

# 基因工程研究的二十年

## 20 Years of Genetic Engineering Research

张树庸

(中国生物工程学会副秘书长,研究员 北京 100080)

以美国斯坦福大学医学院科恩(Cohen)为首的研究组在伯格(Berg)工作的基础上,于1973年把大肠杆菌质粒接到细菌抗四环素的基因上,组成一个重组体,再用这个重组体去感染大肠杆菌。结果发现这个重组质粒能复制并能表现出双亲质粒的遗传信息。这是基因工程研究的第一个实验。

翌年,科恩和加州大学医学院博耶为首的研究组共同进行了令人更感到奇妙的实验。将非洲爪蛙决定核糖体RNA的结构基因接在大肠杆菌的质粒上,组成一个重组体,再把这个重组体引入大肠杆菌,结果在大肠杆菌体内产生出了爪蛙核糖体RNA。这充分说明爪蛙的基因已在大肠杆菌细胞里安家落户。从此,科恩和博耶开创了重组DNA实验的基础,一举打开了基因工程的大门。

1977年凯伊奇·伊塔库拉研究组用基因工程方法使细菌产生出人脑激素——生长激素释放抑制素。这是基因工程研究史上的第一次重大突破。

1973~1993年的20年间,基因工程公司如雨后春笋般出现,仅美国就达到1000多家。基因工程产品层出不穷,仅美国年总销售额就达40多亿美元。一个新型的生物工程产业正在悄然兴起。

### 一、基因工程药物

基因工程在医药方面起步最早,进展也最快。继人生长激素释放抑制素在细菌中表达成功之后,1978年人胰岛素基因在大肠杆菌中又表达成功,1983年基因工程胰岛素产品第一个投放市场,1979年用基因工程法使细菌产生的人生长激素首次告成。经过大规模的临床试验,基因工程人生长激素产品也于1983年投入市场。1980年人干扰素基因在细菌中表达成功。1986年美国首先批准 $\alpha$ 型干扰素投放市场,基因工程 $\gamma$ 干扰素也在欧美获准投放市场。日本已批准 $\beta$ 型干扰素进入市场。1986年美国还批准了乙型肝炎基因工程疫苗的产品投放市场。1989年治疗慢性肾衰竭贫血药——促红细胞生

成素(EPO)的基因工程产品也已投入市场。治疗急性心肌梗死的组织血纤维蛋白溶酶原激活剂(TPA)的基因工程产品于1990年投放市场。1991年在美国批准了治疗癌症的新药——集落刺激因子基因工程产品投放市场。白细胞介素-2主要用于治疗恶性肿瘤或与AZT合用治疗艾滋病,或通过LAK(杀伤因子)细胞进行免疫治疗。白细胞介素-2的基因工程产品于1992年在美国批准投放市场。

日本目前已批准生产人胰岛素、生长激素、 $\alpha$ -干扰素、促红细胞生成素、乙型肝炎疫苗、 $\beta$ 干扰素、 $\gamma$ 干扰素和白细胞干扰素等八种基因工程药品投放日本市场。

综上所述,以美、日为例,经食品药品监督管理局批准的商业化基因工程药品已有十余种,另有50多种处于I或II期临床,另有300多种在申请临床试验。预计1995年左右,美、日将分别有百余种基因工程药品投放市场,其中绝大部分都是用传统方法所不能生产的。

我国第一个进入产业化的生物高技术产品——人 $\alpha$ 型基因工程干扰素已投产(见彩色插页正面图A)。这是80年代后期开发研究的高技术产品。经80多家医院,2400例临床试验,已证明是治疗某些病毒性疾病和某些恶性肿瘤的有效药物。

我国已研制成功的乙型肝炎表面抗原基因工程疫苗(见彩色插页正面图B),1991年已由长春和北京两个生物制品所完成中试,已形成年产一百万人份的生产能力。用以上疫苗接种儿童的临床试验结果,抗体阳转率达100%。这为我国防治乙型肝炎开辟了广阔前景。

中国科学院上海生化所的刘新垣教授已使基因工程白细胞介素-2与新型白细胞介素-2的发酵率达到菌体总蛋白的35~40%,在建立一种分离与处理包含体的方法后,产物的纯化简单、方便、收得率高,在10升发酵液中可获得1克左右的白细胞介素-2(ril-2),达到国际先进水平。

目前,军事医学科学研究所生物工程研究所生

产的白细胞介素-2 中试品已经卫生部新药审评委员会批准进行临床试验(见封面彩图)。

上海医科大学的专家已完成人组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)基因工程阶段的各项任务,获得了小试生产,其比活性和治疗实验性血栓症的效果与国外产品相同。

另外,我国在“七五”期间还完成了人生长激素、猪生长激素、 $\gamma$ -干扰素、表皮生长因子等基因工程药物的实验室研究,有的已进入中试,可为今后基因工程药物产业化不断提供产品。

## 二、基因疗法

从理论上讲,基因疗法就是制备正常基因代替遗传缺陷基因,或关闭、或降低异常表达的基因等等。目前人类许多严重的职业病、遗传病、恶性肿瘤、心血管疾病、糖尿病等尚无理想的防治手段。而这些疾病的起因都离不开基因突变、缺失和异常表达。因此,最根本的方法是进行基因治疗。这是科学家们在基因工程技术研究成功之后的理论设想。这种设想在美国经过几年的研究,已于1990年9月开始临床试验,治疗遗传病已初见成效。

美国国立卫生研究院血液专家把用遗传工程方法加工好的活细胞注入一名4岁的女孩体内。她患的是一种免疫缺陷症——腺苷脱氨酶缺乏症(简称ADA缺乏症)。ADA缺乏症患儿的免疫功能低下,抵抗力很差。但是用无害病毒作为载体,把能分泌腺苷脱氨酶的健康基因插入患儿离体的细胞,再把这种离体活细胞注入患儿体内后,患儿衰弱的免疫系统功能就完全恢复,病情大为好转。这是“基因疗法”首次临床试验获得成功。其惊人的效果和安全性连科学家们也未曾料到。1991年,科学家又为晚期黑色素瘤患者进行基因疗法临床试验,结果患者病情得到了控制,黑色素瘤明显缩小。目前学者们正计划对囊性纤维变性、镰形细胞贫血症等遗传病进行临床试验。据近日报道,学者们用基因疗法成功治愈了一名患遗传性肝病的加拿大妇女。这位妇女患的是家族性血胆甾醇过多症,原因是一个有缺陷的基因使得肝脏不能消除血液中有毒的“LDL”胆甾醇。胆甾醇在血液中越来越多,并引起心脏病。研究人员用病毒作载体,将正常基因植入从肝上取出的细胞,然后将这些细胞注进流向患者肝部的静脉。患者在接受治疗的5个月内胆甾醇含量下降了30~50%。现稳定在比以前低17~20%的水平上。现已找到了对多年来束手无策的4000多种遗传病和一些疑难病的治疗途径。

我国用基因疗法治疗乙型血友病的实验研究获得成功。目前已转入临床试验阶段。上海复旦大学遗传所薛京伦教授和第二军医大学长海医院合

作,用自体成纤维细胞作载体成功地把凝血因子Ⅸ基因转入两名乙型血友病病人体内(见彩色插页正面图4)。凝血因子Ⅸ在病人皮肤成纤维细胞中得到高效转移和表达。这两位病人体内产生出治疗水平的凝血因子。因子Ⅸ基因工作良好。这项工作在国际上处领先地位。

## 三、转基因植物

由于外源基因导入植物的转化方法不断取得新的突破,使得一批抗除草剂、抗病毒、抗虫等转基因植物不断开发成功。

美国孟山都公司已开发出一种抗除草剂的转基因大豆,并进入田间试验阶段。美国佛罗里达大学的学者把抗除草剂基因直接导入小麦愈伤组织,已培育出三代植株,并都表现出抗除草剂的特性。

科学家们通过转基因技术把病毒外壳蛋白基因移植到作物里,使作物能抵抗病毒的感染,这可称之为作物疫苗。美国孟山都公司把烟草花叶病毒外壳蛋白基因转移到蕃茄植物细胞的染色体中,这种能表达病毒外壳蛋白基因的转化细胞在实验室里长出了完整植株,目前已成功地进行田间试验。抗病毒蕃茄的商业化产品将在1994年投放市场。该公司还获得了抗病毒的烟草。

在抗虫方面,人们知道苏云金杆菌产生的毒性蛋白可杀死鳞翅目害虫。学者们首先通过毒素蛋白基因的转移获得了新型微生物农药。目前已研制成功含有来自苏云金杆菌毒蛋白基因并能定居在高等植物上的遗传工程菌。这些微生物可作为鳞翅目幼虫的防治因子。

- 日本一家化学公司把苏云金杆菌的 $\delta$ -毒素基因在大肠杆菌中克隆成功。培养这种重组的大肠杆菌可从每升发酵液中获得1克多毒素蛋白。近年来,该公司也把编码苏云金杆菌毒蛋白基因转入烟草细胞,产生出表达毒蛋白的转基因烟草。

英国学者发现豇豆中有胰蛋白酶抑制剂,昆虫食后使体内失去胰蛋白酶,就不能吸收蛋白质而在两天内死亡。目前已从豇豆中分离出胰蛋白酶抑制基因,通过转基因植物的方法,把胰蛋白酶抑制剂基因转移给烟草,使成株的烟草有抗虫害能力(见彩色插页正面图2)。

美国一家公司还开发出了反义蕃茄,即利用反义RNA抑制蕃茄中多聚半乳糖醛酶表达,该酶可促使果实细胞壁内果胶破坏。用这种技术开发的反义蕃茄味美,肉质厚,较普通蕃茄有更长的保鲜期。产品已于1993年上市。

我国在转基因植物研究上也取得了很大进展,已获得了抗除草剂、抗病毒、抗虫、耐盐的作物。

中国科学院遗传研究所研究出的抗除草剂大

豆已传 4~5 代,仍保持抗除草剂的特性。

中国科学院微生物研究所培育的抗烟草花叶病毒烟草已经大田筛选获得了纯合子。该所还培育出了同时能抗烟草花叶病毒和黄瓜花叶病毒的双抗转基因烟草。1992 年双抗转基因烟草在河南省进行了 10 万亩级的大田试验,表现了良好的抗病性能。这是我国基因工程植物在生产上大面积应用获得成功的第一个例子,在种植面积上居世界各类基因工程植物大田试验规模的首位。这项研究成果达到了国际上植物基因工程研究的先进水平。

中国科学院微生物所和中国林业科学院合作,把一种抗虫基因导入欧洲黑杨树,获得了转基因抗虫植株(见彩色插页正面图 1)。这种转基因欧洲黑杨可使舞毒蛾和杨天蛾死亡率高达 100%,这在世界上尚属首次。中国科学院微生物所还获得了抗虫的转基因烟草。

中科院遗传所从豇豆子叶中分离出了豇豆胰蛋白酶抑制剂基因,经过修饰使之能在植物细胞内高效表达。目前,通过 DNA 体外重组技术和遗传转化技术,已获得了能够产生豇豆胰蛋白酶抑制剂的转基因植株。经测试,转基因植株具有良好的抗棉铃虫和烟青虫的特性。目前,对转基因烟草已进行了大田试验,并显示出良好的抗虫效果。

此外,通过转基因植物的研究,还使马铃薯淀粉的含量提高 20~40%,并增加了马铃薯蛋白质的含量,提高蕃茄蔗糖含量、降低淀粉含量的试验也取得了阶段性成果。

#### 四、转基因动物

1983 年美国学者把大鼠的生长激素基因与小鼠的 MT 启动子组成重组体,注射到小鼠的受精卵里,再把受精卵移植到借腹怀孕的雌鼠体内,生下来的小鼠生长速度比普通小鼠的平均生长速度快 50%。其中一只小鼠已把移植的基因遗传给下一代。这是基因工程研究史上的一次重大突破。

1988 年澳大利亚的学者用分离出的猪生长激素基因注入猪的受精卵,获得了“超级猪”。美国加利福尼亚生物技术公司通过基因工程将人的基因转移到牛体内获得成功。由转基因公牛授精的母牛产下 5 头健壮的牛犊,这些牛犊均携带有一个人类的基因(HLF)(见彩色插页背面图 1)。

目前通过转基因的方法除了培育体大、瘦肉型、产卵多的家畜、家禽以外,还在积极研究抗寒的转基因鱼。加拿大多伦多大学研究人员把冬季比目鱼和海洋大头鱼中的抗冻基因导入大西洋鲑鱼中,其目标是扩大有经济价值鱼类的养殖范围。

研究转基因动物的另一个目的是把培养哺乳动物本身视为活发酵罐用以生产药物、工业酶和人

们所需的珍贵物品,或通过转基因的方法培育动物模型,进行各种研究。如英国学者培育的转基因羊,可从羊奶中提取人  $\alpha_1$ -抗胰蛋白酶,表达量最高达 60 克/升,每只羊每天分泌乳 4~5 升,约相当于一个 50 升的发酵罐。美国 DNA 公司于 1991 年 6 月已成功地获得能产生大量人血红蛋白的转基因猪。该公司与血红蛋白公司合作,估计在 3 年内每年能生产 400 万单位血红蛋白,产值约 10 亿美元。

另外,转基因植物也能生产贵重药品。据报道,荷兰可用转基因马铃薯生产人血清蛋白。比利时已开发出利用转基因油菜生产多肽药物。此外,在马铃薯块中生产环状糊精,在拟南芥菜中生产聚羟基丁酸,在油菜中生产工业用油等也在探索中。

我国在转基因动物研究上也卓有成效。中国科学院水生生物研究所在世界上率先开展了转基因鱼的育种研究。他们把人的生长激素基因转入鲤鱼的受精卵,经检测得知有 50% 孵化出的小鱼在血液中有人的生长激素基因。培养出的转基因鱼生长速度快(见彩色插页背面图 2),有一条在 9 个月后比对照组重 1.5 公斤。

中国科学院上海细胞所等 6 个单位协作研究,先建成含有乙肝表面抗原基因的载体,再通过显微注射将外源基因导入兔受精卵,通过借腹怀胎,获得了当代( $F_1$ )和子代( $F_2$ )的转基因兔(见彩色插页背面图 3)。这将为我国通过转基因动物获取贵重药品打下基础。

中国农业科学院兰州兽医研究所等单位获得了含酶性核糖核酸基因的转基因兔。这项研究的成功,为家畜的基因工程抗病育种提供了动物模型。这一报道在世界尚属首次。

#### 五、庞大的基因工程计划

现在生物技术正以其巨大的活力改变着传统社会的生产方式和产业结构,迅速向经济和社会各个领域渗透和扩散,以求推动社会生产力的飞速发展。所以世界各国都竞相制定发展计划,加大投资强度以免在战略上失去时机。如,美国制定了人体全部基因组分析计划,要求 15 年完成,总耗资 30 亿美元;日本的“人类前沿科学计划”预定 20 年完成,预算暂定 56 亿美元;西欧 19 国的尤里卡计划,确定的 13 个生物技术新项目预计投资大约 7 500 万欧洲货币单位,在 3~5 年完成。我国国家自然科学基金委员会也设置了“人类基因组项目”。

综上所述,可以看出科恩和博耶自 1973 年开创基因工程研究至今(1993 年)虽仅二十年,却给人类社会带来巨大的变革,致使人们多年来对束手无策的病毒病、遗传病、肿瘤、艾滋病的治疗以及环境和粮食短缺等大问题的解决有了希望。

(责任编辑 刘先曙)

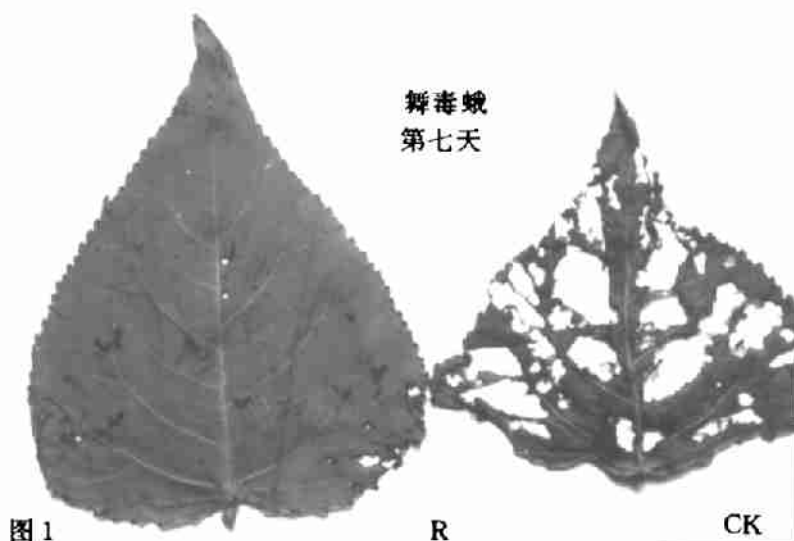


图 1

图 1 转基因抗虫植株。

CK—非转基因欧洲黑杨叶片

R—转基因植株的叶片

图 2 转基因豆胰蛋白酶抑制剂基因烟草(右)有效地抵抗了害虫的侵害,对照烟草(左)损害严重。



图 2

## 基因工程研究二十年

(详见 张树庸文)

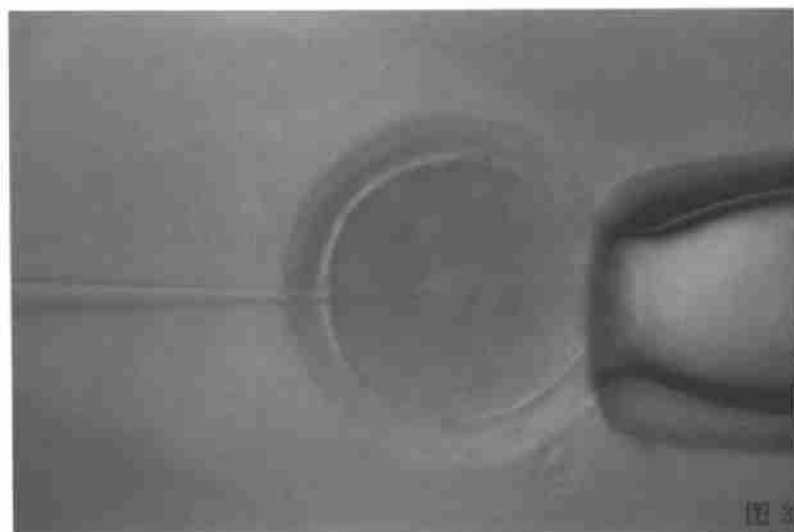


图 3 科研人员将乙型肝炎表面抗原基因注入兔受精卵的情景。(施履吉 供稿)

图 4 我国用基因治疗乙型血友病的临床情况。



图 4

# 基因工程研究二十年

(详见 张树庸文)



图1 美国通过基因工程将人的基因植入牛的体内,由转基因公牛授精的母牛产下5头健壮的牛犊,这些小牛犊均携带有一个人类的基因。



图2 我国培育的转基因鲤鱼表现出的快速生长效应(上为对照,下为转基因鱼)。



- A: 我国第一个实现产业化的生物高技术产品——人 $\alpha$ 型基因工程干扰素。
- B: 乙型肝炎表面抗原基因工程疫苗,对儿童接种后证明抗体阳转率达100%。



图3 我国培育的转基因兔,转入的乙型肝炎表面抗原基因已在转基因兔体内整合并表达。(施履吉 供稿)

