物种植面积增加了 100 倍, 连续 17 年持续增加, 使得转基因技术以可观的利润

成为现代农业技术史上应用最为迅速的生物技术<sup>[1]</sup>。同时, 人们对转基因植物潜在的生态环境危害尤其是转基因食品对消费者的食用安全性表示担忧, 尽管尚缺乏关于转基因食品具有风险的直接证据, 围绕转基因食品的安全性问题仍一直争论不休<sup>[2]</sup>。因此, 对转基因农作物及食品的安全性评价必不可少。1993 年OECD(Organization for Economic Co-

收稿日期: 2013-06-11; 修回日期: 2013-09-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30871511)和农业部转基因新品种培育重大专项项目(编号: 2011ZX08010-003)资助

作者简介: 赵艳, 博士, 教授, 研究方向: 植物生化与分子生物学。Tel: 0571-88071024-7579; E-mail: yanzhao9918@163.com

网络出版时间: 2013-11-11 15:20:40

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20131111.1520.001.html>

operation and Development)提出了实质等同性原则,即如果转基因食品在组成、营养价值、拟议用途上没有变化,那么可以认为它与非转基因食品是等同的。此后实质等同性原则被广泛应用于转基因产品的安全性评价、审批、监管<sup>[3]</sup>,并建立了一些主要栽培作物详细成分的数据库,作为转基因农作物成分评价的基准,例如the ILSI Crop Composition Database (ILSI, <http://www.cropcomposition.org>)收录了玉米、棉花及大豆的成分数据<sup>[4]</sup>。

基于实质等同性原则对转基因食品的安全性评价,能定向比较转基因植物与其亲本对照之间在营养成分、抗营养成分、毒素成分等是否等同,却无法显示转基因植物可能产生的非预期效应。非预期效应(Unintended effects)是指除了由目的基因插入产生的可预料效应之外,在相同环境和条件下种植的GM植物与非转基因亲本在表型、反应和成分上所表现的统计学显著差异<sup>[5]</sup>。遗传转化的本质是外源基因在受体基因组的整合,在此过程中,可能引起受体植物基因组内固有基因的断裂,插入突变、激活或沉默,进而导致新蛋白质和新代谢物的形成或已有代谢物水平的改变,这就是非预期效应产生的根源。因此,对GM植物的安全性评价除了必须考虑外源基因编码产物的遗传效应之外,遗传转化事件可能引发的非预期效应也不容忽视。“组学”技术是基于转录组学、蛋白质组学、代谢组学等不同生物学水平检测转基因农作物遗传变化的新手段,不仅能分析外源基因表达产物对受体植物的影响,也能揭示GM植物的各种非预期变异效应,是客观评价GM作物以及转基因技术安全性的有效新技术,本文从转录组学、蛋白质组学和代谢组学 3 个水平综述了近 10 年来应用组学技术评价GM农作物非预期效应的研究进展。

## 1 转录组学水平对 GM 作物的评价

在各种组学技术中,转录组学是率先发展起来并且应用最广泛的技术<sup>[6]</sup>。转录组学是一门在整体水平上研究细胞中基因转录情况及转录调控规律的学科。广义转录组指从一种细胞或者组织的基因组所转录出来的RNA的总和,狭义上指所有mRNA的集合<sup>[7]</sup>。转录组研究的技术主要包括 3 种:(1)基于杂交的微阵列技术;(2)基于Sanger测序法的SAGE

(Serial analysis of gene expression)和MPSS(Massively parallel signature sequencing);(3)基于新一代高通量测序技术的转录组测序(RNA sequencing, RNA-seq)。由于细胞中的基因表达情况具有特定时间性和空间性,转录组学能够在整体水平上研究某一时刻细胞中基因的全部转录物,更好地反应细胞的动态过程。目前,许多研究者将转录组学应用于转基因农作物非预期效应评价方面,并试图解析引起基因表达差异的原因。

Baudo等<sup>[8]</sup>比较了转基因小麦与非转基因小麦胚乳、叶子的基因转录组图谱,发现二者差异极少。常规育种获得的非转基因小麦不同株系间的基因表达差异明显大于转基因小麦株系与非转基因对照间的差异,约是后者的 1.5 倍,说明转基因事件对小麦基因表达的影响很小,可以认为转基因小麦与非转基因小麦具有实质等同性。Cheng等<sup>[9]</sup>应用Affymatrix 基因芯片技术研究了温室种植的转CP4-epsps基因大豆与非转基因对照三叶期幼苗叶子的基因表达谱,发现在 37 583 个基因中,两个转基因株系 2601R和PS46RR与非转基因大豆品系OAC Bayfield相比,差异表达基因个数分别为 44 个和 109 个;与非转基因品系S03-W4相比,差异表达基因个数分别为 248 和 290 个;然而,非转基因大豆品系Mandarin与其他 5 个品系相比,差异表达基因个数超过 1 000 个,是任何组合间差异的两倍多。说明在转录组学水平上,常规大豆品系间基因表达差异水平要显著高于转基因大豆与非转基因对照间的差异。Coll等<sup>[10]</sup>利用微阵列技术研究发现试管中生长的常规玉米品系MON810 与其近等品系的转录图谱极为相似,来源于MON810 品系的转Bt基因玉米品系及其非转基因对照之间的转录组图谱虽然存在差异,如Aristis Bt/Aristis和PR33P67/PR33P66 两个比对组合的基因表达差异分别为 1.7%和 0.1%,但非转基因对照株系Aristis与PR33P66 之间的转录组图谱却有 4%序列表达不同,说明不同品系间的基因表达差异明显大于转基因与非转基因品系之间的差异。2009 年,Coll等<sup>[11]</sup>又对田间生长的上述比对组合的转录图谱进行了分析,发现 2008 年试管培养条件下常规玉米品系MON810 与其近等基因品系的转录图谱间的差异,在大田生长条件下表现仍然相同,但转基因与非转基因对照间的转录图谱差异在大田

条件下不复存在,说明MON810 转基因株系除了引入的转基因特征性状外,与对照亲本具有实质等同性。2010 年, Coll等<sup>[12]</sup>将来源于MON810 品种的转 *Bt* 基因玉米及其对照品系(Helen Bt/Helen, Beles Sur/Sancia)在一大田条件下种植,但采用常规施肥和底肥施肥两种农作方式,应用微阵列技术分析了自然变异对转基因玉米转录产物的影响,结果表明转基因玉米与非转基因对照之间表达差异的转录序列只占分析序列的 0.14%。常规育种、施肥方式、转基因对转录序列变异的贡献分别占 37.4%、31.9%、9.7%,可见自然变异对玉米转录组有很大的影响,而基因转化的影响较小,认为GM作物安全性评价研究中必须考虑常规育种和环境条件对转录组的影响。

转录组学技术也被用于追述GM作物非预期变异效应的技术根源。与非转基因对照相比,抗真菌转基因水稻约有 0.4%基因表达水平发生改变。在检测的 1/5 表达差异序列中,组织培养对这些转录变异的贡献占 35%,基因插入对受体植物基因组干扰和诱发基因组重排引起的变异效应约占 15%<sup>[13]</sup>。Batista等<sup>[14]</sup>应用寡核苷酸芯片技术比较了 $\gamma$ 射线诱变处理和转基因对水稻转录组的影响,结果发现二者均影响水稻基因组的表达,而且诱变处理比转基因技术对水稻基因组的非靶向变异效应更广泛。

综上所述,在转录组学水平上的研究结果显示,在转基因作物的非预期变异效应中,品种差异、种植环境的影响显然要大于外源基因遗传转化事件;而且非预期变异中的一部分来源于组织培养过程,转基因整合甚至比传统诱变育种技术对作物基因表达的影响更温和。

## 2 蛋白质组学水平对 GM 作物的评价

1994 年Wilkins首先提出了蛋白质组概念,它是指一个基因组或一个细胞、组织表达的所有蛋白质。蛋白质组学的研究旨在阐明组织、器官或生物体全部蛋白质的表达模式及功能模式,揭示特定生命现象和过程的机理<sup>[15]</sup>。双向电泳技术(Two-dimensional gel electrophoresis, 2-DE)是蛋白质组学研究的核心技术之一。随着数据库的扩大和完善从双向蛋白电泳凝胶上确定蛋白的能力会不断增强,蛋白质组学技术将成为检测转基因作物非预期效应的很有前途的方

法<sup>[16]</sup>。

Coll等<sup>[17]</sup>发现同一田间生长的两种转 *Bt* 基因玉米MON810 与其对照株系的籽粒蛋白质组几乎一致,2-DE分析结果显示只有几个蛋白质点有 1~1.8 倍的变化,表明转基因玉米与其非转基因对照具有实质等同性。Albo等<sup>[18]</sup>也发现转 *Bt* 基因玉米MON810 与非转基因株系的籽粒蛋白质组之间非预期差异极少,基本等同。Zolla等<sup>[19]</sup>却发现同一田间生长的转 *Bt* 基因玉米MON810 及其亲本对照的蛋白质组存在显著差异,其中非转基因样品WT06 与WT05 是同一品系的不同世代,可反映环境因素对蛋白质组表达的影响,结果发现约 100 个蛋白质的表达水平发生了改变;而转基因玉米T06 与非转基因玉米WT06 相比,单基因插入导致表达水平上调或下调的蛋白质有 43 个,这说明在蛋白质组学水平上,环境因素对非预期变异效应的贡献比转基因插入更大。Wang等<sup>[20]</sup>应用蛋白质组学技术研究了基因插入和生长环境对转基因水稻的影响。将转 *CryIab/ac* 基因水稻及非转基因水稻在安徽、湖北两地种植,对收获稻米的蛋白质组图谱进行分析,发现不同地点种植的非转基因水稻亲本对照WT01 与WT02 之间有 21 种蛋白质表达量不同;而在相同地点种植的转基因水稻稻米与非转基因亲本相比,有 20~22 种蛋白质水平发生上调或下调,这种改变可能是由环境因素及单基因插入共同作用的结果。基于包括水份、蛋白质、脂肪、灰分、纤维、碳水化合物等食品近似值及氨基酸、脂肪酸、维生素、矿物质和抗营养因子等在内的营养成分分析结果表明,GM水稻与常规水稻具有实质等同性,而且环境条件对水稻蛋白质组变异的影响并不比单基因插入的影响小。

应用 2-DE技术及基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱(Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF-MS)技术还可对转基因农作物中差异蛋白质进行功能解析。Xue等<sup>[21]</sup>比较了携带 *Bt* 和磷酸烯醇式丙酮酸激酶(Phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC)转基因的两个水稻品系与其非转基因对照的蛋白质组图谱,经质谱分析共得到 77 个丰度存在显著差异(4倍以上)的蛋白质点,共鉴定出了 28 个阳性蛋白质,其中 5 个蛋白质具有明确的生物学活性。两个转基因水稻株系中的 1,6-二磷酸果糖醛缩酶表达量均增



加。此外, 转*Bt* 基因水稻中 5-甲基四氢叶酸三谷氨酸-高半胱氨酸甲基转移酶(5-methyl tetrahydropteroyl triglutamate-homo-cysteine-transferase)表达量升高, 柠檬酸裂合酶表达量下调; 转*pepc*基因水稻的细胞周期蛋白依赖激酶B2-1 和丝氨酸蛋白酶抑制剂 Z2B表达量增加。Barbosa等<sup>[22]</sup>研究了抗草甘膦除草剂转*CP4-epsps*基因大豆与非转基因大豆种子中酶及蛋白质的表达差异, 应用 2-DE、MALDI-TOF-MS 及电喷雾飞行时间质谱 3 种技术分离鉴定出 192 种蛋白质, 转基因大豆中的丙二醛、抗坏血酸过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶和过氧化氢酶的含量分别比非转基因大豆提高了 29.8%、30.6%、71.4%和 35.3%, 而SOD酶活性比对照降低了 47.7%, 包括肌动蛋白片段、谷氨酰胺合成酶、大豆球蛋白亚基G1 和富含甘氨酸RNA结合蛋白在内的 4 种蛋白质在转基因与非转基因大豆间表达存在差异。

### 3 代谢组学水平对 GM 作物的评价

代谢组学以生物系统中的代谢产物为分析对象, 目前主要针对相对分子量 1 000 以内的小分子, 并以高通量、高灵敏度、高分辨率的现代仪器分析方法为手段, 结合模式识别等化学计量学方法, 分析生物体系受刺激或干扰后其代谢产物的变化或其随时间的变化规律<sup>[23]</sup>。目前已获得广泛认同的代谢组学研究层次包括: (1)代谢物靶标分析(Target compound analysis): 主要用于根据筛选目的, 分析受修饰或实验直接影响的某个或某几个化合物。(2)代谢物轮廓分析(Metabolic analysis): 分析与已知代谢相关连的一组化合物。(3)代谢物指纹分析(Fingerprinting): 是非目标分析方法, 用于广泛分析大量数据, 仅做样品的快速筛选分类, 而不做单个化合物的定性和定量分析。(4)代谢组学: 分析生物体系中的所有代谢产物, 对化合物定性和定量分析, 整个分析过程应能尽可能地保留和反映总的代谢产物信息<sup>[16]</sup>。尽管转录组学<sup>[8-12]</sup>和蛋白质组学<sup>[19-22]</sup>研究结果表明, 转基因插入比环境因素对转基因作物的影响要小得多, 但如果差异蛋白是影响作物代谢途径的关键活性蛋白(酶), 也可能导致对转基因作物的可食用部分有关成分的急剧改变, 即基因和蛋白表达的有效的微小变化会在代谢物上得到放大。代谢组学分析能提供植物基因序列和代谢网络功能

的直接关联信息<sup>[24]</sup>, 因此代谢组学技术应用于转基因作物与非转基因作物的实质等同性分析具有直接的现实意义。Kim 等<sup>[25]</sup>应用GC-MS技术分离比较了类胡萝卜素合成途径改良的转基因水稻与非转基因对照的 52 种极性化合物, 包括 20 种有机酸、19 种氨基酸、3 种糖醇、1 种胺类化合物, 发现二者代谢物图谱基本等同。Piccioni等<sup>[26]</sup>基于一维核磁共振和二维核磁共振技术分析了转*Bt*基因玉米种子的代谢物图谱, 共分离出 40 多种水溶性化合物, 发现转*Bt*基因玉米种子中乙醇、柠檬酸、海藻糖、甜菜碱等 5 种组分含量高于非转基因玉米。Zhou等<sup>[27]</sup>采用质谱技术分析转*cryIac*和*sck*双基因的抗虫水稻的代谢轮廓谱, 发现代谢产物的非预期变异分别来源于转基因插入和组织培养过程, 而且组织培养对转基因水稻的代谢物轮廓谱的改变比基因插入的影响更显著。

以玉米和水稻为材料, 研究人员综合考察了环境条件、基因型、基因插入对农作物代谢物图谱的影响<sup>[4, 28-30]</sup>。Röhlig等<sup>[28]</sup>以 5 个玉米栽培品系为材料, 采用GC/MS技术分析种植条件和基因型对代谢图谱的影响, 发现种植地点、种植季节、基因型对玉米代谢物组成变化皆存在影响, 种植季节是最主要的影响因素。Frank等<sup>[29]</sup>将GM玉米与其非转基因亲本对照种植在不同地方及几个生长季节, 比较全面地研究了环境和基因修饰对玉米代谢轮廓谱的影响。在德国和南非生长的GM玉米与其非转基因对照之间代谢物轮廓谱差异分别为 4%和 3%, 而环境因素(包括生长地方及生长季)对代谢物轮廓谱的影响约分别为 42%和 10%, 可见环境影响约是基因修饰影响的 10 倍和 3 倍。Barros等<sup>[4]</sup>分析了转*Bt*杂交玉米和抗草甘膦转基因玉米两个品系与对照亲本的代谢物轮廓谱, 发现环境条件对基因表达、蛋白质及代谢产物变异的影响比基因插入的影响更大。Zhou等<sup>[30]</sup>采用气相色谱-火焰离子检测技术(GC-FID)和气质联用技术(GC-MS)对转双价基因抗虫水稻稻米与其非转基因亲本的极性组分进行了代谢物轮廓分析, 表明环境因素和基因插入均影响稻米组分含量, 转基因水稻中蔗糖、甘露糖和谷氨酸的含量比非转基因亲本显著增加。Chang等<sup>[31]</sup>对转双价抗虫基因稻米代谢图谱的研究结果与此类似, 也发现环境引起代谢物的变化比转基因的影响更显著, 种植环境引

起稻米中包括色氨酸、9,10,13-三羟基-11-十八碳烯酸、LPE16:0 等在内的多种代谢物含量改变,而基因插入引起的代谢物水平的改变是极小的,仅鞘氨醇、棕榈酸、5-羟-2-辛烯酸及其他 3 种未知代谢物含量有轻微改变。

新兴的代谢组学技术如毛细管电泳时间飞行质谱技术(Capillary electrophoresis time-of flight mass spectrometry, CE-TOF-MS)用于研究转基因作物的代谢物轮廓谱,不仅在检测转基因作物的非预期效应方面具有明显优势,还能够发现可能作为转基因作物识别依据的新型生物标志物<sup>[32~34]</sup>。Levandi等<sup>[32]</sup>利用CE-TOF-MS技术分析了转*Bt*基因玉米的代谢物轮廓谱变化,共分离识别出 27 种化合物,与非转基因玉米代谢轮廓谱相比,转*Bt*基因玉米的代谢物有小幅变化,其中L-肉毒碱含量增加,指出L-肉毒碱有可能作为转基因玉米样本的生物标志物。Rocio等<sup>[33]</sup>从大豆中分离识别出 40 多种组分,发现转*CP4-epsps*基因大豆与非转基因大豆代谢物相比只有小幅变异,并指出 4-羟基-苏氨酸可能作为转基因大豆的生物标志物。Leon等<sup>[34]</sup>首次联合使用加压液相萃取、傅立叶变换离子回旋共振质谱(Fourier transform ion cyclotron resonance-mass spectrometry, FT-ICR-MS)及CE-TOF-MS 3 种分析技术对同一田间生长的 6 种玉米品系(3 种转*Bt*基因玉米及对照株系)的代谢物轮廓进行了研究,发现在负离子模式下 FT-ICR-MS最高可分辨出 513 种化合物。与其亲本对照株系相比,转*Bt*抗虫基因玉米的酪氨酸、色氨酸、赖氨酸、嘌呤、叶酸等 10 种代谢物水平增加,某些代谢途径发生改变,尤其是与氨基酸相关的代谢途径,并且鉴定了几种新的生物标志物。

#### 4 结语与展望

将近 10 年来几种主要转基因农作物的组学评价结果总结于表 1,可见转基因玉米和水稻是目前组学评价研究的主要对象,小麦和大豆也有涉及。在组学水平上,转基因与非转基因品系的差异要小于品系间和环境因素所导致的差异。

当前在GM农作物安全性评价程序中主要采用基于特殊安全和营养成分相关化合物的定向成分分析法<sup>[35,36]</sup>,对检测转基因生物的非预期效应具有局限性。组学技术能灵敏检测转基因生物体的非预期

效应,并能解析GM作物非预期变异效应产生的技术根源。在 3 种组学技术中,转录组学优势在于灵敏度极高,mRNA丰度低至 10 万分之一仍能被检测出,而且结果重复性好。但这种在RNA水平上的分析虽可显示GM作物基因表达数目和量上的差异,但该差异不一定直接反映在转基因作物可食用部分的组成组分上,因而并不能代替转基因食品营养与抗营养成分的具体分析,对转基因食品的安全性评价不具备直接的参照价值。蛋白质组学和代谢组学的分析对象是基因表达的最终产物,可应用于在转基因作物和食品的成分检测和安全性评价。蛋白质是基因表达的终产物,既具有营养功能、生理活性,也可能是食品抗营养因子或者过敏原,因此蛋白质组学是检测GM作物非预期效应的优势技术。代谢组学分析是探测代谢物水平变化的有效手段,不仅能无偏评估转基因作物中大量的代谢产物,还可能开发用于GM作物检测的生物标志物。

组学技术用于转基因农作物安全性评价仍存在一些要解决的问题。首先是实验设计方面,转基因农作物的评价中关键要保证对照样本和安全界定标准设置的科学性。目前的研究仅以非转基因亲本作物为对照,无法揭示转基因食品非预期变异产生的技术根源到底在哪个环节,是外源基因导入还是组织培养过程或环境因素。本文所综述的研究结果表明,在组学水平上检测的转基因作物的非预期效应中,基因型差异和环境因素要比转基因插入的影响大得多。因此在转基因作物安全性评价中,除了设定非转基因亲本对照外,还需要考虑作物品种基因型天然差异的存在并保证种植环境的统一,在充分确立每种作物由于基因型和环境因素导致的可食用部分有关组分变异幅度的基础上,才能正确设定转基因与非转基因作物的差异显著性的合理界定标准。其次是实验技术方面,蛋白质组学和代谢物组学检测依赖于样品制备和分析方法的灵敏性。如在蛋白质组学的研究中,蛋白质的分离、提取、样品处理到电泳、染色各个过程都会直接影响检测结果的真实有效性,而且用双向凝胶电泳检测的蛋白质数目比细胞内总蛋白少得多。因此,建立获取和分析蛋白质的常规可靠有效的技术是蛋白质组学研究的重要任务。在代谢组学研究方面,依赖于质谱、色谱技术的代谢组学的数据分析与处理是共同的难题<sup>[37]</sup>,

表 1 几种主要转基因作物非预期效应的组学评价情况

作物	导入基因/性状	组学技术	试验材料	种植条件	转基因与非转基因品系间差异	品系间/环境因素差异	文献来源	
小麦	<i>Glu-1Ax</i> 和 <i>bar</i>	转录组	胚乳, 叶片	温室	极少	品系间是转基因与非转基因差异的 1.5 倍	[8]	
大豆	<i>CP4-epsps</i>	转录组	幼叶	温室	44~290 个基因	品系间差异多于 1000 个基因	[9]	
玉米	<i>Bt</i>	蛋白组	种子	大田	4 种酶, 4 种蛋白	—	[22]	
		转录组	叶片	试管	0.1~0.7%	品系间差异 4%	[10]	
			叶片	大田	无	品系间差异 4%	[11]	
			叶片	大田	0.14%	0.20%	[12]	
			蛋白组	种子	大田	个别蛋白质点	—	[17,18]
			种子	大田	43 个蛋白质点	品系间 100 个蛋白质点	[19]	
		代谢组	种子	温室	40 多种水溶性化合物中 5 种组分含量提高	—	[26]	
			种子	大田	4%和 3%	种植地点差异 42%和 10%	[29]	
	<i>Bt</i> 或抗草甘膦	转录组	种子	大田	10 个基因	种植年份差异 10 个基因	[4]	
水稻	抗真菌	蛋白组	种子	大田	4 个蛋白质点	种植年份差异 5 个蛋白质点	[4]	
		代谢组	种子	大田	20 种化合物	种植年份差异 43 种化合物	[4]	
		转录组	幼苗	试管	0.4%	—	[13]	
		<i>CryIab/ac</i>	蛋白组	种子	大田	20~22 个蛋白质点	种植地点差异 21 个蛋白质点	[20]
		<i>Bt</i> 或 <i>pepc</i>	蛋白组	种子	大田	77 个蛋白质点, 5 种活性蛋白	—	[21]
		提高类胡萝卜素含量	代谢组	种子	大田	基本等同	—	[25]
		<i>CryIac</i> 和 <i>sck</i>	代谢组	种子	大田	8~17 种化合物	—	[30]

已知化合物的鉴定和未知化合物的结构解析还比较困难, 工作量很大。需要建立一个公共平台的数据库来解析庞大光谱数据, 才可能使代谢物组学技术得以有效应用。

特别需要指出的是, 组学技术为客观评价和正确认识转基因农作物的非预期变异提供了有效新手段, 用于检测转基因作物非预期变异效应的突出优势是中性无偏倚的, 但差异并不代表有害。比如转基因大豆<sup>[22]</sup>中的丙二醛含量增加可能对食用者产生经口毒性, 但同时表达量增高的抗坏血酸过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶和过氧化氢酶却可能有助于清除体内的有害自由基; 转*Bt*基因玉米<sup>[28]</sup>中增加的L-肉碱还可能促进脂肪代谢而利于减肥。最近, Hermam 等<sup>[38]</sup>对 20 年来GM作物与非转基因对照之间实质等同性评价的研究进行了总结和评述, 大量的研究信息表明转基因过程和传统育种方法均伴随着作物组分的改变, 而且GM作物非预期变异的来源逐渐被解析, 无法定论非预期变异效应来源于转基因过程。认为在此基础上, 继续要求GM作物进行实质等同性评估可能有失公平。

参考文献(References):

[1] James C. 2012 年全球生物技术/转基因作物商业化发展态势. 中国生物工程杂志, 2013, 33(2): 1–8. [\[DOI\]](#)

[2] Kuiper HA, Kleter GA, Noteborn HPJM, Kok EJ. Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. *Plant J*, 2001, 27(6): 503–528. [\[DOI\]](#)

[3] Kim JK, Ha SH, Park SY, Lee SM, Kim HJ, Lim SH, Suh SC, Kim DH, Cho HS. Determination of lipophilic compounds in genetically modified rice using gas chromatography-time-flight mass spectrometry. *Food Compos Anal*, 2012, 25(1): 31–38. [\[DOI\]](#)

[4] Barros E, Lezar S, Anttonen MJ, van Dijk JP, Röhlig RM, Kok EJ, Engel KH. Comparison of two GM maize varieties with a near-isogenic non-GM variety using transcriptomics, proteomics and metabolomics. *Plant Biotechnol*, 2010, 8(4): 436–451. [\[DOI\]](#)

[5] Cellini F, Chesson A, Colquhoun I, Constable A, Davies HV, Engel KH, Gatehouse AMR, Kärenlampi S, Kok EJ, Leguay JJ, Lehesranta S, Noteborn HPJM, Pedersen J, Smith M. Unintended effects and their detection in genetically modified crops. *Food Chem Toxicol*, 2004, 42(7): 1089–1125. [\[DOI\]](#)



- [6] Lockhart DJ, Winzeler EA. Genomics, gene expression and DNA arrays. *Nature*, 2000, 405(6788): 827–836. [\[DOI\]](#)
- [7] 杨旭, 焦睿, 杨琳, 吴莉萍, 李英睿, 王俊. 基于新一代高通量技术的人类疾病组学研究策略. *遗传*, 2011, 33(8): 829–846. [\[DOI\]](#)
- [8] Baudo MM, Lyons R, Powers S, Pastori GM, Edwards KJ, Holdsworth MJ, Shewry PR. Transgenesis has less impact on the transcriptome of wheat grain than conventional breeding. *Plant Biotechnol*, 2006, 4(4): 369–380. [\[DOI\]](#)
- [9] Cheng KC, Beaulieu J, Iqura E, Belzile FJ, Fortin MG, Strörmvik MV. Effect of transgenes on global gene expression in soybean is within the natural range of variation of conventional cultivars. *Food Chem*, 2008, 56(9): 3057–3067. [\[DOI\]](#)
- [10] Coll A, Nadal A, Palaudelmàs M, Messeguer J, Melé E, Puigdomènech P, Pla M. Lack of repeatable differential expression patterns between MON810 and comparable commercial varieties of maize. *Plant Mol Biol*, 2008, 68(1-2): 105–117. [\[DOI\]](#)
- [11] Coll A, Nadal A, Collado R, Capellades G, Messeguer J, Melé E, Palaudelmàs M, Pla M. Gene expression profiles of MON810 and comparable non-GM maize varieties cultured in the field are more similar than are those of conventional lines. *Transgenic Res*, 2009, 18(5): 801–808. [\[DOI\]](#)
- [12] Coll A, Nadal A, Collado R, Capellades G, Kubista M, Messeguer J, Pla M. Natural variation explains most transcriptomic changes among maize plants of MON810 and comparable non-GM varieties subjected to two N-fertilization farming practices. *Plant Mol Biol*, 2010, 73(3): 349–362. [\[DOI\]](#)
- [13] Montero M, Coll A, Nadal A, Messeguer J, Pla M. Only half the transcriptomic differences between resistant genetically modified and conventional rice are associated with the transgene. *Plant Biotechnol*, 2011, 9(6): 693–702. [\[DOI\]](#)
- [14] Batista R, Saibo N, Lourenco T, Oliveira MM. Microarray analyses reveal that plant mutagenesis may induce more transcriptomic changes than transgene insertion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(9): 3640–3645. [\[DOI\]](#)
- [15] 金良, 陈尚武, 马会勤. 葡萄蛋白质组学研究进展. *中国生物工程杂志*, 2010, 30(10): 100–107. [\[DOI\]](#)
- [16] 李欣, 黄昆伦, 朱本忠, 唐茂芝, 罗云波. 利用“组学”技术检测转基因作物非期望效应的潜在性. *农业生物技术学报*, 2005, 13(6): 802–807. [\[DOI\]](#)
- [17] Coll A, Nadal A, Rossignol M, Puigdomènech P, Pla M. Proteomic analysis of MON810 and comparable non-GM maize varieties grown in agricultural fields. *Transgenic Res*, 2011, 20(4): 939–949. [\[DOI\]](#)
- [18] Albo AG, Mila S, Digilio G, Motto M, Aime S, Corpillo D. Proteomic analysis of a genetically modified maize flour carrying *Cry1Ab* gene and comparison to the corresponding wild-type. *Maydica*, 2007, 52(4): 443–455. [\[DOI\]](#)
- [19] Zolla L, Rinalducci S, Antonioli P, Righetti PG. Proteomics as a complementary tool for identifying unintended side effects occurring in transgenic maize seeds as a result of genetic modifications. *Proteome Res*, 2008, 7(5): 1850–1861. [\[DOI\]](#)
- [20] Wang Y, Xu WT, Zhao WW, Hao JR, Luo YB, Tang XG, Zhang Y, Huang KL. Comparative analysis of the proteomic and nutritional composition of transgenic rice seeds with *Cry1ab/ac* genes and their non-transgenic counterparts. *Cereal Sci*, 2012, 55(2): 226–233. [\[DOI\]](#)
- [21] Xue K, Yang J, Liu B, Xue DY. The integrated risk assessment of transgenic rice *Oryza sativa*: A comparative proteomics approach. *Food Chem*, 2012, 135(1): 314–318. [\[DOI\]](#)
- [22] Barbosa HS, Arruda SCC, Azevedo RA, Arruda MAZ. New insights on proteomics of transgenic soybean seeds: evaluation of differential expressions of enzymes and proteins. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 402(1): 299–314. [\[DOI\]](#)
- [23] 胡正青, 林夏珍, 郭明. 代谢组学研究技术进展. *中国现代应用药理学*, 2010, 27(6): 485–490. [\[DOI\]](#)
- [24] Fiehn O, Kopka J, Dörmann P, Altmann T, Trethewey RN, Willmitzer L. Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nat Biotechnol*, 2000, 18(11): 1157–1161. [\[DOI\]](#)
- [25] Kim JK, Park SY, Lee SM, Lim SH, Kim HJ, Oh SD, Yeo Y, Cho HS, Ha SH. Unintended polar metabolite profiling of carotenoid-biofortified transgenic rice reveals substantial equivalence to its non-transgenic counterpart. *Plant Biotechnol Rep*, 2013, 7(1): 121–128. [\[DOI\]](#)
- [26] Piccioni F, Capitani D, Zolla L, Mannina L. NMR metabolic profiling of transgenic maize with the *Cry1A(b)* gene. *Food Chem*, 2009, 57(14): 6041–6049. [\[DOI\]](#)
- [27] Zhou J, Zhang L, Li Xiang, Chang YW, Gu Q, Lu X, Zhu Z, Xu GW. Metabolic profiling of transgenic rice progeny using gas chromatography-mass spectrometry: the effects of gene insertion, tissue culture and breeding. *Metabolomics*, 2012, 8(4): 529–539. [\[DOI\]](#)
- [28] Röhlig RM, Eder J, Engel KH. Metabolite profiling of maize grain: differentiation due to genetics and environ-

- ment. *Metabolomics*, 2009, 5(4): 459–477. [DOI]
- [29] Frank T, Röhlrig RM, Davies HV, Barros E, Engel KH. Metabolite profiling of maize kernels-genetic modification versus environmental influence. *Food Chem*, 2012, 60(12): 3005–3012. [DOI]
- [30] Zhou J, Ma CF, Xu HL, Yuan KL, Lu X, Zhu Z, Wu YN, Xu GW. Metabolic profiling of transgenic rice with *cryIac* and *scK* genes: An evaluation of unintended effects at metabolic level by using GC-FID and GC-MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2009, 877(8–9): 725–732. [DOI]
- [31] Chang YW, Zhao CX, Zhu Z, Wu ZM, Zhou J, Zhao YN, Lu X, Xu GW. Metabolic profiling based on LC/MS to evaluate unintended effects of transgenic rice with *cryIac* and *scK* genes. *Plant Mol Biol*, 2012, 78(4–5): 477–487. [DOI]
- [32] Levandi T, Leon C, Kaljurand M, Virginia GC, Cifuentes A. Capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry for comparative metabolomics of transgenic versus conventional maize. *Anal Chem*, 2008, 80(16): 6329–6335. [DOI]
- [33] García-Villalba R, León C, Dinelli G, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A, García-Cañas V, Cifuentes A. Comparative metabolomic study of transgenic versus conventional soybean using capillary electrophoresis-time-of-flight mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 2008, 1195(1): 164–173. [DOI]
- [34] Leon C, Rodriguez-Meizoso I, Lucio M, Garcia-Cañas V, Ibañez E, Schmitt-Kopplin P, Cifuentes A. Metabolomics of transgenic maize combining Fourier transform-ion cyclotron resonance-mass spectrometry, capillary electrophoresis-mass spectrometry and pressurized liquid extraction. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(43): 7314–7323. [DOI]
- [35] FAO/WHO. Report of the First Session of the Codex ad-hoc Intergovernmental Task Force on Foods Derived from Biotechnology (ALINORM 01/34). Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2000. <http://www.fao.org/es/esn/gm/biotc-e.htm>. [DOI]
- [36] FAO/WHO. Safety Aspects of Genetically Modified Foods of Plant Origin. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology, Geneva, Switzerland, 29 May–2 June 2000. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2000. <http://www.fao.org/es/esn/gm/biotec-e.htm>. [DOI]
- [37] Hoekenga OA. Using metabolomics to estimate unintended effects in transgenic crop plants: problems, promises, and opportunities. *J Biomol Tech*, 2008, 19(3): 159–166. [DOI]
- [38] Hernan RA, Price WD. Unintended compositional changes in genetically modified (GM) crops: 20 years of research. *J Agric Food Chem*, 2013, <http://dx.doi.org/10.1021/jf400135r>. [DOI]