

今日生物技术

BIOLOGIC TECHNOLOGY TODAY

张树庸

概 述

生物技术（生物工程）是当前世界上正在兴起的一个以微电子技术、新材料、新能源为核心的新技术革命浪潮的重要组成部分，受到世界各国政府和社会各界的重视。各发达国家政府竞相制定发展计划，投入巨额资金，实行优惠政策，促进其发展。以生物技术产品为开发对象的公司、企业，在发达国家如雨后春笋般地建立起来，一个新兴的高技术生物技术产业正在逐步形成。

自 70 年代初期，以重组 DNA 技术和杂交瘤技术为特点的生物技术研究，仅有十几年的历史，然而在世界范围内却有着日新月异的发展。无论是医药还是农业，无论是轻工还是食品等方面都取得了举世瞩目的成就，并展示了广阔的应用前景。

基因工程

基因工程在医药方面的研究进行得最早，进展也最快

1977 年美国第一次用大肠杆菌生产出有活性的人脑激素——生长激素释放抑制素（Somatostatin）。这是基因工程研究的首次成功和重大突破。这个成就引起了世界范围的震动。因为这一实验成功，人们可以进一步阐明高等生物基因表达的理论基础。其巨大的经济价值也是十分诱人的。

1978 年 9 月美国加州大学的研究组用人工合成

的人胰岛素基因转移到大肠杆菌获得成功，这是基因工程研究又一次重大突破。胰岛素是治疗糖尿病的良好药。原来胰岛素只能从猪牛的胰腺中提取，不仅造价高而且有副作用。然而用生物技术方法生产的胰岛素为全世界患者提供了一条经济可靠、大量而又稳定的供应来源。1983 年细菌基因工程生产的胰岛素已形成一万加仑发酵罐生产规模，并开始投放市场。预计 1990 年该药在美国的销售额将达 2 350 万美元，世界市场约为 5 亿美元。

1977 年 7 月旧金山加利福尼亚大学和基因技术公司的学者使细菌产生人生长激素获得成功。人生长激素是脑下垂体前叶分泌的一种肽激素，是治疗侏儒症的特效药，并可用来治疗老年性骨质疏松症、出血性溃疡、烧伤、创伤、骨折等。由于特异性强，故不能用动物生长激素来代替治疗人体疾病。治疗一个脑下垂体机能不全的儿童侏儒症，一年需要从 50 具尸体中提出的生长激素量。价格昂贵，每克 5 000 美元。这种基因工程产品，1982 年在加拿大、美国、欧洲和日本进行大规模临床试验，同年瑞典公司用 1 500 升发酵罐以工业规模生产，1983 年投放市场，销售量为 7 500 万美元，预计到 1990 年销售量可达 1.5~2 亿美元。

用生物技术产生乙型肝炎疫苗已获成功。目前世界上有两亿人患乙型肝炎。这种病可由母亲传给婴儿。乙型肝炎还可导致肝癌的发生。目前尚无其他办法治疗。虽然能制造血源疫苗，但是，不仅产量少且易感染其他病，十分不安全。现在国际上很多国家已把乙肝病毒表面抗原基因导入大肠杆菌，

酵母、哺乳动物细胞和痘苗病毒获得了高效表达。美国默克公司生产的基因工程疫苗已于 1986 年获准生产并投放市场。这对防治乙型肝炎病有重大意义。

1980 年美国基因技术公司将人体白细胞干扰素基因转移到大肠杆菌中表达成功,用微生物生产干扰素这是又一次重大突破。干扰素可用来治疗病毒感染一类疾病,如乙型肝炎、水痘及疱疹等,也能抑制细胞增殖并有免疫调节作用,因而也能表现一定的抗癌效果,还可用于预防致死性心肌炎病毒感染。目前美国食品与药品管理局已批准基因技术公司和拜奥金公司生产 α A 型干扰素投放市场。英国已批准一种 α 型干扰素投放市场。日本已批准 β 型干扰素投放市场。人干扰素市场目前为 2 500~5 000 万美元。

总之,目前美国食品药品监督管理局已批准生产近 10 种生物技术医用药物和疫苗,如人胰岛素、人生长激素、人 α -干扰素、组织型纤维溶酶原激活剂(TPA)、血液因子 VIII 和乙型肝炎疫苗等;兽用的有伪狂犬病疫苗等。其他 15 种如促红细胞生成素、干扰素 β 、 γ 、白细胞介素-2,尿激酶原等已进行第 3 期临床试验;另有几十种正在进行第一或第二期临床试验;到 1995 年左右美国将会有近 100 种,日本有近 150 种被批准投产。此外另有 300 多种生物技术新药在申请临床试验。到目前为止,食品药品监督管理局已批准 300 多种单克隆抗体诊断盒,15 种 DNA 探针。1988 年估计单抗诊断盒的世界销售额约为 2 亿美元,而 DNA 探针销售额为 2 000 万美元。下一代生物技术药物和疫苗正在研制中。如利用抗个体型抗体(抗抗体)做疫苗预防传染病,有可能预防癌症。免疫毒素则可以治疗癌症(即生物导弹)。也可利用蛋白质工程设计新药。预计 5~10 年后可望推陈出新,试于临床,甚至见于市场。

生物技术在农业上的应用

生物技术在农业上取得的成果比预期要快得多。生物技术在改良作物品种上利用了转基因植物方法。这就是将外源目的基因导入植物体内,以产生人类需要的具有不同抗性、优质、高产的工程植株的植物基因工程研究。1983 年科学工作者将离体的基因通过根瘤农杆菌的 Ti 质粒转入农作物进行植物的遗传修饰获得成功。因为根瘤农杆菌的 Ti 质粒只能进入双子叶植物(如土豆、豌豆、蚕豆等)。可是世界上许多重要的粮食作物,如水稻、大麦、小

麦、玉米、高粱等都是单子叶植物。使外源基因引入单子叶植物进行遗传修饰,培育新品种是植物遗传工程中最重要目标。这方面的研究近几年有了长足的进步。由于转基因方法日趋完善、多样,如 Ti 质粒载体转化、电穿激法、微量注入原生质体或整体植物、花粉管通道法,以及基因枪的应用,已能将外源基因不仅导入双子叶植物且能进入单子叶植物,不仅可整合到植物核染色体,也可进入细胞器基因组中。植物本身又有全能性,单个细胞能发育成完整植株,可是能再生的植物还是少数,多数植物不能再生。最近几年,在原生质体再生植株研究方面有了突破性的进展。如水稻原生质体培养、玉米和猕猴桃原生质体培养,以及大豆原生质体培养已相继完成再生植株。这样可把重组的基因引入植物原生质体,再通过原生质体培养等步骤,最后终将使单子叶植物也能达到选育新品种的目的。当前利用基因工程和细胞工程技术所获得的抗病毒、抗虫、抗除草剂、抗冻、抗旱、抗盐、保鲜等植物都处于大田试验阶段。预示不久这些“工程植物”将不断进入市场。

例如:美国孟山都公司(Monsanto)-华盛顿大学联合小组报道已建成抗烟草花叶病毒(TMV)的番茄植物。他们通过基因转移技术把编码烟草花叶病毒(TMV)外壳蛋白基因插入到番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已长出完整植株,目前在成功地进行田间试验,为进一步获取高产的商品番茄植物开辟了前景。

英国达勒姆大学的学者与剑桥植物培育中心的学者发现豇豆中含有胰蛋白酶抑制剂。昆虫食后体内失去胰蛋白酶,就不能吸收蛋白质,两天内即死去。学者已从豇豆中分离出胰蛋白酶抑制剂基因,通过转基因的方法,移植给烟草,使烟草具备了抗虫害的能力。

美国康乃尔大学吴瑞教授成功地用三种不同的方法将外源基因导入水稻获得成功;伦敦帝国理工学院的学者利用感染双子叶植物的病毒把外源基因导入玉米。这些成就都将为解决粮食问题开辟前景。

1988 年在比利时、法国、英国、西班牙、荷兰和美国对六种转基因植物(抗除草剂、抗鳞翅目昆虫和甲虫类害虫)进行田间试验。这六种由基因工程构建成的抗除草剂和抗虫植物有苜蓿、白杨树、马铃薯、油菜、烟草和番茄。预计 1991 年前一些工程植物将投放市场。抗虫、抗病的转基因植物在农

业上广泛推广,无疑会逐步减少农业对农药的依赖,不仅可以获得巨大的经济效益,同时也可以减少化学农药对环境的污染。

培育动物良种采用了转基因动物的方法。这就是把外源基因注射到受精卵里,然后把该受精卵立即移入假母的输卵管中,让它通过输卵管,进入子宫,着床发育。生下来的幼畜经检测,如有外来基因则称之为转基因动物。通过此种方法,目的在于获得生长速度快、瘦肉率高、产卵量大的家畜、家禽的优良品种;也可以把有经济价值的特殊蛋白基因转入动物个体从而获取珍贵的生物制品。

1983年美国学者利用转基因的方法,培育出了“超级鼠”,这是生物技术研究史的又一次重大突破。自此后,又培育了转基因兔、牛、猪、羊等,不过至今未见有实际应用的报道。但将有经济价值的特殊蛋白基因转入动物已初获成功。例如,美国集成化遗传公司从重组型转基因小鼠中得到了组织纤维溶酶源激活剂(可溶解血栓)。又如英国学者已成功地将人的凝血因子Ⅸ基因插入绵羊,在羊的奶汁中已含有这种蛋白(可用来治疗血友病)。

我国生物技术的发展

我国对生物技术的发展给予了高度的重视。从第六个五年计划(1981~1985年)开始就把生物技术列为国家攻关项目,给予重点支持,1986年又把它列为“七·五”国家科技攻关项目,1987年又把它列为国家高技术研究发展计划。科研人员一方面结合国情,一方面紧跟国际生物技术的研究步伐,几年来在研究上也取得了重要进展。

首先在医学方面,1982年科研人员通过基因工程的方法将我国的adr型肝炎病毒基因组转移到大肠杆菌中表达成功。继之,乙型肝炎病毒表面抗原基因在酵母中也表达成功。最近又分别建成了痘苗病毒表达系统和哺乳动物细胞表达系统。目前痘苗病毒表达系统和哺乳动物细胞表达系统都分别进入中试,预计1990年底两条路线将完成中试,各形成年产100万人份的生产能力。正式投产后,如达到2000~3000万人份的生产能力,产值可达2.1~3.2亿元,可以保证全国新生婴儿和高危人群计划免疫的需要。

用基因工程的方法使乙型肝炎病毒表面抗原基因在大肠杆菌、酵母等载体系统表达成功不仅可以制成乙肝疫苗,而且还可以用此法产生的乙肝核心抗原作诊断试剂快速灵敏地检测乙型肝炎。目前北

京市科研院北京生化免疫制剂中心已用基因工程方法产生的乙型肝炎核心抗原为原料,进行包被。通过放免法、酶标法和血凝法生产的诊断试剂盒已行销全国。

干扰素被认为是80年代最有希望的抗病毒、抗肿瘤药物。1986年以来,英、日、美、意、古巴等国政府相继批准干扰素作为一种新药投放市场。我国1982年建立了 α 型干扰素克隆,1983年在大肠杆菌中获高效表达,1984年首次在国内研制成功纯化的基因工程干扰素,并建立了实验室生产干扰素的工艺流程。这一产品在临床上经过300例慢性宫颈炎和100多例病毒性角膜炎试验,证明有95%以上的临床疗效。这种外用型 α D-干扰素年内可投放市场,注射针剂 α D-干扰素可望明年年底完成中试。以外用型 α D-干扰素投产后市场需求测算,年产值为5000万元,针剂年产值可达7亿元。

青霉素酰化酶基因工程研究是70年代末世界医药界开辟的生物基因工程研究的领域,1983年中国科学院上海药物研究所开始构建大肠杆菌A₅₆(PAP₂₂)高表达青霉素酰化酶基因工程菌。到1987年底提前一年与华北制药厂完成了协作攻关的计划指标。中试成果鉴定充分证明了该基因工程菌具有酶活力高,稳定性强等优点。与国际同类基因工程菌相比,处于最高水平;中国科学院微生物所科研人员筛选到一株胞外青霉素酰化酶的高产菌株,与太原制药厂协作进行中试。今年完成中试并通过鉴定,达到已知同类产品的国际先进水平。此成果在生产上可使固定化青霉素酰化酶和固定化细胞国产化,以我国目前年需6-APA 400吨计,每年将节约2000余万元和大量外汇。

近年来美国、瑞典等国科学家研制成功与天然产物完全一致的第三代基因工程人生长激素。我国科研人员研制的基因工程菌株得到的产品属于近年来国际新发展起来的第三代人生长激素,实验室产品达到临床应用标准,经中试生产后便可造福患者,价格要比国外产品便宜得多。

应用杂交瘤技术制备的单克隆抗体具有特异性高,用途广,生产方便等优点。目前国外已研制出了数千种单抗,数十种商品,正在形成新的产业。目前杂交瘤技术在我国生物技术领域中占领先地位。由中国医学科学院基础医学研究所、卫生部药检所、中国预防医学科学院病毒所共同承担的国家“七·五”重点科研项目:流行性出血热单抗诊断盒、合胞病毒单抗诊断盒、抗风疹病毒单抗诊断盒、T-细胞及亚群单抗诊断盒、人Ig系列诊断

盒、乙肝表面抗原诊断盒等都已获成功并通过鉴定。北京市科技研究院北京生化免疫制剂中心也筛选出分泌单抗乙肝表面抗原的杂交瘤细胞株 8 株, 其中抗 a 型 2 株, 抗 d 型 6 株, 经配对组合致敏 O 型人红细胞, 制成 R-PHA 药盒, 敏感性为每毫升 10 纳克, 特异性强, 达到国内先进水平。

值得特别提出的是我国从瓜萎中纯化的毒蛋白一天花粉。该蛋白的理化性质, 一、二级结构都已搞清, 最近美国作为重大新闻报道, 它在体外几乎可以百分之百抑制艾滋病毒复制, 国内也有抑制肝、肺癌的报道。美国一些公司已投资并愿与中国合作开发。

我国在转基因植物、转基因动物方面的研究也取得了令人鼓舞的成绩。

我国科学工作者也完成了一批抗病毒、抗虫、抗除草剂的作物试验。如中国科学院微生物研究所、中国科学院昆明植物所已培育成功抗烟草花叶病毒 (TMV) 和抗黄瓜花叶病毒 (CMV) 的烟草、以及抗黄瓜花叶病毒的番茄等, 即将进入大田试验, 可望在“七·五”结束后完成大田试验。

中国农业科学院首次将苏云金杆菌毒性蛋白基因转入水稻的原生质体获得成功。为培育抗虫水稻新品种展示了美好前景。中国科学院遗传研究所等单位也把龙葵植物抗除草剂基因转入大豆获得成功。

我国细胞工程研究工作的发展

前面已介绍原生质体再生植株技术是细胞杂交和导入外源基因等植物遗传操作的重要基础。禾本科作物 (水稻、小麦、玉米) 和豆科植物 (大豆、赤豆) 的原生质体再生植株是国际上公认的难题。我国在这方面作出了很好的成绩。如中国科学院遗传研究所、中国科学院上海植物生理所获得了水稻原生质体的再生植株; 中国科学院植物研究所获得了玉米原生质体的再生植株; 中国科学院遗传研究所、河北省农科院粮油所获得了小麦原生质体再生植株; 复旦大学遗传研究所获得了赤豆原生质体再生植株; 中国科学院上海植物生理研究所已获得高粱与野生大豆原生质体再生植株。这些工作都达到了国际先进水平。这将为我国进一步发展转基因植物, 培育高产、优质、抗性的粮食作物开辟广阔前景。

我国科学工作者应用细胞工程技术已培育出一

批农作物新品种、新品系。例如中国农科院作物所培育的北方粳稻“中花 10 号”, 累计推广 200 万亩, 增产稻谷 800 万公斤, 又如北京农科院植物细胞工程实验室选育的适应华北地区的冬小麦“京花 3 号”累计推广 41 万亩, 增产小麦 1 025 万公斤。这两个新品种推广面积增产所获经济效益约为 1 460 万元。

在转基因动物的研究方面, 我国用人生长激素转入鲫、鲤、泥鳅的受精卵, 外源基因在后代 25~60% 的个体中有整合和表达, 这种转基因鱼的成功为今后培育优良的品种打下基础。又如我国科研人员把乙型肝炎表面抗原基因转入兔受精卵后, 再移植到受体兔子宫内, 已获得有外源基因整合和表达的转基因兔。我国最近在转基因动物研究方法上也取得了重大进展。这就是以鲤鱼精子为载体, 成功地将人的生长激素基因转入鱼卵。在外源遗传基因的整合效率与表达比率方面均居世界领先地位。我国也已克隆出猪、牛的生长激素基因, 为进一步研究转基因动物作好了准备。

我国利用细胞工程的方法对改良畜种、鱼类品种, 扩大优良畜群也起到了积极作用。如我国奶牛胚胎移植, 利用胚胎分割获同卵双犊, 奶牛半胚移植技术等都取得了很好进展。在核移植技术方面, 已将鲤鱼胚胎细胞核移入去核的鲫鱼卵内, 所得鲤鲫移核鱼的生长速度比亲本快 14~22%, 养殖产量高达 22%。

此外我国在畜用疫苗和疾病的诊断上也获新进展。例如, 用基因工程的方法研制出幼畜腹泻疫苗——含 K88、K99 的双价疫苗, 已对母猪做了试验。马传贫单克隆抗体诊断药盒已通过鉴定。

高效安全家畜促长剂——玉米赤霉醇在北京科技研究院北京市营养源研究所真菌工程试验室获得成功, 经试验证明这种促长剂使牛平均增重 21.77%, 羊增重 26.65%。这项技术可望在我国牛羊肉生产中发挥较大作用。

由上述可见, 生物技术为解决人类面临的食物、资源、疑难病症的治疗等重大问题开拓了新的前景, 并将对各行各业的技术和产业结构产生深远影响。

本文作者张树庸 (Zhang Shuyong) 系北京实验动物研究中心情报室主任、副研究员, 《生物工程进展》杂志副主编。