

# 激励引领创新 共建全国科技创新中心

## ——“2015年北京市科学技术奖”获奖项目巡礼(四)

编者按 两年前,习近平总书记明确提出科技创新中心是北京“四个中心”的战略定位之一,十八届五中全会也把创新发展作为“五大发展理念”之首。这些新思想、新论断、新要求为首都工作指明了方向。两年来,北京在科技创新的道路上

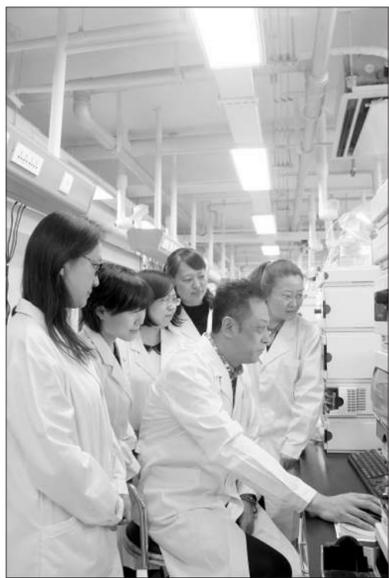
上扬帆启航,硕果累累,这些成果充分反映了北京当前科技工作的重点和特点,展示了首都科技创新的水平与特色,体现了在全国科技创新中心建设过程中的支撑引领、示范带动和辐射功能。创新要走向尖端前沿,也要贴近百姓,为民众

用。如今,首都科技工作者的科技创新成果也在不断地改变着我们的生活。为了让我们吃上更放心的食品,科研人员从食物的源头开始,筑起餐桌上的安全防护网,建立并完善了食源性致病微生物检测技术及预警监管技术体系。为了让广大消

费者身体强健,为大家提供更加安全、蛋白质含量高的牛奶,科研人员创建了具有自主知识产权的中国荷斯坦牛基因组选择技术平台,提升了我国奶牛遗传评估的整体技术水平。本期,我们将向您展示其中的两项优秀获奖成果。

# 他们用科技筑起一道食品安全防护网

□ 本报记者 申明



课题研发人员在进行业务研讨

疫部门的执法力度和监管水平。近年来,北京出入境检验检疫局技术中心建立了由快速检验检疫技术、溯源检测技术、预警监管技术组成的“检管一体”式食源性致病微生物检测技术及预警监管技术体系。

该课题实现了食源性致病微生物的高通量快速检测,比国家标准方法大幅度缩短检测时间;建立了食源性致病微生物分子分型数据库,实现了食源性致病微生物的溯源;实现了从预警体系到监管体系的全息化管理,最大限度的缩短了从预警到监管的时间,提高了有限资源的使用效率。值得一提的是,该课题荣获2015年度北京市科学技术奖一等奖。

### 从7天提高到3小时的快检技术

2006年,美国暴发“毒菠菜”事件,几十人因食用被大肠杆菌污染的菠菜中毒身亡;2010年,美国连续发生沙门氏杆菌感染甜瓜事件,并造成群发性食源性疾病;2011年,德国、瑞典等国因豆芽菜感染大肠杆菌造成几百人中毒;2014年,丹麦多人因食用含有李斯特菌的香肠中毒身亡。

这些触目惊心的食品安全事件,罪魁祸首就是微生物污染。而在我国,由微生物引起的食源性疾病的案例,也不在少数。

据悉,世界卫生组织发布的食源性疾病控制指南中指出,由生物因素构成的食源性致病因子占到84%以上,其中包括17种病菌、18种寄生虫和7种生物毒素。由此可见,控制食品中微生物风险因素,对保障食品安全有多么的重要。

然而,这些微生物个体小,繁殖快,数量多,因此在自然界容易散布并且分布很广。上至天空,下至土壤、江河、湖泊以及动植物体内外,无不充满着各种各样的微生物。

“微生物包括细菌、真菌等,有些微生物还是致病菌,致病微生物是食源性疾病和食品安全的祸首。对人体的危害很大,因此食品中微生物的检测非常重要。但每天面对海量的舶来品,出入境检验检疫人员是如何保证食品安全的呢?万一出了问题,又该如何追根溯源找到污染的源头呢?”

为使消费者能够吃到安全、放心的食品,加快进出口商品查验速度,保证鲜活食品的货架期;提高检验检疫

度和高特异性的快速检测技术。”

对此,北京出入境检验检疫局技术中心的科研团队首次提出了食源性病原微生物分子马达检测理论。

听着就很“高冷”的分子马达,又名分子发动机,是分布于细胞内部或细胞表面的一类蛋白质,它们的构象会随着与ATP和ADP的交替结合而改变,ATP水解的能量转化为机械能,引起马达形变,或者是它和与其结合的分子产生移动。

张捷对记者大致介绍了其中的原理:传统的病原菌检测方法要对每个检验项目进行非选择性增殖、选择性增殖、分离、筛选和鉴定等步骤,如霍乱弧菌、大肠溶血弧菌等,一般要好几天才能出具检测报告,严重影响货物的品质和货架寿命。

如果采用常规检测方法,需要对每个项目进行单独检验,费时又费力。而且由于进出口食品的大量增加,对有效的快速检测方法的需要很迫切。“而食源性病原微生物分子马达检测技术符合这个要求。”张捷说。

科研团队利用荧光探针DHPE标记的载体Chromatophore上的FOF1-ATPase分子马达生物传感器。这个生物传感器的设计基于其他催化ATP合成过程中伴随着H+的跨膜转运。首先在载体Chromatophore膜外标上对pH敏感的荧光探针DHPE用于表征ATP合成引起的质子转运,然后在ATP酶的ε亚基连上ε亚基抗体-生物素-链霉素-生物素-核酸探针;将待测样品和阴性对照分别与生物传感器结合的同时启动ATP合成,20—30分钟后比较其荧光强度的差别,从而实现对待测样品的食源性病原菌的快速检测。

该技术通过将食源性致病微生物特异性基因探针、毒力基因探针与生物复合酶结合等途径,发明了基于核酸、荧光探针、生物信号转导的生物传感检测技术,可实现食源性致病微生物靶向检测,达到了快速检测的目的,大幅度缩短了分析时间。解决了传统检测方法检测周期长,容易漏检的技术难题。

“以前我们检验周期大约需要3至7天,现在3小时就搞定了。”张捷说。

### 追根溯源找到致病源头

在今天的国际贸易中,由微生物引起的大规模的

食物中毒事件并不鲜见。这自然会引贸易纠纷,双方会争论到底是生产方,还是运输方、销售方的责任。

2012年,德国学生中出现肠胃病毒感染,怀疑可能是食用了来自中国冷冻草莓所致。国家质检总局对此高度重视,立即要求检验检疫机构对相关生产企业进行调查。

随后,检验检疫机构封存了这家企业的所有库存产品,并采取送实验室进行病毒检测,并未发现诸如病毒。最终,根据风险排查和实验室检测分析,无科学证据表明,引发急性肠胃炎的冷冻草莓是在出口前被诺如病毒感染。

“微生物食品安全问题的发生,可能存在于食品原料、生产加工、储藏运输和市场销售等诸多环节,如何准确定位,找到问题发生的本源,是准确消除食源性疾病的的前提。”北京检验检疫局技术中心副研究员张惠媛说。

据了解,相较于传统的血清分型、噬菌体分型、药敏分型等微生物表型分型方法的不稳定性,分子分型研究的是病原体的遗传特征,具有一定的稳定性和特异性,可以作为病原菌鉴定、溯源等研究不可或缺的依据。而在分子分型中,脉冲场凝胶电泳法(PFGE)又以其分型力强、分辨率高、重复性好、易于标准化的特点,成为最常用和认可的方法,是分子分型的“金标准”。

“简单的说,不同的地方的微生物条带是不同的。”张惠媛告诉记者,来源不同的同种细菌,由于基因序列存在的差异,导致其限制性内切酶的酶切位点的不同,酶切后片段的数量和分子量大小均有所不同,通过PFGE电泳的作用将其分开,比较PFGE图谱的差异,就能直接或间接反映病原体变异分型的本质即DNA序列的改变,从而做到微观变化的宏观显示。

科研团队通过比较和分析PFGE、MLST、MLVA、基因芯片、RAPD、AFLP、RFLP、质粒图谱分析等8种常见病原菌分子分型方法,建立病原菌分子分型系统的评价标准,并建立了进出境食源性病原菌单核增生李斯特菌等9种常见食源性致病菌PFGE分型的标准操作程序。

如今,北京出入境检验检疫局技术中心初步建立了病原菌分子分型数据库,确立了不同国家或地区、不同种类产品中分离的食源性致病菌菌株的遗传背景关系。

“我们利用计算机信息技术,结合分子分型数据溯

源的质量控制要求,建立了适用于出入境检验检疫系统食源性病原菌分子分型数据交换平台,解决了病原菌生物溯源、标准化操作、信息共享等问题,从而为监管提供强有力的技术支撑。”张惠媛说。

### 建一张食品安全风险预警网

对于食品安全而言,先进的检验技术固然重要,但搭建一个食品安全风险预警和监管的网络也必不可少。

课题组调研发现,大多数发展中国家的食品安全风险预警和监管都存在预警不及时、立法零散、多元管辖,以及实施过程中的混乱无序、资源浪费等问题。而我国作为一个人口众多的发展中国家,食品安全问题在社会经济中的重要性就尤为突出。

“根据相关国际标准、规则,加强对食品风险分析机制、要求、内容、模式和方法研究,制定适合本国的风险预警指标体系和监管体系,改善我国食品安全监管的效果,提高有限资源的使用效率,是保护消费者和促进国民经济发展的当务之急。”北京出入境检验检疫局技术中心主任张锡全说。

针对我国在食品安全风险预警上存在的漏洞,课题组基于检验检疫进出口食品检测数据,建立出一套针对进出口食品安全行之有效的数学模型,并将案例数据计算结果引入食品安全监管体系。

这样不仅可以基于食品安全指标体系评估模型计算出某食品质量安全度在检验检疫一线及时预警,而且实现了从预警体系到监管体系的全程无纸化,可以最大限度地缩短从预警到监管的时间,提高有限资源的使用效率。

课题组建立了基于基础项目指标、食品合格状态指标、食品整体状态指标3个层次的进出口食品安全风险预警指标体系,并研发了“进出口食品安全预警系统”和“进出口食品化妆品标签备案管理系统”两个应用软件。

“这两个软件已应用在北京地区进出口食品监管体系中,实现了从预警到监管的实践,提高了有限资源的使用效率。”张锡全说。

如今,在北京乃至全国的出入境检验检疫系统,课题组开发的生物传感快检技术、PFGE分子分型溯源及风险预警和监管技术为我国筑起一道食品防护网。

据了解,快检技术及产品,陆续在我国出入境检验检疫、农业、工商、质检和卫生等50多个食品检测机构及70多家企业得到应用,出口至10多个国家或地区。

“这些成果广泛应用于我国检验检疫、北京奥运会、北京市市场流通监管以及北京市重大活动食品安全保障,大力促进了我国尤其是北京应对食品安全及公共卫生安全水平提升。”张锡全说。

# 他们用基因组技术为中国奶牛“挤奶”

□ 本报记者 申明

奶业是农业乃至国民经济的重要组成部分。

新中国成立以来,我国奶业得到了快速发展,尤其是培育了我国自己的奶牛品种——中国荷斯坦牛,也就是我们俗称的“黑白花牛”。在目前我国饲养的近1400万头奶牛中,80%以上是中国荷斯坦牛。

然而,与国外奶业发达国家相比,我国的奶牛生产水平有较大差距。据中国奶业协会提供的数据显示,2010年我国奶牛平均单产为4500公斤,而美国则为9500公斤。

牛奶产量低下的原因就在于,我国的奶牛在生产性能和群体遗传水平方面仍有较大差距,且群体遗传改良效率不高,自主选育优秀公牛的能力不强。

针对上述问题,中国农业大学等单位联合成立课题攻关组,在863计划、农业部948项目和科技部支撑计划等项目资助下,重点开展了中国荷斯坦牛基因组选择技术平台研究,旨在为我国实施奶牛基因组选择提供技术支撑。

经过几年的不断研究探索,项目团队最终创建了具有自主知识产权的中国荷斯坦牛基因组选择技术平台,提升了我国奶牛遗传评估的整体技术水平;发掘了一批奶牛重要经济性状功能基因,为提高基因组选择准确性提供了重要基因信息;研发了奶牛遗传缺陷和亲子关系鉴定技术,建立了我国荷斯坦公牛遗传缺陷及亲子关系鉴定体系;创建了中国荷斯坦牛基因组选择分子育种技术体系,成为我国荷斯坦青年公牛遗传评估的唯一方法。该项目荣获2015年北京市科学技术奖一等奖。

### 必须要有中国的奶牛基因组选择技术平台

“其实,我国高产奶牛群体,诸如北京、上海等地的牛群,生产水平已经接近世界先进水平。”课题组负责人之一,中国农业大学教授孙东晓告诉记者,“但与奶业发达国家相比,国内奶牛群体整体水平还是有较大差距。”

奶牛的生理特性决定了奶牛生产和育种体系与其它动物物种有很大区别,首先是母牛繁殖率很低,平均约12个月产一胎,每胎一头,且一半的可能性是公的;

第二,产奶性状是限性性状,只在母牛中表现;第三,由于人工授精技术的全面应用,一头公牛可与数千乃至数万头母牛交配,所以优秀公牛的选育是奶牛群体遗传改良的核心,但公牛本身不表现产奶性能,在传统育种中只能通过其后代母牛的产奶性能来准确评价公牛的遗传优劣性(即后裔测定),导致公牛的世代间隔很长(通常为6年左右);最后,为了保证母牛群体的扩张更新,就无法对母牛进行严格的选择和淘汰。

由于奶牛育种的以上特点,“奶牛没有必要,也不可能像生猪家禽那样通过不断培育新品种或建立杂交配套体系来实现遗传改良,奶牛最主要的育种手段,还是实施品种内的群体遗传改良。”孙东晓说,“最重要就是系统地实施牛群遗传改良技术,充分使用优秀公牛,全面改良牛群。”

国际业界公认,培育优秀公牛对奶牛遗传改良的贡献率达75%。长期以来,我国的种公牛主要依赖从国外引进,传统育种方法周期长,效率低,难以改变落后状况。

不过传统的奶牛育种体系以公牛后裔测定为核心,虽然成效显著,但世代间隔长、育种成本高。进入21世纪以来,基于基因组高密度标记信息的基因组选择技术(简称GS)成为动物育种领域的研究热点。利用该技术,可实现青年公牛早期准确选择,而不必通过后裔测定,从而大幅度缩短世代间隔,加快群体遗传进展,并显著降低育种成本。

自2009年以来,世界主要奶业发达国家,包括美国、加拿大、澳大利亚等国,陆续将基因组选择技术全面应用于奶牛育种,给奶牛育种带来了革命性的变化。

“这项新的育种技术正使全球奶牛育种发生重大变革,几乎所有奶业发达国家都已应用,加快了其遗传改良速度。”孙东晓说。

基因组选择分子育种技术为我国奶牛育种赶上国际水平提供了机遇。我国必须自己研发中国的基因组选择技术平台,完善群体遗传改良技术体系。”孙东晓告诉记者,“在这世界奶牛育种技术变革时代,应该抓住机遇,尽快研发我国奶牛基因组选择分子育种技术体系,增强自主培育优秀公牛的能力,提高群体遗传改良的效率,缩小与发达国家的差距,实现我国奶业的跨越式发展。”

### 创新! 用母牛构建基因组参考群

一定规模的参考群体是实施基因组选择的前提。与国外用验证公牛构建参考群不同,项目团队提出了用母牛构建参考群的新思路。

据了解,为了充分发挥优秀公牛在群体遗传改良中的作用,奶牛发达国家一般选用优秀验证公牛的冻精,在牛群中实施以获得优秀种公牛后代为目的的“计划选配”;通过后裔测定选择优秀公牛,在育种群和生产群中全面地使用“验证公牛”,使母牛群的遗传水平不断提高。

“用母牛构建参考群是因为我国具有足够遗传评估准确性的验证公牛数量太少,不足以构建参考群。如果完全照搬国外的做法,则在我国奶牛中无法应用基因组选择技术。”孙东晓说。

项目团队从2006年开始组建中国荷斯坦牛基因组选择参考群体,经过持续扩充,建立了由6000头母牛以及400头验证公牛组成的参考群。

“所有这些牛均具有完整清晰的系谱、质量较高的表型记录和高密度SNP芯片基因型数据。”孙东晓说,“大规模、高质量的参考群为开展基因组选择奠定了基础。”

经过多年的研究,项目团队掌握了基因组选择关键技术,构建了我国唯一的奶牛基因组选择参考群,对每头牛测定了高密度SNP标记基因型和产奶、健康、体型、繁殖等34个性状的表型。

项目团队提出了基因组育种估计的一系列新方法(TA-BLUP、BayesTA、BayesTB和BayesTC),显著提高了其估计准确性。

据了解,基因组育种估计的主流方法是GBLUP和贝叶斯方法,它们在计算速度和估计准确性方面各有优势。基于此,项目团队提出了GBLUP的改进方法TA-BLUP。模拟及真实数据分析都表明,TA-BLUP方法的准确性在各种情况下均高于GBLUP方法。同时,与贝叶斯方法相比,有效地降低了计算时间,适用于大规模高频率遗传评估的需求。

“研究结果表明,这样的参考群是可行的,所获得的选择准确性与大部分国家的选择准确性相当。”孙东晓说,“这些方法的创新为高水平的基因组选择提供了

技术支撑。”

据孙东晓介绍,2010年,在波兰召开的QTL-MAS国际会议上,各国研究人员用相同数据对不同方法进行比较,中国团队用新方法获得第一的好成绩,当时就引起了震动。

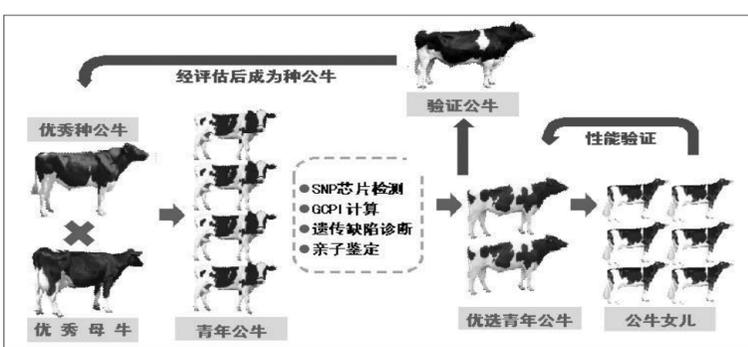
“长期的实践证明用母牛不仅可行,而且有利于降低估计偏差和扩大参考群规模。”孙东晓自豪地说,“如今,国外的一些国家也借鉴我们的思路,开始用母牛构建参考群或在原公牛群体中加入母牛。”

同时,为降低基因组选择的育种成本,项目团队提出了低密度芯片的设计和实施方案及基因型填充策略,丰富和完善了基因组选择的理论和方法。

此外,结合我国奶牛育种实际情况,首次提出了用于中国荷斯坦牛综合性状评价的基因组性能指数GCPI,用于青年公牛的基因组遗传评估,经此评估选出的优秀青年公牛可直接作为种公牛使用。

### 我国是最早建立基因组选择技术体系的国家之一

“项目的实施使我国成为国际上最早建立基因组选择技术体系的国家之一,并达到发达国家水平。”孙东晓说。



中国荷斯坦牛基因组选择分子育种优化实施方案