转 Bar 基因稻米对妊娠小鼠健康的影响

刘　畅　封　昀　朱柏政 / 湖南省娄底市第一中学
指导教师　王开诚　朱健来　刘求清

◉ 研究背景

高一时，班里一名同学吃零食后，全身皮肤上出现许多红色小硬块，眼睑肿胀，并伴有哮喘，被同学们紧急送往医院抢救。热心的医生告诉我们，这是食物过敏，与摄取食物中含有异源蛋白有关。在上生物课时，我们也了解到目前世界范围内基因工程方兴未艾，其中 Bar 基因是使用较多的基因之一。转基因食品已经进入市场和餐厅。这名同学的过敏是不是与吃了转基因食品有关呢？转 Bar 基因稻米是否会引起食物过敏呢？稻米中 Bar 基因表达的产物是否会成为过敏原？转 Bar 基因稻米是否会对人体健康产生影响？心底的疑问激发了我们探究的兴趣。

◉ 材料与方法

➲ 材料、仪器

◈ 小鼠养殖房由 2 间生物实验室改建而成，1 间作为饲养室，1 间作为消毒、解剖、器材室。养殖房内配空调通风系统、消毒灭菌系统、照明紫外灯系统、纯净水设备、通讯设备、小鼠养殖笼具等。

◈ 稻米：转 Bar 基因稻谷“香两优 681（香 125S/Bar68-1）”和常规稻谷“香两优 68（香 125S/D68）”，分别加工成大米。

◈ 基础饲料：为满足蛋白等营养物质的摄入量，选用 1993 年美国营养学会推出的适用于啮齿动物的 AIN-93G 饲料配方为参照标准配制而成。

◈ 小鼠日粮由稻米、小麦、豆粕、鱼粉、花生油、磷酸氢钙、预混料等组成，每日饲喂 2 次。

◈ 实验动物：SPF 级昆明小鼠 200 只，体重 18 ~ 24g。

◈ 主要仪器：全自动血液分析仪（Sysmex XT-18001）、高速冷冻离心机（TCL-16A）。

◈ 主要试剂：sIgA、DAO、IgE ELISA 定量测定试剂盒，孕激素放射免疫试剂盒，PAT ELISA 检测试剂盒（型号 AP013）。

➲ 实验假设、思路、方法

◈ 实验假设。转 Bar 基因稻米中的 PAT 可能成为肠道中的过敏原：小鼠食用转 Bar 基因稻米后，由该基因表达的 PAT 进入其肠道成为异源蛋白，可能成为过敏原。

哺乳动物妊娠的特殊生理：妊娠阶段母鼠摄入致敏物质后，自身及胎儿所受的影响将比普通鼠显著。通过小鼠连续 3 代、大剂量（饲料中分别含 40g 或 60g 转 Bar 基因大米）饲喂后，预期妊娠 15 天时小鼠的血常规、生化免疫指标、孕激素含量等可能发生异常。受转基因食物成分的影响，与对照组相比孕鼠的体重和生殖力等可能发生改变。

◈ 实验思路见图 1 。

◈ 实验方法包括小鼠喂养、对孕鼠生殖力的影响实验、血样采集、血细胞形态和数量及血生化指标测定、肠黏液 sIgA 检测、血清 DAO 和 IgE 检测、血液孕激素含量检测，以及蛋白质的提取和检测等。

◉ 实验数据统计与分析

数据用 Excel 2003 软件包整理，再使用 SPSS 17.0 软件包进行单因素方差分析、多重比较、T- 检验等处理。采用 $\alpha=0.05$ 为假设检验标准，分析同代小鼠各统计量之间、喂养同种饲料

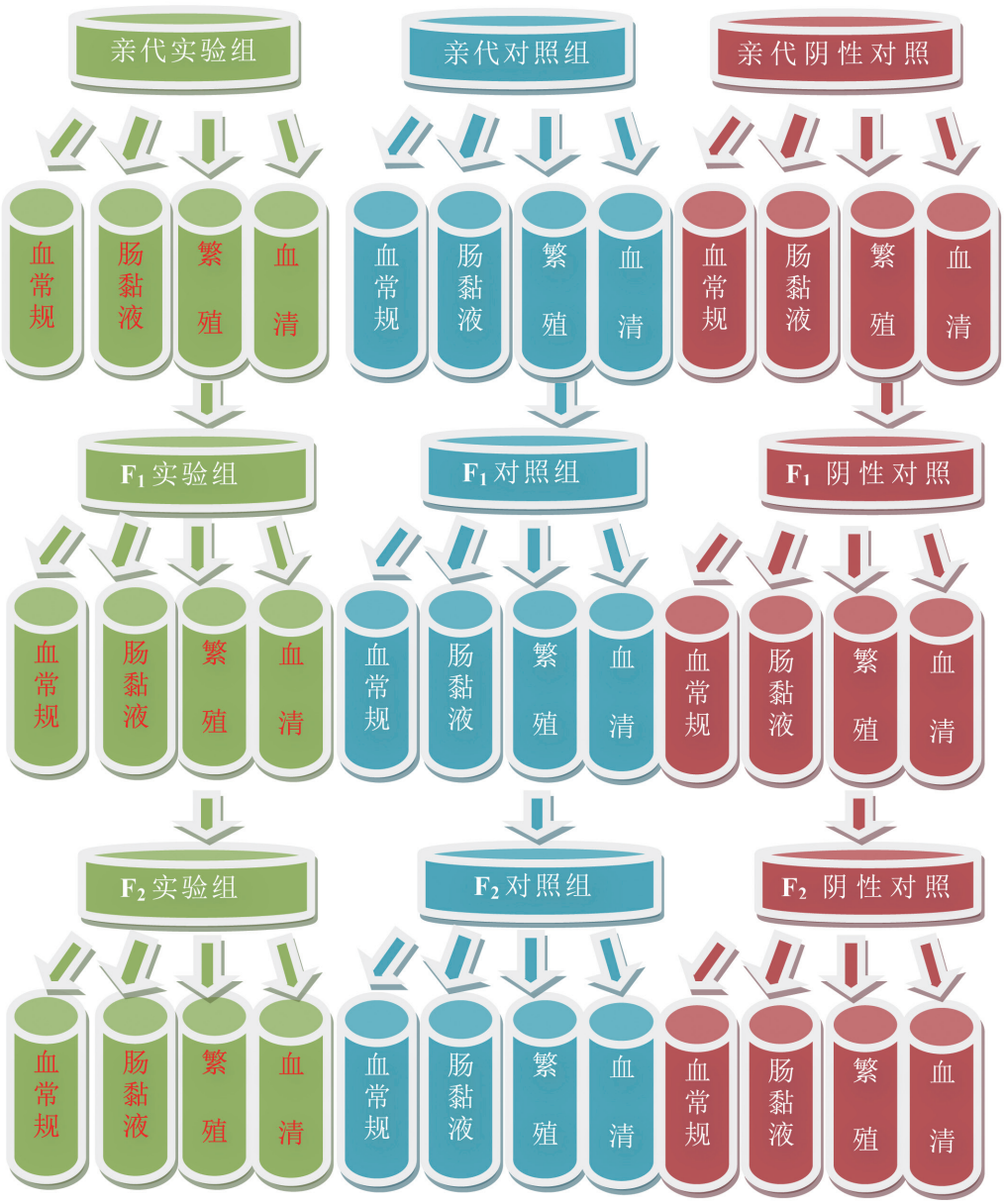


图 1　妊娠小鼠传代和生化分析实验思路

的不同代小鼠之间有无差异。

实验分别针对亲代孕鼠、F_1 和 F_2 代的孕鼠进行健康分析。分析包括行为学观察、体重变化观察、对生殖力的影响、血细胞形态和数量与血生化指标的组间比较、生化免疫指标比较、血液孕激素含量测定、稻米及小鼠器官中外源蛋白的检测以及消化道外源蛋白残留情况检测。

◉ 小结与讨论

➲ 喂养转 Bar 基因稻米的孕鼠行为、体重无明显异常

以不同含量的转 Bar 基因稻米喂养的 3 代孕鼠与对照组相比较，妊娠前、妊娠期间、孕鼠分娩后、哺乳期间也未见异常行为的发生。亲代、F_1、F_2 代妊娠小鼠体重增长规律基本一致，各组之间无显著性差异（$P > 0.05$）。

➲ 喂养转 Bar 基因稻米对孕鼠的生殖力有一定影响

妊娠、分娩是每一个雌性动物繁殖下一代必须经历的过程。在这个过程中，雌性动物的生殖力，包括妊娠率、活胎

率、流产率等将直接反应出一个雌性动物繁衍后代的能力。外界环境的变化、食物成分的变化、动物自身的心理变化等产生的影响都可能引起动物生殖力的改变。本研究中供试的 3 代孕鼠，总体上表现为转基因组的妊娠率、活胎数高于对照组，流产率低于对照组，这一趋势在亲代“60% 转”表现尤为明显，通过检测对应的孕激素水平，结果能印证这一趋势。说明转 Bar 基因稻米对孕鼠的生殖力有一定影响，尤其是最初接触转基因水稻的亲代。随着多代遗传，小鼠的适应性增强，各项指标逐渐接近对照组。因此我们认为孕鼠的生殖力在一定程度的上升，是小鼠适应新的食物成分的一种生存策略。

➲ 喂养转 Bar 基因稻米后血常规指标的差异性未达显著性水平

本实验对 3 代妊娠小鼠（P、F_1 和 F_2）的红细胞、血小板、白细胞计数及其分类观察，并对血红蛋白等血常规项目进行了逐代检测，结果显示食用转 Bar 基因稻米的妊娠小鼠血常规 8 项指标均有不同程度的改变，尤其在亲代表现较为突出，而 F_2 代逐渐接近对照组；但各项指标值均未达统计学显著水平（$P > 0.05$）。我们认为这可能与 Bar 基因表达的 PAT 进入肠道成为过敏原，导致亲代机体反应较明显、子代免疫能力逐渐提高有关。

➲ 小鼠生理生化免疫指标组间、代间比较均有变化

分泌型免疫球蛋白 A（sIgA）、二胺氧化酶（DAO）、免疫球蛋白 E（IgE）：在各代的组间比较均表现为“转”完全高于“常”和“阴”；在代间“40% 转”、“60%转”均表现为 $F_2 > F_1 >$ 亲代，但未达到显著性差异水平，原因可能是小鼠对 Bar 基因表达产物（PAT）有降解、排泄作用以及自身免疫恢复能力。而检测中转基因组 sIgA、DAO、IgE 升高，我们认为这可能与 Bar 基因表达的 PAT 对小鼠肠道黏膜及免疫屏障系统造成一定损害有关；但各项指标值尚未达统计学显著水平（$P > 0.05$）。同时在实验中发现，F_1 或 F_2 妊娠鼠的这些指标又恢复到与阴性组相当的范围，这说明小鼠经 1 ～ 2 代已开始适应转 Bar 基因食物，自动修复能力增强，且 F_2 较 F_1 更强。免疫力在一定程度上的升高，也是小鼠适应新的食物成分的一种生存策略。

➲ 外源蛋白 PAT 在孕鼠体内未发现残留或生物富集现象

随机抽取转 Bar 基因稻米（Bar68–1）用 ELISA 试剂盒进行 PAT 检测，均能检测到 PAT 蛋白，且 ELISA 显色反应与常规稻米（D68）差异十分明显。说明 Bar 基因在稻米中有一定表达。但以转 Bar 基因稻米喂食小鼠后，PAT 可被机体降解、排泄，却未发现残留或生物富集现象。这主要是由于饲料中的蛋白质进入消化道后，在胃中的降解程度不高，经过胃中酸性环境和胰腺及肠道上皮细胞分泌的各种酶作用下被降解成小的片段；而外源蛋白在胃肠道黏液中无耐受性，也会很快降解，转基因成分没有在小鼠体内残留或发生转移，其 Bar 基因所表达的外源蛋白能被动物机体充分降解、排泄，不会出现生物富集现象，不会通过粪便排泄到土壤中而对环境产生危害。

◉ 建议

◈ 尽管在本实验条件下未发现转 Bar 基因稻米对孕鼠产生明显影响，但推广转基因水稻时还是要慎重行事。

◈ 各地应保留一定数量的不种植任何转基因植物的基本农田。

◈ 转基因食品应严格标示。

◉ 创新点

◈ 实验发现 Bar 基因表达物能使小鼠产生免疫应答。

◈ 实验还发现 Bar 基因表达物能在传代过程中激活下一代的免疫力，且 F_2 孕鼠免疫恢复能力高于其他 2 代。

◈ 饲喂转 Bar 基因稻米的孕鼠在实验条件下趋向于选择提高生殖力、免疫力的生存策略。

◉ 下一步工作打算

由于受实验时间、实验鼠数量和传代代数的限制，实验中还有许多尚待完善的地方。下一步我们打算对转基因食物中其他成分进行过敏原测定或污染物测定；对实验中血常规、生化免疫、生殖力等指标的变化是个体还是群体现象、变化幅度有多大等问题进行深入探究。

该项目获得第 27 届全国青少年科技创新大赛创新成果竞赛项目中学组动物学一等奖。

专家评语

该项目选题方向非常符合当代人们对转基因食品安全性研究的需求，不仅有实际应用价值，而且有利于激发学生对科学的爱好与追求欲。该项目有利于提高学生的动手能力、创新意识及分析问题的能力。建议进一步对转 Bar 基因稻米中过敏原始物质进行测定分析。 ■