

分子标记技术及其在动植物检验检疫中的应用与展望

陈文炳* 王志明 李寿崧 朱晓南 邵碧英 陈艳 王骏 陈亮
(福建检验检疫局) (香港中文大学生化系) (厦门大学生物系)

摘要 介绍几种常用的分子水平的遗传标记技术,综述了分子标记技术在动植物、食品等检验检疫及转基因成分检测中的应用,展望了分子标记技术在检验检疫中应用的信息化、网络化前景,并提出了建立“数字质检”体系的必要性。

关键词 分子标记 检验检疫 转基因检测 信息化 数字质检

1 前言

近十多年来,现代生物科学的发展突飞猛进,生物技术特别是分子标记技术也有很大的发展,在各个领域的应用也日显成熟,被广泛应用于生物起源进化、系统分类、物种多样性、遗传育种、品种鉴定等领域的研究^[1-6]。在出入境动植物及其产品与食品等商品的检验检疫工作中,也得到了越来越广泛的应用。广义的分子标记技术是指生物大分子水平应用于区别物种的标记技术,包括 DNA 标记技术、RNA 标记技术、蛋白质(包括同工酶、等位酶等)标记等分子水平的标记。狭义的分 子标记技术只是指 DNA 标记。随着我国加入 WTO,国际经贸形势对检验检疫工作的科技含量、技术水平和工作效率的要求越来越高,检验检疫工作对高新技术的需求越来越迫切。本文综述了现代高新技术——生物分子标记技术及其在动植物病虫害、动植物产品及食品等检验检疫实践中的应用,阐述了分子标记技术在动植物检验检疫中应用的信息化、网络化前景,并探讨了建立“数字质检”体系的必要性与可行性。

2 DNA 和 RNA 分子标记技术^[7-13]

2.1 以电泳技术和 Southern 杂交为基础的 DNA 分子标记技术

2.1.1 RFLPs 分子标记技术

RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphisms) 技术即限制性片段长度多态性分析技术,是由 Bostein 于 1980 年建立的一种直接用物种本身 DNA 经过限制性内切酶进行酶切分析的 DNA 遗传标记技术。不同的物种其遗传物质 DNA 的组成单位——核苷酸(碱基)排列顺序和空间结构存在差异,因此用 DNA 的限制性内切酶进行酶切时,其酶切位点也不一样,产生的酶切产物即 DNA 片段大小存在差异,这种差异可通过电泳技术和以放射性标记的低拷贝序列为探针进行分子杂交(Southern Hybridization)分析而显示出来,差异大小反映出物种间的亲缘(血缘)关系的远近。因此该方法已被广泛应用于生物起源进化、物种分类鉴定和基因定位等方面的研究。所用的模板 DNA 可以是核 DNA,也可以是细

胞质 DNA 包括叶绿体 DNA 和线粒体 DNA

2.1.2 DNA 指纹技术

DNA 指纹技术(DNA Fingerprinting)是 Jeffery 及其同事于 1985 年在人体遗传研究中发展起来的一种遗传标记技术。该技术主要是以重复序列包括串联重复序列(如卫星 DNA 小卫星 DNA 和微卫星 DNA)和散布重复序列(如转座子、逆转座子)为探针与酶切后的基因组 DNA 进行分子杂交,产生出许多谱带的杂交图谱,不同个体或品系或物种其图谱各有特异性,就像人的指纹一样,故而得名。

2.2 以电泳技术和 PCR 技术为基础的 DNA 分子标记技术

PCR(Polymerase Chain Reaction)即聚合酶链式反应,是美国 PE- cetus 公司人类遗传研究室的 Mullis 等人 1985 年发明的体外无限扩增核酸片段的聚合酶链式反应。在所有分子标记技术中被应用得最广泛的是 PCR 技术,它对世界生物医学研究起到了巨大的推动作用。发明者 Kary B. Mullis 等人因此获得 1993 年诺贝尔化学奖。因其具有技术简单、成本低廉、结果稳定等优点,而被广泛应用于生物的系统分化、种群分类和个体鉴定等研究领域,也被广泛应用于动、植物和微生物及其产品的检验检疫。PCR 扩增产物主要以凝胶电泳技术加以分析。

2.2.1 已知序列 DNA 片段的普通 PCR 标记技术

该方法要求目标 DNA 的序列是已知的,通常以目标片段两侧一定大小的碱基序列的互补链为引物对,和 4 种单核苷酸(dNTPs)、DNA 合成酶(Taq)、缓冲液以及模板 DNA 等组成 PCR 混合液,在适当的温度循环条件下进行扩增。此方法的特点是结果精确,重复性极高,但困难之处在于必须预先知道目标 DNA 片段的序列。目前国内外转基因产品的外源基因定性 PCR 检测和定量 PCR 检测就是使用该分子标记技术。

2.2.2 DNA 的 RAPD 技术

随机扩增多态性 DNA(Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD)是 Williams 和 Welsh 首先提出的,它是普通 PCR 技术的延伸,与普通 PCR 不同的是其所用引物是单个的 10bp 随机寡核苷酸,扩增的片段也是随机的,且不知道模板 DNA 的序列。该技术被广泛应用于那些核与细胞器 DNA 序列未知的生物。该技术简便、易操作,在 PCR 方法中是被作为分子标记用于生物的种群鉴定和亲缘(血缘)关系估测的最常用的手段之一。与 RAPD 相似的还有 AP-PCR(Arbitrary Primer-PCR)和 RP-PCR(Random Primer-PCR),即随机

* 陈文炳:男,1962年生,1994年获国立岐阜大学农学博士学位,已发表各类学术论文近 30 篇。

° 基金项目:福建省科技重大项目(2001H011)

引物 PCR

2.2.3 DNA扩增指纹分析技术

DNA扩增指纹分析(DNA amplification fingerprinting, DAF)技术,利用非常短的随机引物扩增不同个体的DNA,然后采用高分辨力的聚丙烯酰胺凝胶电泳和银染显色检测DNA的多态性。该方法使用的引物为7~8bp,比RAPD的引物更短,因而扩增的产物也更多。

2.2.4 复合PCR(Multiplex PCR-MPCR)技术

MPCR是指在一个PCR反应管中含有一对以上的引物,可以同时针对几个目的片段进行扩增的PCR反应。但要扩增的产物片段大小不能重叠,以免难以进行电泳分析。该技术不仅效率高,而且因为它是针对多个靶位点进行同时检测,所以其检测结果较之普通PCR更为可靠。该技术原理已被应用于转基因产品的定性PCR和定量PCR分析。

2.2.5 DNA的AFLP技术

扩增片段长度多态性技术(Amplified fragment length polymorphisms, AFLP)是由Zabeau Marc和Vos Pieter发明的一种新的DNA指纹技术(Zabeau & Vos, 1992)。它结合了RFLP可靠性和PCR的方便性等优点,具有比RAPD更大的优越性。其原理是基于PCR技术扩增基因组DNA限制性片段,基因组DNA先用限制性内切酶切割,然后将双连接头连接到DNA片段的末端,接头序列和相邻的限制性位点序列,作为引物结合位点。用PCR反应法,选择性扩增成套的限制性片段,然后利用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离扩增的DNA片段。利用一套特别的引物在不需要知道模板DNA序列的情况下,可在一次单个反应中检测到大量的片段,其电泳谱带具有很强的品种或物种特异性,被认为是迄今为止最为有效的、理想的分子标记。自该技术问世以来,已被广泛应用于生物的基因鉴定、基因作图、基因表达等方面的研究。

2.2.6 SSR分子标记技术

简单重复序列即微卫星DNA标记(Single Sequence Repeat, SSR)是由几个核苷酸(2~5个)为重复单位组成的长达几十个核苷酸的重复序列。由于重复次数不同及重复程度的不完全而导致了每个基因座上等位基因的多态性。可以利用某个微卫星DNA两端的保守序列设计一对特异引物,扩增这个位点的微卫星序列,经电泳分析即可显示出不同基因型个体在SSR为电位点上的多态性。该技术也常被应用于农作物遗传资源的归类、辅助育种等方面。

2.2.7单核苷酸多态性(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)标记技术

同一位点的不同等位基因之间常常只有一个或几个核苷酸的差异,因此在分子水平上对单个核苷酸的差异进行检测,对物种鉴定具有重要意义。目前SNP作为一种新的分子标记,已有2000多个标记定位于人类染色体上,在植物上也正在进行开发研究。可在胶上也可不在胶上就能检测出SNP,但检测SNP的最佳方法是新近开发的DNA芯片技术。

2.3 以DNA序列测定为基础的分子标记技术

生物中存在某些特定的保守DNA序列,如真核生物核DNA中存在的高度重复的核糖体DNA(rDNA)编码序列和

非编码序列(ITS),植物叶绿体DNA的matK序列和rbcL序列的物种间差异分析,都已被作为分子标记而加以应用,它能为动植物分类地位的确定提供较为精确的分子证据。

2.3.1 rDNA编码序列与非编码序列(ITS)分析

在真核生物中,编码核糖体RNA(rRNA)的基因rDNA编码序列(包括5.8s、18s、26s)是高度保守的,一般认为高等植物的不同纲、目间同源率可达90%以上。因此rDNA编码序列分析主要应用于亲缘关系较疏远的属级以上(科、目)的系统研究。

rDNA序列的保守也是相对的,其非编码序列内转录间隔区ITS(Internal Transcribed Spacer)位于18s与26s之间,被中间的5.8s一分为二(ITS1与ITS2),在高等植物的种群间还是存在较大的差异。常被应用于属间、种间及种下的分类与鉴定^[12-14]。

2.3.2 叶绿体基因组的rbcL、matK等基因序列分析

核酮糖-1,5-双磷酸羧化酶加氧酶是叶绿体基质中的主要可溶性蛋白,在光合作用中起重要作用。它由8个相同的大亚基与8个相同的小亚基组成。小亚基由核基因编码,大亚基由叶绿体DNA编码并由叶绿体核糖体合成。编码大亚基的基因简称为rbcL(ribulose-1,5-bisphosphocarbonylase/oxygenase large subunit)基因。该基因的DNA序列也是高度保守的,被作为高等植物属以上系统分化的研究指标^[13]。此外,叶绿体中还有matK、ndhF、accD等基因的DNA序列分析都被作为植物系统分化和分类研究的分子标记。

2.4 以mRNA为基础的分子标记技术

2.4.1 RNA的Northern分子杂交技术

对于一些遗传物质是RNA的病毒的检测,通常用一些适当的探针以Northern分子杂交技术进行检测。如果RNA量少,则必须先进行RT-PCR扩增。

2.4.2 RT-PCR技术

反转录-PCR(Reverse Transcription PCR, RT-PCR)技术是以mRNA为模板,通过反转录反应合成cDNA,再以cDNA为模板,用特异引物对进行PCR扩增。

2.4.3 差异显示反转录PCR技术

mRNA差异显示反转录PCR(mRNA Differential Display Reverse Transcription PCR, DDRT-PCR)技术,1992年由Liang和Pardee所创建,将总mRNA以选用的3'端锚定引物作反转录合成第一链cDNA,然后以反转录产物作模板,用5'端随机引物和3'端锚定引物组合的引物对,在加入放射性同位素或荧光标记的dNTP的条件下,进行PCR扩增,将扩增样品在变性的DNA测序胶中进行电泳,经X光底片曝光后即可观察到差别表达的mRNA之cDNA扩增条带。

3 蛋白质与酶分子标记技术

蛋白质与酶的标记通常被划为生化标记,但它也在分子水平反映出物种的特征,所以广义上也是分子标记。

3.1 蛋白质Western分子杂交技术

蛋白质Western分子杂交技术即蛋白印迹试验(Western blot assay)是Towbin等人1979年建立的,是将SDS聚丙烯

烯酰胺凝胶电泳 (*SDS-PAGE*) 的高分辨能力和抗原抗体反应的特异性、敏感性结合的方法。其技术要点主要是将目的蛋白进行 *SDS* 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 然后通过转移电泳把凝胶上的蛋白转移到硝酸纤维素膜上, 再与单克隆抗体及经过氧化物酶标记的抗体进行杂交反应显色, 即可得到目的蛋白谱带, 其多态性或特异性被用于分子标记分析。

3.2 酶联免疫吸附反应 (*ELISA*) 技术

酶联免疫吸附试验 (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA*) 被用于检测表达的目的蛋白, 其基本原理是将针对目的蛋白的抗体包被在 *ELISA* 板上, 加入含有表达产物的溶液, 经孵育和洗涤后加入酶标记的针对目的蛋白的抗体, 再经孵育和洗涤后加入酶反应底物显色, 以酶联阅读仪测定 *OD* 值。该法已被广泛应用于转基因生物及其产品、病毒和病原菌的检测等方面。

3.3 同工酶、等位酶与蛋白质的电泳技术

同工酶 (指由一个以上基因位点编码的酶的不同分子形式)、等位酶 (指由同一等位基因位点的不同等位基因编码的酶的不同分子形式) 与蛋白质都是基因表达的产物, 其电泳图谱存在种群多态性或特异性, 因此该技术从上世纪 70 年代开始就被广泛应用于生物的分类与种群鉴定上。主要是根据不同的同工酶类型或粗蛋白以相应的缓冲液体系进行聚丙烯酰胺凝胶电泳 (*PAGE*), 同工酶与等位酶以相应的底物进行反应显色, 蛋白质用考马斯亮蓝染色, 凝胶图谱显示出生物种群特异性或个体的组织特异性, 而被作为生物鉴定的生化指标, 广义上也属分子标记。因其多态性不如 *DNA* 分子标记, 且同工酶与等位酶检测要求实验材料必须是活体, 所以它的应用有一定的局限性。但还常常被作为动物、农作物品种鉴定和遗传育种的辅助分子标记而得到广泛应用。在动植物检验检疫中被作为鉴定动植物及其病原菌与害虫的品种或物种的分子标记。

3.4 氨基酸序列分析

由于生物种群或个体的某种蛋白质的氨基酸序列存在差异, 这种差异可作为分子标记用于鉴别生物个体或生物产品。

4 分子标记技术在动植物检验检疫中的应用

分子标记有形态学标记和细胞学标记所没有的优势, 被广泛应用于动植物的检验检疫, 它不但高效、简便、稳定、精确, 而且省时 (只要几个小时就能出结果), 不受生物生长期的限制, 只要少量样品就能分析。特别是进出口检验检疫, 要求快速检出结果。检疫对象如果是害虫, 不管是幼虫还是成虫, 无需经过饲养都能通过分子标记加以鉴别。如果是杂草, 种子不需发芽就能进行分子标记检测。因此, 分子标记作为高新技术, 在检验检疫实践中被广泛应用, 而且还将有更广阔的应用前景。现将分子标记在检验检疫与转基因产品中的应用实例简述如下。

4.1 在动物及其产品检验检疫中的应用

4.1.1 在动物检疫中的应用

RNA 的 *PCR* 扩增技术、*Southern* 杂交技术及 *ELISA* 等分子标记被用于动物的口蹄疫病毒检验检疫^[15-18], 比传统的常规方法要省时, 传统方法需要 5~7 天, 而分子标记法只需几

个小时。秦贞奎等以 *PCR* 技术检测牛胎儿弯曲杆菌, 经稀释计数只含一个菌体的也能检出阳性, 表明该技术灵敏度强, 特异性高。徐自忠等以 *PCR* 和 *ELISA* 技术诊断反刍动物的蓝舌病^[20]。 *PCR* 技术还被应用于猪细小病毒快速检测, 结果表明, 该技术具有很高的敏感性和特异性, 而且能直接从粪便中检测出这种病毒^[21]。芦银华等建立了检测猪圆环病毒的复合 *PCR* 法^[22], *PCR* 法还被应用于禽流感的病毒检测^[23], 比传统方法快速准确。

ELISA 法被广泛应用于动物病毒病的检测, 孙颖杰等应用 *ELISA* 法鉴定虹鳟鱼传染性胰脏坏死病毒比血清中和试验法快得多, 但前者容易出现假阳性^[24], 如果两种方法结合起来检测, 结果更准确。赵新柳等以酶联免疫吸附试验 (*ELISA*) 检测鸭病毒性肝炎 (*DVH*) 抗体^[25], 并与琼脂免疫扩散实验 (*AGDP*) 及血清中和实验 (*SNT*) 进行了比较, 结果表明, *ELISA* 检出的结果与 *SNT* 相一致, 符合率为 100%, 而 *AGDP* 与 *SNT* 的符合率只有 63.6%。做 *SNT* 实验需要 5~6 天, 而 *ELISA* 检测只需 7 小时左右。且 *ELISA* 法结果稳定, 重复性好。

4.1.2 在动物产品检验检疫中的应用

目前在质检系统内 *PCR* 技术已被广泛应用于鱼粉中的牛羊源性骨粉成分鉴定^[26-27], 所扩增的 *DNA* 是牛羊组织的线粒体 *DNA* (*mtDNA*)。兰宏等人以 *PCR* 扩增法鉴定了鹿属动物的陈旧皮张^[26]。

4.2 在植物及其产品检验检疫中的应用

4.2.1 在植物病害检疫中的应用

徐世典以 *DNA Southern* 杂交法进行十字花科蔬菜黑腐病菌鉴定, 效果比传统的技术更为专一和灵敏^[29]。由 *BYDV* 引起的小麦黄萎病是小麦生产上最重要的病毒病害, 它是由蚜虫传播的。常规的 *ELISA* 法和 *cDNA* 探针检测结果都不理想, 而以 *PCR* 法检测携带小麦黄萎病毒的单头蚜虫取得很好的结果^[21]。

小麦印度腥黑穗病 (*Tilletia indica*) 是一种世界性的检疫性有害生物, 由于其冬孢子与黑麦草腥黑粉菌 (*T. walkeri*)、水稻腥黑粉菌 (*T. horrida*) 及狼尾草腥黑粉菌 (*T. barclayana*) 等的冬孢子粉形态特征十分相似, 特别与黑麦草腥黑粉菌 (*T. walkeri*) 难以区别。这些病菌常常混入进口小麦中, 给检疫造成很大的困难。程颖慧、章桂明等^[30] 在前人研究^[31,32] 的基础上, 根据线粒体 *DNA* 的序列分别设计了扩增小麦印度星黑穗病 (*Tilletia indica*) 与黑麦草腥黑粉菌 (*T. walkeri*) 的特异性引物, 根据 *ITS* 区 *DNA* 片段设计了扩增腥黑粉菌属真菌的引物, 用这 3 对引物以 *PCR* 法能有效地鉴别小麦印度星黑穗病 (*Tilletia indica*) 与黑麦草腥黑粉菌 (*T. walkeri*) 以及其他近似种或相关种。该方法的准确性和灵敏性在不同的实验室的不同型号的 *PCR* 仪上得到验证。

在植物病毒检疫中目前应用较多的分子标记技术是 *RT-PCR* 法, *RT-PCR* 技术被应用于李坏死环斑病毒^[33]、菜豆花叶病毒^[34] 及烟草环斑病毒^[35] 的检测, 结果表明该方法灵敏度和准确度都很高。

4.2.2 在植物虫害检疫中的应用

梁广勤以酯酶同工酶电泳分析对形态上极为相似的桔小实蝇、芒果实蝇、番石榴实蝇、南瓜实蝇和瓜实蝇幼虫成功的加以鉴定和鉴别^[36]。

Burrows以RFLPs技术和DNA探针进行线虫的种的鉴定,清楚地区别了马铃薯金线虫 *Globodera rostochiensis* 马铃薯白线虫 *G. pallida*^[37]。

RAPD分子标记技术^[38]被应用于根结线虫的区别。rDNA的ITS区序列分析^[39-41]被应用于松材线虫与拟松材线虫的区别,这些分子标记技术克服了形态学上难以鉴别的困难,且快速准确。

4.2.3 在有害杂草检验检疫中的应用

DNA分子标记如核糖体DNA的ITS区的序列分析^[12,14]及叶绿体rbcL的基因序列分析^[15]等已被广泛应用于野生植物的分类与鉴定。但在杂草检疫对象的鉴定中的应用报道还不多见。

4.3 在转基因生物及其产品检测中的应用

自1986年第一例转基因生物(Genetically Modified Organism, GMO)——烟草转基因抗烟草花叶病毒植株培育成功以来,植物基因工程取得了重大进展^[42]。该技术已被广泛应用于动植物、微生物性状的改变,创造了一大批携有自然界原本不存在的性状的新的物种及相应的食品、药品及其他人类消费品。由于这些新的生物及其产品对生态环境及人体健康等的影响还未定论。因此,国际上欧盟各国、日本、韩国等国及我国的台湾地区、香港地区和大陆都对转基因生物及其产品(品)提出了相应的限制和管理的要求。我国于2001年5月23日由朱镕基总理颁布了关于《农业转基因生物安全管理条例》的国务院令。2002年1月5日农业部又发布了《农业转基因生物安全评价管理》、《农业转基因生物进口安全管理办法》及《农业转基因生物标识管理办法》等3个命令,并规定于3月20日起正式施行。执行这些法律、法规的基础是转基因成分的检测技术,因此对转基因成分检测技术的研究至关重要。目前国内外所用的转基因成分检测技术主要是分子标记技术。现将国内分子标记技术在转基因生物及其产品检测中的应用研究情况简要综述如下:

分子标记法在转基因生物及其产品检测中已获得广泛应用,主要包括:PCR法、ELISA法、PCR-ELISA法及分子杂交法等。但应用最多的是PCR技术,包括定性和定量PCR检测。目前国内还没有规定统一的GMO检测方法标准。系统内7个局(所)在参考国外方法的基础上建立了7种转基因产品的PCR定性检测方法,包括:食品、油菜、烟草、饲料、大豆、玉米、蔬菜等转基因成分的检测(内部资料)。黄东东等人^[43]及马荣群^[44]等人介绍了转基因食品的定量PCR检测方法。朱水芳、赵文军等研究了PCR-ELISA法^[45,46]在转基因产品检测中的应用。潘良文等^[47]开发了转基因大米的PCR定性检测方法,他们还在转基因油菜检测方法上做了大量的研究工作^[48-51]。覃文等研究了食品中转基因成分的检测方法^[52]和PCR-GeneScan技术在转基因产品检测中的应用^[53]。陶震等^[54]利用复合PCR(Multiplex polymerase chain reaction,

MPCR)法同时在一个PCR反应管中放入3对引物,快速检测5个大豆和6个豆粕样品3个目的外源基因(NOS终止子,3CaMV5S启动子和NOS启动子),结果与相应的单个PCR反应一致,大大提高了转基因产品定性检测效率。刘光明等开发了复合定量PCR检测方法,可同时检测35S和NOS的含量^[55]。这些方法都是在DNA水平上检测转基因生物及其产品的标志基因或报告基因。ELISA法是常用的检测外源基因的产物蛋白质的方法。被广泛应用于转Bt基因的植物中Bt毒蛋白的定性定量检测^[56-58]。

4.4 在食品卫生检疫中的应用

PCR技术被应用于快速检测食品中的副溶血弧菌^[59]、寇运同等应用PCR技术快速检测水产品(鲑鱼片、鲈鱼片、马哈鱼、蛤蜊和文蛤)中的副溶血弧菌进行研究,结果与常规的方法对比,符合率100%,检验周期大大缩短,PCR法从头到尾只需24小时,而常规方法需要7天,且灵敏度高,检测成本低^[60]。分子标记法如PCR法^[61]和ELISA检测法已被应用于食品中的沙门氏菌的检测^[62],既准确又省时。食品中的重要致病菌O-157目前最理想的方法是PCR技术^[63]。

经过多种原料加工后的食品中的转基因成分也常用ELISA法进行定量检测^[57],该法也被用于食品或饲料中某些毒素如黄曲霉素B1的含量检测^[64]。

4.5 在检验检疫其他领域中的应用

分子标记技术在检验检疫其他领域的应用还很广泛。比如可以通过羊毛角蛋白的氨基酸序列差异的分析作为分子标记来区别鉴定山羊毛与绵羊毛等。

5 展望

5.1 抓好生物高新技术在检验检疫领域中的应用,尽量缩短高新分子标记技术从发明到应用的周期

当今生物技术的发展日新月异,新的技术层出不穷,我们应该跟踪国内外最新发展动态,只要有可能应用于检验检疫实践的基础理论或方法,都应该不失时机地加以开发应用,尽量缩短新的方法在检验检疫领域中应用的周期,尽快把科学技术转化成生产力。分子标记技术以其准确、稳定、高效等优点已被广泛应用于医学、农林、水产、生物工程等领域。但目前分子标记特别是类型多样的DNA分子标记的功能,在检验检疫中还未得到充分应用,一些在动植系统分化或遗传育种领域研究应用的分子标记技术完全可以用于进出境生物及商品的检验检疫。如本文第一作者^[65]按水稻叶绿体DNA(已知序列)的PstI 12片段两端的20个和21个碱基序列合成互补链作为引物,进行PCR扩增,以此片段的长短差异来判别籼-粳稻亚种(籼稻比粳稻短69个碱基),此法可用于大米籼-粳类型的鉴定,在大米国际贸易中具有重要意义。

一些动植物检疫对象完全可以通过分子标记法的应用而提高鉴定的准确性和工作效率,比如有害杂草和昆虫,检疫现场检出的往往是草籽和幼虫,传统的方法需要将草籽发芽、幼虫饲养成虫,才能加以鉴别,要费时1~2周以上,而分子标记法则只需几小时,最多1~2天。因此,搞好分子标记技术在检验检疫中的应用可以提高检验检疫的工作质量与工作效率 (下转第26页)

来进一步育种变得比以往任何时候都困难,但这种使用权对公众来说是件好事,应予以保护。FAO牵涉过好几桩诉讼,比如与世界知识产权组织的诉讼,该组织正在商讨有关食品、农业与知识产权的问题。

7 GMO与科学的责任

科学研究从来不是在真空中进行的,但是现在,科学研究比以往任何时候都更需要经受公众的详细审查,更需要与公众的观念抗争,更需要利用科学满足贫困者的需求时考虑技术和伦理问题。当前有关转基因以及如何标识食品中GMO成分的争论已突显出大家对透明度的要求。公众对于基因工程及其目的的矛盾心理越来越明显。研究部门运用了重要的手段来进行质量控制,他们应将这一事实广而告之。对等审查的谨慎、公正,科研机构,包括科学界人士和大型杂志社的监督,即使不一定能保证研究工作的适用性,也能保证研究工作的质量。上周,世界最著名的12家医学期刊发表声明称其将采取一项政策防止研究工作的赞助人对研究结果的分析、解释和报告施加控制,食品和农业部门大可以此为榜样。然而,普通大众根本不了解对等审查和标准制订(程序类似)的情况,公众信任度仍然很低。

8 结论

(上接第4页)

5.2 检验检疫系统内应尽快成立协作攻关小组,建立各种分子标记技术的国家标准以及含有丰富资料的分子标记数据库。

要将分子标记技术广泛地应用于检验检疫,首先必须收集大量的检疫对象及其近缘种的材料,进行各种分子标记的检测,建立各种检疫对象的分子标记技术并制定国家标准,在此基础上建立资料丰富的分子标记数据库。这是个庞大的工程,必须由全质检系统各部门、各地方局协作攻关,发挥各自的优势,如仪器设备优势、研究材料优势、技术力量优势,甚至财力优势等。其次是搜集已经被应用于检验检疫领域或在农、医、林、水等领域的分子标记,加以整理,分门别类,内容包括检疫对象(含寄主)名称、分子标记技术类型、标记的分子大小如分子量或序列长度等。

5.3 以分子标记技术为试点,尽快建立检验检疫技术信息网络,并不断加以完善,最后建立“数字质检”体系(Digital-AQSIQ System)。

信息技术在质检系统的应用已经取得了明显的效果,国家局已有因特网站(www.aqsiq.com)与内部局域网,对检验检疫技术的信息化非常有利。但目前该网页上多数是与质检行政、业务有关的政策、法律法规等方面的内容,还没有专门的检验检疫技术数据库。为了提高工作质量与效率,应对我国入世后的国际形势及达到资源快速共享的目的,建立一个涵盖所有检验检疫技术的数据库,势在必行。本文作者在福建省

转基因提高了一些作物的产量,但我们掌握的证据显示,这项技术至今只解决了与众多发展中国家生产体系相关的极少数作物的极少数难题。即使在发达国家,消费者也感受不到转基因作物的好处,而且它们的安全性还不确定,这些都限制了它们被采用的程度。投资的大规模和先进科学的吸引力可能改变了研究的优先顺序和投资的方向。转基因本身并不是一件好事,它只是一个融入更广泛研究日程的工具而已,在这个研究日程中,公共的和私人的科学研究能够彼此平衡。多数短期成就可能是在借助基因标记育种和诊断方面中取得的,而不是来自转基因作物本身。

指导研究工作向正确的方向发展,制定适当的有关安全和使用权的国际协议是一项艰巨而又责任重大的工作。我们比以往任何时候都更强烈地意识到有必要对国际公共商品实施负责任的管理,但这方面的政治手段如此薄弱,同时,在这个全球化的经济社会,小国、贫弱的生产者和消费者的呼声常常被忽视。我认为,科学家具有道义上的责任来为这些社会上的弱势群体说话,因为有时候他们才最明白不这样做可能会有什么样的后果。

[福建检验检疫局 郑华译自 <http://www.fao.org/ag/magazine/GMOs.pdf> 邵碧英校]

科技厅申请的“转基因生物及其产品外源基因数据库构建的研究”项目,作为“数字福建”系统工程的一部分被列为福建省2001年科技计划重大项目,获得了50万元的资助,课题研究正在顺利进行中。估计不久将率先作为检验检疫技术的重要部分,在网上与同行共享。作者还计划在该项目研究的基础上,继续立项进行“生物分子标记技术在检验检疫中应用的数据库构建研究”,为建立“数据质检”体系打好基础。

5.4 加强与系统外合作,开发高新检测技术,占据市场与技术的制高点。

我国已经加入世贸组织,根据有关规定,2~3年后,国外检验检疫机构将进入我国,我们的检验检疫事业将面临激烈的市场竞争与严峻的技术挑战的局面。要提高我们竞争力,技术与人才是关键。因此高新检测技术的研发,非常必要。除了在系统内进行协作攻关外,还应积极与国内外科院校及高新生物技术公司合作,研制开发适合于检验检疫行业特点的有自主知识产权的分子标记技术、相关试剂盒以及其他尚未普及的高新技术如生物(DNA)芯片技术等,并加以推广应用,以提高我国检验检疫行业的科技含量,提高检测的准确率与工作效率。因此,尽快提高我国检验检疫技术水平,是摆在检验检疫科技人员面前的一项紧迫而又艰巨的任务。因为它关系到能否把好国门,维护国家荣誉及国计民生等重大问题。可见搞好这项工作具有重要意义。

参考文献(64篇略)