

转基因食品中外源 DNA 降解和代谢的研究进展

张兴敏, 于洪敏, 魏 健, 高冠男, 张可炜

(山东大学生命科学学院, 济南 250100)

摘 要:综述了转基因食品中外源 DNA 在加工过程、生物体胃肠道中的代谢降解等方面的研究进展。食品加工过程中的热、压力和酸碱等物理和/或化学因素都能使 DNA 产生一定的降解, 不同加工方式对 DNA 的降解程度不同; 大部分 DNA 在动物胃肠道中被消化降解, 有一些 DNA 片段可能在胃肠道、血液及其他组织和器官中残留; 外源基因能否向胃肠道微生物、口腔微生物或体细胞转移尚缺少确凿证据, 争论激烈。

关键词:转基因食品; 外源 DNA; 水平转移; 胃肠道微生物; 降解

中图分类号: Q813 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-0864(2008)01-0052-06

Research Progress on Degradation and Metabolism of Foreign DNA in Genetically Modified Food (GMF)

ZHANG Xing-min, YU Hong-min, WEI Jian, GAO Guan-nan, ZHANG Ke-wei

(School of Life Sciences, Shandong University, Jinan 250100, China)

Abstract: This article reviews the research progress in the degradation of foreign DNA derived from GMF during food processing and in gastrointestinal tract, and the metabolism of foreign DNA within the body. Physical and chemical factors such as heat, pressure and pH in food processing contribute to the degradation of foreign DNA. Different processing methods will bear different degrees of DNA degradation, while most of food-derived DNA will be degraded in the gastrointestinal tract, some fragments, however, are likely to be detected in the gastrointestinal tract, blood, other tissues or organs. There are also controversies over whether foreign DNA could be transmitted to gut microorganisms, oral microorganisms or body cells. Clear evidence is still lacking.

Key words: genetically modified food(GMF); foreign DNA; horizontal transfer; gut microorganisms; degradation

自 1994 年转基因延熟番茄在美国批准上市以来, 转基因植物的研究和产业化得到迅速发展, 2006 年, 全球转基因植物总种植面积超过 1 亿 hm^2 , 比 2005 年增长 13%。转基因植物由于导入其他生物的抗性/和优良基因, 具有巨大的经济和社会效益, 而倍受关注。新技术带来效益的同时, 也可能存在风险。“巴西豆过敏”、“转基因马铃薯引起大鼠器官异常”和“美国药用玉米污染”等一系列事件的报道, 使转基因食品的安全问题引起人们的担忧。转基因食品中外源基因在体内的代谢行为、外源基因能否与胃肠道细菌之间发生水平转移、是否会整合入宿主动物基因组中等问题为人们所关注。本文从转基因食品中外源

DNA 在食品加工过程、在胃肠道中的降解和向胃肠道、口腔微生物及胃肠道上皮细胞的水平转移等几个方面综述了近期的一些研究进展。

1 食品加工方法对 DNA 的降解

由于 DNA 是食品中的正常组分, 除发现高摄入核酸与痛风有潜在联系外, 一般很少考虑核酸对健康的危害。但在转基因食品出现后, 因担心转基因食品中的外源基因发生水平转移, 食物中核酸成分的安全性逐渐引起人们的关注^[1]。目前, 未见有转基因植物的外源基因水平转移至细菌的正式报道, 但某些细菌在食物中能自然形成感受态,

收稿日期: 2007-10-03; 修回日期: 2007-10-30

基金项目: 山东省自然科学基金(Y2004D04)和 863 计划项目(2006AA10A107)资助。

作者简介: 张兴敏, 学生, 生物技术专业。通讯作者: 张可炜, 副教授, 硕士, 主要从事植物生理生化教学和玉米磷矿质营养的研究工作。Tel: 0531-88364815; E-mail: Zhangkw@sdu.edu.cn

且生活在肠道内的细菌种类和数量众多,至少有一种肠道菌(*Streptococcus bovis*)在体外被证实可以自然形成感受态。因此,转基因食物经加工、烹调 and 消化道作用后,DNA 能否完整保存,维持的时间如何,有无生物学活性值得关注。

Gawienowski 等^[2]研究表明,经浸泡、湿磨等加工过程能使玉米基因和质粒 DNA 降解,135℃ 加热 2 h 后,DNA 几乎完全降解。而 Kharazmi 等^[3]认为,浸泡后又经过物理破碎处理而做成的豆奶、豆腐和热加工做成的玉米糊和马铃薯,没有检测出大于 1.1 kb 的 DNA 片段。Chiter 等^[4]研究了不同加工方法对多种饲料原料(油菜、亚麻、大豆、小麦、玉米、甜菜和黑麦草)DNA 的降解作用,结果表明,对作物原料至少进行 5min 不低于 95℃ 的热处理是降解 DNA 所必需的,但对作物叶片和种子采用如研磨、粉碎等物理方法处理不能有效地降解其 DNA。Alexander 等^[5]推测饲料加工过程中对降解 DNA 起决定作用的可能是高温,且温度必须达到一定程度。Bauer 等^[1]研究发现,在西红柿的几种加工食品中能扩增到的 PCR 片段小于 400 bp,在豆奶和豆腐中则可检测到 1 339 bp 的片段,大豆深加工蛋白质中能扩增到 714 bp 片段。Peano 等^[6]研究了豆粉、薄脆饼干和豆腐中的内源大豆凝集素基因(*lectin*)的降解情况,在豆粉中能够检测出 1 626 bp 的该基因片段,薄脆饼干和豆腐中只能分别检测出 391 bp 和 169 bp 的该基因片段。陈颖等^[7]研究发现在豆腐、豆奶和豆粉的加工过程中,其原料中仅能检测到大小为 1 883 bp 的内源 *lectin* 基因片段,经磨浆、煮浆和均质等工艺处理后,*lectin* 基因降解至 1 000 bp 以下,而最终的豆奶、豆粉中 *lectin* 基因片段大小仅为 200 bp。沈立明等^[8]对不同加工条件下转基因大米 s86 潮霉素标记基因(*hpt*)的稳定性进行了研究,也得出了相近的结论。Fábio 等^[9]对巴西市场上含大豆蛋白质的肉食品添加剂如香料、香味剂和味道增强剂的研究表明,在 32 个食品添加剂样本中,有 25 个样本检测到 164 bp *lectin* 基因片段的存在,15 个样本中检测到抗草甘膦大豆(Roundup Ready 大豆,即 RR 大豆)的特异基因(35S 启动子/*CTP* 基因)169 bp 片段;在 8 种加工后的肉食品中检测到 *lectin* 基因,在 3 种加工后的肉食品中检测到抗草甘膦大豆特异基因。以上研究结果表明不同加工方法导致食品

DNA 的降解程度不同。此外,利用转基因菌株(工程菌株)生产的食品更值得关注,Straub 等^[10]曾测定了在加工过程中用重组菌株 *Lactobacillus curvatus* 生产的香肠中重组 DNA 的残留情况,发现虽然经过了热处理,在香肠储存 1 周、2 周、4 周和 12 周后,仍可从香肠中检测到重组 DNA,且热处理的温度并没有明显改变重组 DNA 的存在形式。

就加工方法对食品 DNA 的降解情况而言,不同学者的研究结果存在差异,但不可否认的是,加工过程的物理、化学因素对转基因食品中的 DNA 产生了降解作用。由于深加工食品中 DNA 模板含量少,需利用高效或特殊的 DNA 提取方法来提取其中的微量 DNA。因此,随着微量 DNA 提取、检测技术的发展,人们对转基因作物被加工成食品后,其中的 DNA 最终能降解到什么程度将会有更深入的认识。

2 外源 DNA 在人类胃肠道中的代谢降解

一般认为,外源大分子物质,如核酸和蛋白质,在进入人类小肠后将完全降解。事实上大分子物质在人类胃肠道中的代谢命运并非如此简单。Schubbert 等^[11]用噬菌体 M13mp18 DNA 喂食小鼠,利用 PCR、FISH 等方法检测了外源 DNA 在小鼠体内的命运。在喂食后 8 h 以内所取的样本中,有 84 只小鼠的小肠内容物中检测到 M13mp18 DNA 片段,在盲肠、大肠和粪便中也能检测到,甚至喂食 18 h 后,仍可在盲肠中检测到 M13mp18 DNA 片段,结果表明,食源性 DNA 在小鼠胃肠道中并未被完全降解。其后,Schubbert 等^[12]用含有 pEGFP-C1 质粒的食物饲喂小鼠也得出了类似的结论。Chowdhury 等^[13]研究了饲喂猪转基因玉米和非转基因玉米后,猪胃肠道内容物中玉米内源基因和重组基因 *crystal 1Ab* 的代谢情况。在实验组和对照组的 10 头猪胃肠道内容物中都能检测到玉米内源基因,如 *zein* (242 bp), *invertase* 基因(226 bp)和 *ribulose-1, 5-biphosphate carboxylase/oxygenase* 基因(1 028 bp),实验组 5 头猪的胃肠道内容物中还能检测到 *cry1Ab* 基因片段(110 bp 和 437 bp),甚至在 1 头猪的直肠中也能检测到 *cry1Ab* 基因(437 bp)。实验中扩增出的基因与玉米中的基因有 100% 的同源性,表明食源性的 DNA 并没有被完全降解。Guertler 等^[14]对欧洲达摩鹿(*Dama*

dama)的研究也得出了类似结论。Duggan 等^[15]用 PCR 技术检测了喂食转基因玉米青贮饲料和谷物后转基因 DNA 在绵羊瘤胃中的命运,发现喂食青贮饲料 3 h 后,可在瘤胃样本中扩增出短的(211 bp)特异靶序列,而喂食谷物 24 h 后,仍可以检测出特异性的靶序列。Palka-Santini 等用小鼠研究也得出类似结果,1 h 后在胃和小肠中可检测到绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)基因片段,3 h 后在盲肠和大肠中检测到,6 h 后仍能检测到该基因片段。Deaville 等^[16]用小鸡作为研究对象,在大肠中检测到食源性 DNA 的存在,在喂食转基因大豆或玉米 96 h 后,仍可在嗉囊中检测到转基因成分。Wiedemann 等^[17]采用一种原位技术,通过传统和定量 PCR 检测了叶绿体特异基因和 Bt176 玉米的重组基因在牛瘤胃内随时间的降解,发现将装有全株(whole-plant)和青贮饲料(ensiled corn)的尼龙袋在瘤胃内培育 48 h 后,可扩增出 *rubisco*(ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase gene, <431 bp)和 *cryIAb*(211 bp)基因片段。由此可见, DNA 片段在胃肠道能持续比较长的时间。

实验动物的研究结果提供了不少关于 DNA 在胃肠道中代谢行为的信息,但反刍动物的消化系统与人类有很大不同,小鼠、家禽的消化道与人类相比也较短,因此这些动物身上获得的结果不能完全类推到人身上。Netherwood 等^[18]以 7 例因胃肠道疾病切除末段回肠的志愿者为实验对象,在志愿者食用含转基因大豆的膳食后,利用定量竞争 PCR(QC-PCR)技术,检测了这 7 例受试者通过经肠腹壁造口转至结肠造瘘袋消化液中的目标 DNA 5-烯醇丙酮酰莽草酸-3-磷酸合酶基因(*epsps*)序列。结果在 7 例回肠造口者的消化液中通过 PCR 均检测到转基因 DNA 序列,且从 6 例回肠造口者的消化液中回收到整个基因的 PCR 产物,但这些完整基因是本身存在的,还是 PCR 介导的由小片段 DNA 序列重组产生的,有待进一步的确认。Netherwood 等^[18]又用 12 例具有完整胃肠道的健康志愿者做研究,从他们的粪便中未能检测到特定的外源 *epsps* 基因,这说明虽然外源基因可以在回肠造口者的回肠中检测出,但这些基因在具有完整消化道的人体大肠中可能被完全降解。

从动物模型和人体实验结果来看,饮食中丰富的植物内源 DNA 在体内能够存留相当长的时间,而转基因食物中 DNA 的存留时间则存在差

异。植物叶绿体基因以多拷贝的形式存在于植物基因组中,在经过消化系统后不会被全部降解,在消化道各个部分均可检测到其小片段,因而常常被作为内源性基因的对照。相对于叶绿体基因来说,特异外源基因大多以单拷贝形式存在于转基因作物中,经过消化系统的降解后可检测到的几率非常小^[13,19]。另外,高丰度植物内源 DNA 相对容易扩增,转基因植物中的外源 DNA 不易扩增^[19];且 PCR 扩增的序列越短,越有可能在更长的时间和消化系统的更下层检测到靶序列片段^[13]。还有学者认为,能够在胃肠道消化物中检测到外源 DNA 的长片段,可能与未降解的食物颗粒有关,若在提取 DNA 前将这些未消化的食物颗粒手工去除,则不能扩增出外源 DNA,这与前人关于裸露 DNA 不能在瘤胃中存在的研究结论相吻合^[20]。因此,关于饮食中的 DNA 在人体消化道中的代谢过程还需要更加系统的研究。

3 外源 DNA 对食品安全产生的潜在影响

由于转基因 DNA 可能在人体内存在一定的时间,至少是以片段的形式存在一定的时间,从安全性评估角度来讲,这些 DNA 片段在体内会对人类健康有什么影响,是值得关注的问题。人类食用历史证明,食源性 DNA 对人类健康没有影响,或者这种影响小到可以忽略的程度,似乎没有讨论的必要。但由于转基因食物中的外源基因是人类在食用转基因食品前不曾接触过的重组基因,有的基因甚至没有被食用的历史,因此,探讨转基因食品中外源 DNA 对人类健康的可能影响是必要的。

3.1 外源 DNA 的毒性

人类长期食用结果表明,食物中 DNA 一般是没有毒性的。由于转基因食品中的外源 DNA 与传统食品中的 DNA 化学成分相同,而且数量上占人类摄入 DNA 总量的比例很小(约 1/250 000),可以认为转基因食品中的重组 DNA 对人体没有毒性。

3.2 外源 DNA 的水平转移

3.2.1 外源 DNA 向胃肠道微生物的转移 DNA 水平转移是自然界经常进行的一个普遍过程,在长期进化过程中不断发生着物种之间的基因交换。微生物似乎善于向邻居“借用”或“盗用”基

因,这些邻居包括微生物和高等动植物,基因组测序表明耐辐射奇球菌(*Deinococcus radiodurans*)含有几个只有在植物中才有的基因,结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)的基因组上也至少含有 8 个来自人的基因^[21]。

由于转基因食品中的外源 DNA 占人类食物中摄入 DNA 总量上的比例很小,一些学者认为,转基因食品中的外源基因发生水平转移的可能性很小。但从理论上讲基因的水平转移是可能发生的,因而转基因食品中的外源基因能否发生水平转移仍被人们所关注。完成转基因食品中外源基因水平转移需要满足:①外源基因在经食品加工、贮存和消化道消化后,能够保存足够长、携带完整基因的 DNA 片段;②在数量上不占优势的外源基因与食品中丰富的 DNA 以及脱落的肠道上皮细胞释放的 DNA 竞争;③受体细菌或哺乳动物的细胞能够建立感受态,外源基因能逃避受体细胞中限制性内切酶的降解;④受体细胞基因组与供体 DNA 有同源性。若二者没有同源性,受体细胞发生转化的概率大大降低,所转移的基因只能通过概率极低的基因修复事件或重组事件整合入宿主 DNA。因此,有人认为上述一系列的事件同时发生的概率极低^[22]。一些实验结果也支持转基因食品中的外源基因不会发生水平转移,1993 年 WHO 报告指出,尚无从转基因植物转至肠道微生物区系的证据,在人类胃肠系统中也没有细菌转化的报告^[23];2003 年英国政府的《GM Science Review》也称,转基因 DNA 从 GM 植物到细菌的跨越“界”(kingdom)转移,由于一系列稳固障碍的存在而不可能发生^[24]。但并非所有实验结果都支持这一观点,Netherwood 等^[18]采集回肠造口者的回肠消化液样本,接种于 LB 培养基,结果有 3 人的样本培养液检测到极低浓度的 *epsps* 基因拷贝(每 10^6 个细菌中有 1~3 个转基因拷贝),结果表明,他们曾经食用过转基因大豆,并且大豆中的转基因已经转移到他们的肠道微生物中。但 Netherwood 等^[18]始终没有通过集群印迹杂交技术或 PCR 扩增技术,分离出包含转基因的细菌,而且在健康志愿者粪便的微生物中也没有检测到转基因成分,所以转基因食品中重组基因向胃肠道微生物的转移能否发生尚需进一步研究。

3.2.2 外源 DNA 向口腔微生物的转移 相对于胃肠道的“恶劣”环境,DNA 在口腔中可能更容易

发生水平转移。研究表明,在体外暴露于唾液中的质粒 DNA 或在人口腔中处理一段时间的质粒 DNA 仍能转化到体外的感受态细胞中^[25]。外源 DNA 的转化活性在唾液中可以维持较长的一段时间,暴露于绵羊唾液中的质粒 DNA,甚至 24 h 后仍能转化感受态的 *E. coli*,然而暴露于瘤胃液体的质粒 DNA 只能持续 1 min 的转化活性。在绵羊口腔培育 8 min 的质粒 pCRY6 能使细菌群落中出现卡那霉素抗性菌株,表明口腔中的外源基因有转化口腔中天然感受态细菌的能力^[26]。虽然有许多口腔细菌在体外能够被自然转化,但对体内自然感受态细胞的建立和转化的发生知之甚少^[27]。人类唾液中的成分似乎能够促进口腔细菌感受态的建立,口腔中众多的细菌形成生物膜(biofilm),有利于自然感受态的建立。在牙菌斑(dental plaque)上共生的转糖链球菌(*Streptococcus mutans*)被外源 DNA 转化的转化率,要比离散生长时高出 10~600 倍^[28]。时间也是自然感受态细菌能否转化成功的一个因素,即使口腔中具有自然感受态的细菌,如果没有足够的时间与外源 DNA 接触,转化也不能完成。Mejean 和 Claverys^[29]发现,体外感受态细菌获取 DNA 的速度很快,肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*) DP1601 获取 DNA 的速度是 100 个核苷酸/s。如果口腔中的感受态细菌能够以这种速度摄入 DNA,它们用 8 min 的时间足以完成转化。在这方面人们普遍担心的是口腔中的常规链球菌(*Streptococci*)能否介导外源的抗生素抗性基因转移给与它们很相似的肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)。

3.2.3 外源 DNA 向生物体内细胞的转移 外源 DNA 能否向胃肠道上皮细胞和其他组织细胞转移的争论很激烈。Chowdhury 等^[13]用转基因玉米饲料喂猪,发现植物中的内源基因(如 *zein* 基因)和转基因(*cry1Ab* 基因)片段只能在猪的消化道中发现,在血液中没有发现这两种基因片段。Deaville 等^[16]用转基因食品喂食小鸡后,除一例在黏液囊组织样本中检测到 *lectin* 基因外,也没有在消化系统外的其他组织中检测到植物的内源(如 *lectin*, *rubisco* 基因)或外源基因(如 *cry1Ab*, *epsps* 基因)。大鼠饲喂实验也得出类似结论^[30]。但实验结果相反的报道也不少,如 Schubbert 等^[11]在用 M13mp18 DNA 饲喂小鼠的实验中,通

过 FISH 方法和 PCR 技术在白细胞、脾脏细胞(饲喂 2 ~ 8 h) 和肝脏细胞(饲喂 24h) 中检测到 M13mp18 DNA; Einspanier 等^[19] 虽未在牛的组织器官(如肌肉、肝脏、脾脏、肾脏)中检测到植物特有的叶绿体基因或 *cry1Ab*, 但在牛的淋巴细胞和鸡的所有组织中都检测到叶绿体基因(199bp), 且在牛奶中也有微弱信号。刘建文等^[31] 研究发现, 小鼠灌喂 200 μg 质粒 pcDNA3s 1 h 后在所有组织中均能检测到外源质粒 DNA 的存在, 至 6 周后仅在肾脏和血液中检测到外源质粒片段。Aeschbacher 等^[32] 用含有 60% 传统玉米成分和含 60% 转 *Bt* 基因玉米成分的两种饲料分别喂养蛋鸡和肉鸡, 用 PCR 技术检测了鸡组织和鸡蛋中的外源基因, 结果在所有鸡的肌肉、肝脏和脾中检测到玉米线粒体 *ivr* 基因片段, 但在所有样本中都没有检测到重组的植物 DNA 片段, 如 *bla* 或 *cry1Ab* 基因片段, 也没有检测到 *Bt* 基因的产物。作者推断食源性的 DNA 片段转入机体是一个持续进行的正常过程。Agodi 等^[33] 对意大利市场上的牛奶进行了转基因检测, 在 12 个品牌的 60 个牛奶样本中, 有 15 个牛奶样本检测到转基因玉米 Maximizer 中的 *cry1A* 片段, 有 7 种检测到转基因大豆中 *espes* 基因片段存在, 且以 5 个样本作为代表检测内源基因的情况时, 有 2 个样品检测到玉米 *zein* 基因片段, 3 个样品检测到大豆 *lectin* 基因片段。牛奶中检测到的转基因植物基因可能是由于饲喂转基因植物造成的, 也不能排除是空气污染的因素。Palka-Santini 等^[34] 在喂食小鼠 50 μg GFP 质粒 DNA 或 10 μg GFP DNA 和 1 mg 鱼精蛋白质(protamine)复合物 3 h、6 h、18 h 和 24 h 后, 能够用 FISH 方法在盲肠肠道细胞的细胞核中检测到 DNA, 甚至在胚胎的早期细胞中发现了这种 DNA 的信号。虽然 GFP 基因被检测出的概率极低, 在 1 296 个显微镜视野中, 观察到 23 个细胞核中有 FISH 的阳性信号, 但这为胃肠道细胞可以摄取外源 DNA 提供了直接证据。因此, 作者认为动物胃肠道是外源 DNA 进入机体的主要器官。Sanden 等^[35] 对三文鱼(*Salmo salar* L.) 的研究中也发现, 在投喂三文鱼转基因大豆(30% 成分含量) 和非转基因大豆(30% 成分含量) 的饲料后, 用原位杂交和 PCR 的方法也在中肠细胞的液泡系统和黏膜固有层细胞(lamina propria)中检测到食物中 Roundup Ready 大豆 35S

启动子/植物 DNA 交界处 DNA 序列(211 bp 和 305 bp) 的存在。膳食中外源 DNA 进入胃肠道后, 在胃的酸性环境和肠道核酸酶的作用下, 可降解成碎片并随粪便排出。但一部分外源 DNA 成为漏网之鱼, 被肠道细胞摄取或以碎片的形式进入机体, 随血液循环分布于各个器官组织中^[11]。从已有的报道结果来看, 研究者多是通过 PCR 或者 PCR-blot 等方法检测动物肌肉、脏器和乳汁中是否含有转基因片段, 所得结论不甚一致。有的在肌肉、脏器中检测到外源基因, 有的则检测不到, 研究者将这种差异归结于不同动物具有不同的消化系统和消化腔-血液屏障穿越机制。基因拷贝数也是造成目前研究结论差异的原因之一, 较多学者在动物脏器及肌肉中检测到多拷贝的植物叶绿体基因片段, 而未检测到转基因作物中的外源基因片段。

转基因作物由于具有优异的性状而得到世界各国政府的极大关注, 针对转基因食品是否安全(包括生态安全, 食品安全等)的话题争论激烈。由于人类和其他动物食用转基因食品的历史还很短, 长期食用转基因食物的效应还不明确, 因此, 应积极进行进一步研究, 为转基因食品的安全应用提供广泛的科学基础, 从而为人类的健康事业做出更好的贡献。

参 考 文 献

- [1] Bauer T, Weller P, Hammes W P, et al. The effect of processing parameters on DNA degradation in food[J]. Eur. Food Res. Technol., 2003, 217: 338 - 343.
- [2] Gawienowski M C, Eckhoff S R, Ping Y, et al. Fate of maize DNA during steeping, wet-milling, and processing[J]. Cereal Chem., 1999, 76 (3): 371 - 374.
- [3] Kharazmi M, Bauer T, Hammes W P, et al. Effect of food processing on the fate of DNA with regard to degradation and transformation capability in *Bacillus subtilis*[J]. Syst. Appl. Microbiol., 2003, 26(4): 495 - 501.
- [4] Chiter A, Forbes J M, Blair G E. DNA stability in plant tissues: implications for the possible transfer of genes from genetically modified food[J]. FEBS Lett., 2000, 481: 164 - 168.
- [5] Alexander T W, Sharma R, Okine E K, et al. Impact of feed processing and mixed ruminal culture on the fate of recombinant EPSP synthase and endogenous canola plant DNA[J]. FEMS Microbiol. Lett., 2002, 214(2): 263 - 269.
- [6] Peano C, Samson M C, Palmieri L, et al. Qualitative and quantitative evaluation of the genomic DNA extracted from GMO and non-GMO foodstuffs with four different extraction methods[J]. J. Agric. Food Chem., 2004, 52: 6962 - 6968.
- [7] 陈颖, 王媛, 徐宝梁, 等. 食品加工工艺对大豆内源基因降

- 解变化规律的影响[J]. 中国粮油学报, 2005, 20(4): 60-63.
- [8] 沈立明, 吴永宁, 张建中, 等. 不同加工条件下转基因大米潮霉素标记基因(*hpt*)稳定型研究[J]. 卫生研究, 2006, 35(4): 431-434.
- [9] Fábio C A Brod, Ana C M Arisi. Recombinant DNA in meat additives: specific detection of Roundup Ready™ soybean by nested PRC[J]. J. Sci. Food Agric., 2007, 87: 1980-1984.
- [10] Straub J A, Hertel C, Hammes W P. The fate of recombinant DNA in thermally treated fermented sausages[J]. Eur. Food Res. Technol., 1999, 210: 62-67.
- [11] Schubbert R, Renz D, Schmitz B. Foreign (M13) DNA ingested by mice reaches peripheral leukocytes, spleen and liver via the intestinal wall mucosa and can be covalently linked to mouse DNA [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 1997, 94(3): 961-966.
- [12] Schubbert R, Hohlweg U, Renz D. On the fate of orally ingested foreign DNA in mice: chromosomal association and placental transmission to the fetus[J]. Mol. Gen. Genet., 1998, 259(6): 569-576.
- [13] Chowdhury E H, Kurihara H, Hino A, et al.. Detection of corn intrinsic and recombinant DNA fragments and Cry1Ab protein in the gastrointestinal contents of pigs fed genetically modified corn Bt11[J]. J. Anim. Sci., 2003, 81: 2546-2551.
- [14] Guertler P, Lutz B, Kuehn R, et al.. Fate of recombinant DNA and Cry1Ab protein after ingestion and dispersal of genetically modified maize in comparison to rapeseed by fallow deer (*Dama dama*) [J]. Eur. J. Wildl. Res., 2008, 54(1): 36-43.
- [15] Duggan P S, Chambers P A, Heritage J, et al.. Fate of genetically modified maize DNA in the oral cavity and rumen of sheep [J]. Br. J. Nutr., 2003, 89: 159-166.
- [16] Deaville E R, Maddison B C. Detection of transgenic and endogenous plant DNA fragments in the blood, tissues, and digesta of broilers[J]. J. Agric. Food Chem., 2005, 53(26): 10268-10275.
- [17] Wiedemann S, Lutz B, Kurtz H, et al.. In situ studies on the time-dependent degradation of recombinant core DNA and protein in the bovine rumen[J]. J. Anim. Sci., 2006, 84: 135-144.
- [18] Netherwood T, Martín-Ortíz S M, O'Donnell A G, et al.. Assessing the survival of transgenic plant DNA in the human gastrointestinal tract[J]. Nat. Biotechnol., 2004, 22(2): 204-209.
- [19] Einspanier R, Klotz A, Kraft J, et al.. The fate of forage DNA in farm animals: a collaborative case-study investigating cattle and chicken fed recombinant plant material [J]. Eur. Food Res. Technol., 2001, 212: 129-134.
- [20] Flint H J. Molecular genetics of obligate anaerobes from the rumen[J]. FEMS Microbiol. Lett., 1994, 121: 259-268.
- [21] Pennisi E. Borrowing genes from microbial neighbors[J]. Science, 1999, 284(5418): 1306.
- [22] Eede G, Aarts H, Buhk H J, et al.. The relevance of gene transfer to the safety of food and feed derived from genetically modified (GM) plants[J]. Food Chem. Toxicol., 2004, 42: 1127-1156.
- [23] WHO. Health aspects of marker genes in genetically modified plants[R]. Geneva: World Health Organization, 1993.
- [24] U K GM science review panel. GM science review first report: an open review of the science relevant to GM crops and food based on interests and concerns of the public [R]. <http://www.gmsciencedebate.org.uk/report/pdf/gmsci-report1-full.pdf>, 2003.
- [25] Mercer D K, Scott K P, Melville C M, et al.. Transformation of an oral bacterium via chromosomal integration of free DNA in the presence of human saliva [J]. FEMS Microbiol. Lett., 2001, 200: 163-167.
- [26] Duggan P S, Chambers P A, Heritage J, et al.. Survival of free DNA encoding antibiotic resistance from transgenic maize and the transformation activity of DNA in silage effluent, ovine saliva and ovine rumen fluid [J]. FEMS Microbiol. Lett., 2000, 191: 71-77.
- [27] Cvitkovitch D G. Genetic competence and transformation in oral streptococci [J]. Crit. Rev. Oral. Biol. Med., 2001, 12(3): 217-243.
- [28] Li Y H, Lau P C Y, Lee J H, et al.. Natural genetic transformation of *Streptococcus mutans* growing in biofilms [J]. J. Bacteriol., 2001, 183: 897-908.
- [29] Me jean V, Claverys J P. DNA processing during entry in transformation of *Streptococcus pneumoniae* [J]. J. Biol. Chem., 1993, 268: 5594-5599.
- [30] 赵志辉, 杨立桃, 艾晓杰, 等. 转 *codA* 基因的耐盐碱水稻对大鼠生理代谢的影响及外源基因的水平转移 [J]. 农业生物技术学报, 2005, 13(3): 341-346.
- [31] 刘建文, 施用晖, 乐国伟, 等. 外源质粒 DNA 经小鼠胃肠道的吸收代谢动力学 [J]. 世界华人消化杂志, 2004, 12(5): 1108-1113.
- [32] Aeschbacher K, Messikommer R, Meile L, et al.. Bt176 corn in poultry nutrition: physiological characteristics and fate of recombinant plant DNA in chickens [J]. Poult. Sci., 2005, 84(3): 385-394.
- [33] Agodi A, Barchitta M, Grillo A, et al.. Detection of genetically modified DNA sequences in milk from the Italian market [J]. Int. J. Hyg. Environ. Health, 2006, 209(1): 81-88.
- [34] Palka-Santini M, Schwarz-Herzke B, Hosel M, et al.. The gastrointestinal tract as the portal of entry for foreign macromolecules: fate of DNA and proteins [J]. Mol. Gen. Genomics, 2003, 270: 201-215.
- [35] Sanden M, Berntssen M H G, Hemre G I. Intracellular localization of dietary and naked DNA in intestinal tissue of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. using in situ hybridization [J]. Eur. Food Res. Technol., 2007, 225: 533-543.