评述

中国知名大学及科研院所专栏 中国农业科学院植物保护研究所专辑

Bt 杀虫基因研究现状与趋势

束长龙, 张凤娇, 黄颖, 李艳秋, 张杰*

中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193

* 联系人, E-mail: jzhang@ippcaas.cn

收稿日期: 2016-01-08; 接受日期: 2016-03-17; 网络版发表日期: 2016-05-25

国家自然科学基金(批准号: 31301731)和国家转基因生物新品种培育重大专项(批准号: 2014ZX08009-003-001-004)资助

摘要 Bt (*Bacillus thuringiensis*) 是一种革兰氏阳性昆虫病原菌, 对哺乳动物等非靶标生物安全无害, *cry* 基因、*cyt* 基因、*vip* 基因编码的杀虫蛋白是其主要活性物质。目前, Bt 除了用作生物杀虫剂外, 表达 Bt 杀虫蛋白的转基因抗虫植物也已经被广泛用于害虫的防治, Bt 在应用方面取得的巨大成功, 极大地促进了该领域的研究发展。本文对 Bt 杀虫基因克隆技术、Cry 蛋白结构多样性、杀虫基因命名与专利保护、研究论文发表等现状与趋势进行分析, 发现我国的 Bt 基础研究和应用基础研究已经与国际接轨, 但是产业化明显滞后, 企业投入偏少。从发展趋势来看, 我国在该领域仍然有较大的发展空间, 参考美国转基因作物产业化与企业创新产出的时序关系, 随着我国转基因作物向产业化推进, 企业的研究与创新将成为一个新的增长点。

关键词 Bt, 基因克隆, Cry 蛋白结构多样性, 专利保护, 论文发表

据国际农业生物技术应用服务组织(International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications, ISAAA)统计资料显示, 2014 年, 转基因作物商业化的第 19 年, 有 28 个国家的 1800 万农民种植了 1.81 亿公顷(4.48 亿英亩)转基因作物。2014 年, 转基因作物种子销售额约为 157 亿美元, 这些种子最终产品收入为转基因种子单独价值的 10 倍以上。目前种植的转基因作物中, 超过 40% 是表达了 Bt 杀虫蛋白的抗虫作物^[1]。

Bt 是一种革兰氏阳性昆虫病原菌, 在形成芽胞的同时, 可以产生多种形态的伴胞晶体(图 1), 随着母细胞的裂解, 与芽胞一起释放到环境中去。研究发现, Bt 伴胞晶体主要由杀虫晶体蛋白组成, 由 *cry* 基

因和 *cyt* 基因编码, 是其主要活性物质, 对靶标害虫具有高度特异的杀虫活性。随着研究的深入, 另一重要杀虫活性物质, 营养期杀虫蛋白(Vegetative insecticidal proteins, Vips)也被发现, Vips 同样也具有高度杀虫特异性。这些杀虫蛋白对哺乳动物等非靶标生物安全无害, 因此, 目前 Bt 除了用作生物杀虫剂外, 表达 Bt 杀虫蛋白的转基因抗虫植物也已经被广泛用于害虫的防治^[2]。

Bt 杀虫基因巨大的市场价值引起人们的重视, 国内外研究机构都积极参与到 Bt 杀虫基因资源发掘中来, 进行新型 Bt 杀虫基因发掘和相关技术开发, 并利用专利将这些基因和技术转化为自己独占的知识产权, 以期在未来的竞争中掌控主动权。本文重点

引用格式: 束长龙, 张凤娇, 黄颖, 等. Bt 杀虫基因研究现状与趋势. 中国科学: 生命科学, 2016, 46: 548-555

Shu C L, Zhang F J, Huang Y, et al. Current status and research trends of Bt insecticidal gene. Sci Sin Vitae, 2016, 46: 548-555, doi: 10.1360/N052016-00092

图 1 Bt 芽孢与伴胞晶体

分析了目前 Bt 杀虫蛋白基因克隆命名、专利保护等情况, 并对该领域基础研究相关研究论文的发表情况进行了统计分析, 这些分析数据对我国相关领域研究人员在转基因技术研发、产业化应用过程中, 规避知识产权陷阱, 同时也为国家相关领域课题立项提供决策参考。

1 Bt 杀虫基因克隆技术

自从 Bt 杀虫蛋白的价值被证明以来, Bt 杀虫基因的克隆一直是国内外实验室关注的热点, 几乎每种基因检测克隆技术在 Bt 杀虫基因的克隆中都得到了应用。这些技术按照获得基因序列的策略, 目前可以分为两种技术类型。第一种是传统的分子克隆技术, 即先对含有目标杀虫基因的 DNA 片段进行克隆, 进一步通过对克隆化片段进行测序分析获得 Bt 杀虫基因序列。第二种是近年来发展起来的, 基于高通量测序技术和生物信息学技术的杀虫基因发掘策略, 该策略是利用测序技术先获得 Bt 基因组的序列, 再进一步利用生物信息学技术对所有编码基因进行注释、筛选, 获得 Bt 基因组中杀虫基因序列, 再进一步进行基因克隆与功能研究。

由于分子克隆技术在 Bt 杀虫基因克隆领域应用历史较长, 目前 Bt 杀虫基因克隆相关报道多数集中于传统的分子克隆技术。传统的 Bt 杀虫基因分子克隆技术在设计上有两个思路: (i) 先建立 DNA 文库, 获得 Bt 全部或部分基因组 DNA 片段的克隆, 进一步

通过对克隆进行筛选, 获得目标杀虫基因。在这个策略中 DNA 杂交、PCR 扩增, 以及 DNA 文库表达产物分析都可以用作 DNA 文库筛选手段^[3-5]。这种策略可以发现全新的杀虫蛋白, 但是由于 DNA 文库构建与筛选程序复杂、工作量大, 近年来逐渐被淘汰; (ii) 先通过 Bt 杀虫基因保守区域引物 PCR 等技术获得杀虫基因部分片段, 结合限制性片段长度多态性 (restriction fragment length polymorphism, RFLP)^[6]、高分辨溶解分析 (high resolution melting analysis, HRMA)^[7]、二代测序技术 (next generation sequencing, NGS)^[8,9] 等研究技术, 分析待测菌株中含有杀虫基因的新颖性, 并筛选出含有新基因的菌株, 进一步利用染色体步移的方法获得完整的基因克隆, 如果基因全长引物比较保守, 则直接利用 PCR 获得基因的片段并进行克隆。这种策略依赖于基因的保守引物扩增, 尽管在新基因的发现上会有一些缺陷, 但因其操作简便效率高、价格低廉的优点使其得以广泛应用。

基于基因组测序分析基因克隆技术近年来也得到广泛应用^[10]。这种方法具有较高的效率与可靠性, 一方面通过基因组测序拼接, 多数情况下可以获得杀虫基因的完整序列; 另一方面 BLAST, HMMER 等成熟的序列比对方法可以高效敏感地识别出 Bt 杀虫基因。尽管目前基因组测序价格还是相对比较昂贵, 二代测序技术较短的 reads 对含有多个同源杀虫基因样品的拼接效果不太理想, 但是随着高通量测序技术的发展、价格的降低, 这种策略将在 Bt 杀虫基因克隆中发挥更为重要的作用, 目前国外农业生物技术企业主要采用该策略进行杀虫基因挖掘。

2 Bt 杀虫蛋白的分类与命名

截至 2015 年 9 月, 已经有 770 个 *cry* 基因、38 个 *cyt* 基因、138 个 *vip* 基因被发现和命名。现行的命名规则是由 Neil Crickmore 博士 1998 提出的^[11], 依据以杀虫蛋白编码的氨基酸序列相似性关系进行命名 (http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/)。按照目前的命名规则, 所有毒素都可以获得一个包含 4 个等级的命名。每个蛋白命名都有两个部分组成, 第一部分是蛋白类型的缩写, 如 Cry (crystal delta-endotoxin), Cyt (cytolytic delta-endotoxin), Vip 等; 第二个部分是由数字、大写字母、小写字母、数字组成的代表杀虫蛋白序列特征的 4 个等级的编号,

如 Cry 蛋白 Cry1Ab1. 第一等级的杀虫蛋白(如 Cry1, Cry2, Cry3 等)之间氨基酸序列相似性都小于 45%, 例如, 最新命名的第一等级的 Cry 蛋白是 Cry74Aa1, 其与之前命名的所有 Cry 杀虫蛋白氨基酸序列相似性都小于 45%. 类似的, 78%和 95%的氨基酸一致性分别是第二、第三等级的边界. 如果现在发现一个 Cry 杀虫蛋白, 氨基酸序列一致性与目前所有已命名蛋白相比都小于 95%, 该蛋白属于一个新的模式蛋白. 如果与某已命名蛋白相比, 序列一致性大于 95%, 该蛋白属于同一个模式蛋白家族, 是该模式蛋白家族的一个第四等级的新蛋白.

目前 Cry 蛋白包含 Cry1~Cry74 共 74 类, 302 个模式蛋白; Cyt 蛋白包含 Cyt1~Cyt3 共 3 类, 11 个模式蛋白; Vip 蛋白包含 Vip1~Vip4 共 4 类, 31 模式蛋白. 按照发现模式蛋白的实验室进行统计, 有 20 个国家的实验室发现过新的模式蛋白, 其中美国实验室发现命名最多, 发现命名了 135 个; 中国紧随其后, 中国科学家发现命名的模式蛋白有 91 个(图 2). 国内有 21 个单位涉及杀虫蛋白基因克隆研究, 其中克隆命名杀虫基因超过 20 个的有中国农业科学院植物保护

研究所、四川农业大学、华中农业大学、河北农业大学、福建农业大学 5 个单位, 其中中国农业科学院植物保护研究所命名的杀虫基因有 167 个, 占国内克隆基因的 36%(图 3). 在这几个主要单位带动下, 近年来中国在 Bt 杀虫基因资源挖掘方面发展速度较快, 在 2010~2014 年, 国内研究机构命名杀虫基因数量为 213 个, 已经超过同期国外的总和(171 个)(图 4).

图 2 不同国家发现模式蛋白数量

图 3 中国发现命名杀虫蛋白的情况

图 4 国内外 Bt 杀虫基因克隆数量比较(网络版彩图)

3 Bt Cry 蛋白的结构

Bt Cry 蛋白是 Bt 的主要活性物质,也是分布最为广泛的 Bt 杀虫蛋白,占目前命名杀虫蛋白的 81%,本文对目前发现和命名的 Cry 蛋白进行了结构分析与比较。首先,利用 CDART(conserved domain architecture retrieval tool)^[12]对 Cry 蛋白进行分析,结果显示,除 Cry6, Cry37, Cry55 没找到对应保守结构外,其他大部分成员都找到了同源蛋白结构,分别属于 6 个不同的蛋白结构家族。此外, Cry22 类蛋白含有一个豆科凝集素类似的结构域。进一步对 Cry6, Cry22, Cry37, Cry55 利用 SWISS-MODEL 进行同源建模。结果表明, Cry6, Cry22 蛋白可以获得模拟结构,而 Cry37, Cry55 不能建立完整结构。进一步比较了 Cry37, Cry55 蛋白获得的部分结构信息,可以判断

两个蛋白结构类型不同。统计上述结果,目前命名的 Bt Cry 蛋白分为 9 个不同的结构类型,图 5 显示了 74 个第一等级模式蛋白的氨基酸数量及其结构类型分布情况(每个类型用不同颜色标注)。图 6 显示了已经发表的 5 种 Cry 蛋白结构类型(图 6A~E)以及同源建模获得的 Cry6(图 6F), Cry22(图 6G)的蛋白结构。

按照蛋白氨基酸数量可以把 Bt Cry 蛋白分成两类,即大于 600 氨基酸的高分子量蛋白和小于 600 氨基酸的低分子量蛋白。氨基酸数量大于 600 的有 57 个 Bt Cry 蛋白家族。其中有 56 个杀虫蛋白家族属于 3D(three domain, 图 6A)杀虫蛋白^[13]。目前商业化应用的杀虫蛋白大部分属于该结构类型,如 Cry1Ab, Cry1Ac 等蛋白。氨基酸数量大于 600 的 Bt Cry 蛋白家族中 Cry22 结构比较独特,如图 6G 所示,是一个单独的结构类型,与金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)表面暴露富含丝氨酸重复糖蛋白 SraP^[14]有一定相似性。氨基酸数量小于 600 的有 17 个杀虫蛋白家族,其中以 Cry51^[15]为代表的 9 个 Bt Cry 蛋白家族结构比较相似,结构如图 6E 所示,是成员第二多的结构类型。Cry34(图 6B), Cry35(图 6C)是二元毒素,需要两个蛋白一起实现杀虫活性, Cry34, Cry35 分别代表了两个不同的结构类型^[16]。Cry46(图 6D)^[17]的结构与 Cry35, Cry51 蛋白家族在形态上有一定的相似性,为 β 折叠片构成的狭长的圆桶,但是在局部序列及结构上有较大差别,也是一个单独的结构类型。Cry6 是一类对线虫具有杀虫活性的小蛋白,目前尚未解析结构,通过 SWISS-MODEL 对其建模发现,其三维结构是由多个 α 螺旋构成的一个桶状结构(图 6F),与蜡样芽孢杆菌溶血素 BL 的 b 亚单位^[17]有

图 5 不同模式蛋白的氨基酸数量及其结构分类(网络版彩图)

图6 Bt Cry 蛋白结构

一定相似性,与目前解析的其他 Cry 蛋白结构类型也不相同。

4 杀虫基因专利保护现状

申请专利是专利权人对发明创造享有的专利权的方式,专利权是国家依法在一定时期内授予发明创造者或者其权利继受者独占使用其发明创造的权利。据世界知识产权组织(World Intellectual Property Organization, WIPO)的有关统计资料表明,全世界每年 90%~95%的发明创造成果都可以在专利文献中查到,其中约有 70%的发明成果从未在其他非专利文献上发表过,对受专利保护的 Bt 杀虫基因进行分析可以更好地掌握该领域的发展动态。为了掌握国外主要国家地区在 Bt 杀虫蛋白专利保护的情况,本文对 GenBank PATAA 数据库氨基酸序列进行了比对分析。GenBank PATAA 收集了美国专利商标局(The United States Patent and Trademark Office, USPTO)以及欧洲、日本专利机构的受专利保护的蛋白质序列。通过对 GenBank PATAA 数据库氨基酸序列注释分析,结果发现与 Bt 杀虫蛋白相关的氨基酸序列有 1592 条,比 2011 年统计数据增加了 1 倍^[18]。将这些 Bt 杀虫蛋白相关的氨基酸序列与目前已经命名的 Bt 模式杀虫蛋白相比,有 496 条序列与已经命名的模式蛋白的序列一致性小于 95%,占有专利保护 Bt 杀虫蛋白序列的 31%,这些新基因没有在任何正式的学术刊物上发表,而只是以专利形式出现,这些结果

说明国外相关研究机构和企业对杀虫基因命名与发表文章已经不太关注,而更加关注如何保护和应用新基因。

本文进一步对各年度提交专利保护机构的序列进行统计,由于每条蛋白序列在不同同族专利中被涉及,而且单个专利往往会涉及多条不同的蛋白序列,难以用蛋白序列数量、专利数量对专利保护情况进行评价。因此,本文将蛋白序列被专利涉及次数累加,统计为数量频次。统计结果显示,每年提交专利保护的 Bt 杀虫蛋白数量一直处于增长状态,特别是近 5 年来,提交专利保护的 Bt 蛋白数量频次同样比上一个 5 年增长了 1 倍(图 7)。面对如此迅猛的增长趋势,本文进一步对专利权人进行了统计分析,除国内零星几个专利外,专利权人主要是欧美的农业生物技术公司,其中 Pioneer, Monsanto, Athenix, Dow, Mycogen, Syngenta, Bayer 7 个公司的专利保护频次占到了总数的 95%,而 Pioneer 最多,占到了 33%(图 8)。这些数据显示,国外在 Bt 杀虫基因发掘和应用的主体全部是大型农业生物技术跨国公司,并且在该领域研发的投入呈现逐年加大的趋势。

5 Bt 相关研究论文

本文对 Bt 研究相关学术论文也进行了统计分析,对目前发表的 Bt 相关英文文献进行了梳理统计。利用“*Bacillus thuringiensis*”作为关键词对文献进行检索,获得的文献包括 Bt 杀虫基因资源挖掘与功能研究、Bt 杀虫蛋白结构及杀虫机制研究、害虫对 Bt 菌

图7 Bt 杀虫基因专利保护趋势分析

图 8 Bt 杀虫基因专利权人分析

株、蛋白以及转基因作物的抗药性、转 Bt 基因抗虫植物及安全性评价研究、Bt 基因组及功能基因组研究、Bt 生态学及其与寄主协同进化等多个方面。这些研究仍然是围绕 Bt 含有杀虫基因、在生物杀虫剂及其转基因抗虫领域的应用价值等特点展开，相关数据统计充分反映出 Bt 杀虫蛋白研究与应用的发展趋势。

利用“*Bacillus thuringiensis*”作为关键词从 Web of Science™ Core Collection, CAB Abstract, PubMed 等数据库分别检索获得 9760, 18183, 6961 篇文献，进一步去除了数据库之间重复收录的文献，获得 24386 篇非重复的文献。按年度对这些文献进行统计，发现每年发表的 Bt 相关文献一直处于直线上升的趋势(图 9)，说明 Bt 相关研究仍然是目前国内外研究热点。美国是转基因作物最早研究与商业化种植的国家，相关的研究论文数量在 2009 年之前，一直遥遥领先。通过比较我国与美国在该领域文献发表情况，结果显示，1980 年以来，我国在该领域的研究几乎从零开始，经历了积累和飞跃两个阶段，在 2010~2014 年，论文发表数量接近 1500 篇，而美国的论文数量在 900 篇左右，我国在 Bt 论文数量上面已经超过了美国(图 10)，而且处于上升趋势，而美国在 2010~2014 年论文发表量较前 5 年呈显著下降状态。推测造成这样局面的原因有两个方面，(i) 毋庸置疑，中国的 Bt 研发在国家高技术研究发展计划、国家重点基础研究发展计划、转基因生物新品种培育与产业化重大专项等国家重大项目的支持下，经过 20 余年的积累，从无到有，从弱到强，逐渐赶上并进入世界先进行列；

图 9 发表 Bt 研究论文数量分析

图 10 中美发表 Bt 研究论文数量比较

(ii) 随着转 Bt 基因作物的成功商业化，美国在该领域已经建立了成熟的研发和转化体系，Bt 相关研究和开发已经转至大型农业生物技术企业，这些跨国公司更关注基因的专利，相关研究成果主要通过专利和产品实现，而非学术论文，这个趋势通过快速增长的专利数量得以充分体现，这一变化，应当引起我国相关管理部门和产学研单位的高度关注。

6 总结

由于对农业、林业、卫生害虫高度特异的杀虫活性，Bt 及其杀虫蛋白研究与应用得到人们广泛关注，特别是转基因抗虫植物的开发与应用，极大地推动了该领域的研究。在 Bt 杀虫蛋白克隆方面，多种分子克隆技术都得到应用，近年来基于高通量测序的杀虫基因发掘技术在 Bt 杀虫基因克隆过程中已经占据了重要的位置，成为目前主要的基因克隆技术之一；随着对 Cry 杀虫蛋白结构分析逐渐深入，不断有新的 Cry 杀虫蛋白结构被解析出来，这对进一步揭示新结构 Bt 杀虫蛋白的作用机制有重要作用；

对国际杀虫基因克隆命名与专利保护、Bt 相关研究论文发表等最新情况分析发现,我国在该领域基础研究已经与国际接轨,但是产业化明显滞后,企业投入远远不足。从上述发展趋势来看,我国在该领域仍

然有较大的发展空间,参考美国转基因作物产业化与企业创新产出的时序关系,随着我国转基因作物产业化推进,企业的研究与创新将成为一个新的增长点。

参考文献

- 1 James C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2014, No. 49. The International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA), New York
- 2 Carriere Y, Crickmore N, Tabashnik B E. Optimizing pyramided transgenic Bt crops for sustainable pest management. *Nat Biotechnol*, 2015, 33: 161–168
- 3 Donovan W P, Engleman J T, Donovan J C, et al. Discovery and characterization of Sip1A: a novel secreted protein from *Bacillus thuringiensis* with activity against coleopteran larvae. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2006, 72: 713–719
- 4 Held G A, Bulla L A, J, Ferrari E, et al. Cloning and localization of the lepidopteran protoxin gene of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982, 79: 6065–6069
- 5 Shu C, Yu H, Wang R, et al. Characterization of two novel *cry8* genes from *Bacillus thuringiensis* strain BT185. *Curr Microbiol*, 2009, 58: 389–392
- 6 Shu C, Liu D, Zhou Z, et al. An improved PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) method for the identification of *cry1*-type genes. *Appl Environ Microbiol*, 2013, 79: 6706–6711
- 7 Shu C, Su H, Zhang J, et al. Characterization of *cry9Da4*, *cry9Eb2*, and *cry9Ee1* genes from *Bacillus thuringiensis* strain T03B001. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97: 9705–9713
- 8 陈桂花, 束长龙, 李颖, 等. 基于聚合酶链式反应-高通量测序(PCR-HTS)联用的 *cry2A* 基因鉴定方法. *中国生物防治学报*, 2014, 5: 696–702
- 9 Ye W, Zhu L, Liu Y, et al. Mining new crystal protein genes from *Bacillus thuringiensis* on the basis of mixed plasmid-enriched genome sequencing and a computational pipeline. *Appl Environ Microbiol*, 2012, 78: 4795–4801
- 10 Bi Y, Zhang Y, Shu C, et al. Genomic sequencing identifies novel *Bacillus thuringiensis* Vip1/Vip2 binary and Cry8 toxins that have high toxicity to *Scarabaeoidea* larvae. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015, 99: 753–760
- 11 Crickmore N, Zeigler D R, Feitelson J, et al. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1998, 62: 807–813
- 12 Geer L Y, Domrachev M, Lipman D J, et al. CDART: protein homology by domain architecture. *Genome Res*, 2002, 12: 1619–1623
- 13 Guo S, Ye S, Liu Y, et al. Crystal structure of *Bacillus thuringiensis* Cry8Ea1: an insecticidal toxin toxic to underground pests, the larvae of *Holotrichia parallela*. *J Struct Biol*, 2009, 168: 259–266
- 14 Yang Y, Jiang Y, Zhang J, et al. Structural insights into SraP-mediated *Staphylococcus aureus* adhesion to host cells. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1004169
- 15 Xu C, Chinte U, Chen L, et al. Crystal structure of Cry51Aa1: a potential novel insecticidal aerolysin-type beta-pore-forming toxin from *Bacillus thuringiensis*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 462: 184–189
- 16 Kelker M S, Berry C, Evans S L, et al. Structural and biophysical characterization of *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins Cry34Ab1 and Cry35Ab1. *PLoS One*, 2014, 9: e112555
- 17 Akiba T, Abe Y, Kitada S, et al. Crystal structure of the parasporin-2 *Bacillus thuringiensis* toxin that recognizes cancer cells. *J Mol Biol*, 2009, 386: 121–133
- 18 张杰, 束长龙, 张春鸽. Bt 杀虫基因专利保护现状与趋势. *植物保护*, 2011, 37: 1–6

Current Status and Research Trends of Bt Insecticidal Gene

SHU ChangLong, ZHANG FengJiao, HUANG Ying, LI YanQiu & ZHANG Jie

*State Key Laboratory For Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences,
Beijing 100193, China*

Bt (*Bacillus thuringiensis*) is a gram-positive insect pathogen, safe to non-target organisms, such as mammals. The insecticidal proteins encoded by *cry*, *cyt* and *vip* gene are the main active components of Bt. Currently, besides biopesticides, insect resistant plants expressing Bt insecticidal protein also have been widely used for pest control. The application value of Bt greatly promoted the development of the research in this field. In this paper, we analyzed the current status and research trends of Bt insecticidal protein gene cloning, Cry structural diversity, insecticidal gene naming, patent protection and research papers published in these fields. We found that basic research and applied basic research of Bt in China have been in line with international standards, but the industrialization of Bt is slower and less businesses are invested. Therefore China still has larger development space in this field. According to the timing relationships between industrialization of GM crops and the output of enterprise innovation in the US, it is expected that with the industrialization of China GM crops, research and innovation from enterprises will be in a rapid growth.

Bt, gene cloning, Cry protein structural diversity, patent protection, paper publication

doi: 10.1360/N052016-00092