

国家遗传工程重点实验室

STATE'S MAIN LAB OF GENETIC ENGINEERING

叶正祥

1984年7月,国家计委、国家科委和国家教委组织全国有关专家进行了全面、认真的论证,最后决定在复旦大学正式建立“国家遗传工程重点实验室”(通称为复旦大学国家遗传工程重点实验室)。1985年初具规模后正式向国内外开放。它是我国最早建成,开放最早的国家重点实验室。五年来,实验室坚持改革、开放的原则,已建成一个生物科学研究的基地和人才培养中心。本文介绍实验室的基本情况、科研成就和几条经验。

一、基本情况

实验室的研究人员由两部分人组成。一部分是编制固定的科技人员,另一部分就是每年都流动着的外来客座研究学者。在固定人员中,现有教授2人,副教授7人。他们都是主要的学科带头人。

实验室聘请了国内外15位专家组成了学术委员会,并由中国科学院学部委员、国际著名遗传学家谈家桢教授和中国科学院学部委员、细胞生物学家施履吉研究员担任学术委员会的正副主任。

国家遗传工程重点实验室已配备了开展分子遗传学和基因工程研究所必需的仪器和设备,建立了遗传工程研究中的各种先进实验技术。仪器设备和实验技术的先进程度可与国外大学同类实验室的水平相比,基本上可以满足遗传工程和分子生物学的需要。

实验室建立以来,已从国内外购进97个品目计

530多台(件)的先进仪器设备,其中包括成批的系列(低速、高速、大容量、超速和分析)离心机、高分辨率电子显微镜、DNA合成仪、蛋白顺序分析仪、同位素液体闪烁仪、高效液相色谱仪、显微操纵仪、氨基酸分析仪、自控发酵罐以及Vax II计算机(8个终端)等等。特别是Vax II计算机,配有4套功能齐全的程序包,主要包括氨基酸成份统计、蛋白质分子量查库、蛋白质结构、潜在的糖基位点检测、从蛋白质翻译成DNA、寡核苷酸的探针预测、碱基成份统计、二核苷酸和编码子频度统计、限制性内切酶的切点检测、基因读框的定位、从DNA译成蛋白质、核酸的二级结构、同源性搜查以及两顺序的比较等等。这些软件包对研究者的选题和实验设计有着重要的指导作用。实验室已建立起一系列遗传工程实验技术,例如,DNA分离提纯、DNA重组、cDNA克隆、基因表达、DNA化学合成、DNA顺序分析、蛋白质顺序及氨基酸组成分析、蛋白质分离纯化、同位素技术、计算机基因数据库和蛋白质的计算机分析、细胞培养、基因注射,以及生物活性的测定等等。为实验室的开放和研究工作创造了有利的条件。

二、研究工作

国家遗传工程重点实验室主要进行分子遗传学基础研究和遗传工程的应用研究,尤其重视具有应

用背景的基础性研究和旨在增强开发能力的应用研究中的基础性工作。近期内,在基础研究方面,主要进行酵母菌、高温细菌、棒状杆菌的高表达质粒载体的构建,DNA大片段化学合成以及植物人工染色体等课题的研究;应用研究方面,主要对肿瘤坏死因子基因工程、白细胞介素Ⅱ基因工程、高温 α -淀粉酶基因工程、干扰素基因工程、表皮生长因子基因工程、淋巴毒素基因工程、心钠素肽基因工程、降钙素相关肽基因工程等进行研究。中期的研究方向是继续抓好基因工程载体系统的研究,以及蛋白质工程的研究。长期的目标在于开展高等动植物的分子遗传及遗传工程研究,如人类遗传病的基因定位、基因治疗及肿瘤基因,植物细胞的特种外源基因导入等等。

几年来,遗传工程实验室无论在基础研究或应用研究方面都取得了不少重要成果及重要进展。例如,水稻单细胞培养和植株再生、人体基因定位、庆大霉素组分比例合适菌株的选育等。目前,实验室的科技人员和客座学者承担了50多项各类的研究课题,仅国家“七五”攻关及“863”计划的课题就有23项。

高温细菌分子遗传理论研究中,在国内外首次发现能在65℃以上温度下生长的高温细菌中也存在转座子,并且对其具有重要生理功能的末端结构进行了测定。结果表明,耐高温生物中的转座子很可能不同于已发现的任何转座子,它的全部核苷酸顺序目前正在测定中。

肿瘤坏死因子(TNF)是巨细胞/单核细胞激活后分泌的一种可溶性蛋白质,它参与机体炎症和免疫反应,能抑制肿瘤细胞。该项研究已克隆了人的TNF基因,构建了人TNF基因在哺乳动物细胞、酵母和大肠杆菌中表达的质粒。目前重组人TNF在大肠杆菌中的表达量为 $10^9 \sim 10^{10}$ 单位/升发酵液,占菌体总蛋白的10~15%,达到文献报道的国际先进水平。发酵产物已初步纯化,纯度为90%以上,并已得到粉剂。TNF的研究目前已通过专家鉴定,并将进行中试试验。

基因工程载体的研究,无论是棒状杆菌还是酵母表达载体均取得很好的进展。在国内首先建立了棒状杆菌的质粒转化方法,构建了棒状杆菌-大肠杆菌的穿梭质粒,并且从棒状杆菌中筛选出能在棒状杆菌和大肠杆菌中表达的有启动功能的DNA片段,为氨基酸基因工程打下了基础。在组建酵母分泌型高表达系统的研究中,已成功地组建了多种能在遗传工程技术中应用的载体,利用这种载体已能

较高地表达人的 α A干扰素和 α B干扰素,表达量达到 10^8 单位。从细胞中分泌到培养基中的含量在50%以上,为产物的分离纯化创造了有利的条件。

其他基因工程研究进展也很快。例如,心钠素基因工程的研究,已完成基因合成,并已成功地在分泌型酵母质粒载体中表达,其表达量可达2~3毫升/升,分泌量在95%以上。目前正进行分离纯化,可望达到国际同类水平。又如,钙解素基因肽是促进主动脉扩张、治疗高血压的活性多肽,实验室已合成基因并已在在大肠杆菌中获得较高的表达。在植物基因工程研究方面也取得较明显的进展,例如,赤豆原生质体培养与植株再生研究中,已经完成从叶肉细胞的原生质体中培养出再生植株,并将外源质粒DNA进行转化,已选择到有抗性性状表现的转化无性系。目前正在进一步研究转化细胞的植株再生,这将为食用豆料作物的基因工程研究奠定基础。利用水稻细胞直接进行外源基因转化的研究也获得突破性的进展。其他如日本血吸虫遗传工程疫苗研制、DNA点突变技术以及跳跃基因库构建等研究也都取得瞩目的进展。

三、几条经验

建设国家重点实验室,是科技体制改革中出现的新事物。对于负责建设的依托单位来说,只能在边建设边开放的具体实践中不断探索与总结。下面是几年来工作中的几条经验。

1. 坚持真正的多层次、全方位的开放与合作。

在当前我国财力不足的情况下,国家进行巨额投资,建设为数不多的国家重点实验室,这就要求,这些实验室在发展我国科学技术和培养人才中充分发挥基地和中心的作用,决不能把实验室理解为和实际上当作依托单位自己的一个实验室。而应该坚持真正的多层次、全方位的开放与合作。既面向国内外高学术水平的研究单位和高等院校,进行学术交流和科研协作,又面向工农生产部门,加强与企业界的协作和联系,帮助解决经济建设中的实际问题。

国家遗传工程重点实验室自1986年以来,已帮助两期全国各地客座科学家来实验室进行为期两年的研究工作。第一期实验室基金资助了10项研究课题,其中外单位客座学者获6项,有14人次来实验室工作;第二期,资助了13项课题,其中客座学者获准10项。他们与实验室中固定编制的科技人员一起讨论学术思想,交流实验技术,提高了研究水

平,取得不少成果。例如,在第一期课题中,客座学者承担的胃癌及肝癌转化基因的限制性片段长度多态研究,探明了染色体限制性酶切多态性与肝癌病人家族遗传性的关系,为诊断肝癌危险人群提供较可靠的检测手段。又如,水稻叶绿体基因组的研究,他们成功地构建了完整的水稻 ct DNA 基因文库,制定了六个限制酶切点的物理图谱,可分辨最小片段的精确性达 0.11kb,其完整程度超过国外同类工作,反向重复顺序的长度和物理图谱的资料已处国际先进水平。第二期课题还尚未结束,但其研究进展或成果趋势已非常明显。例如,已完成了人的 α B 干扰素在酵母中的分泌和表达,其表达水平与分泌性能均很好,已进入小型实验生产阶段;又如,已从高温细菌中分离到高温蛋白酶基因,并已在枯草杆菌中表达。一般生产中所用的蛋白酶最高耐温为 50℃,而该基因工程菌的最适反应温度为 75℃,最高可耐受 80℃,酶的表达水平已达到 1 000 单位。

国家遗传工程重点实验室还对各种层次、各种类型的科技人员实行开放,形式多样,时间灵活。例如,外单位的科技人员,根据业务需要来实验室参加有关课题的协作研究,不但他们从中可获得新的知识和提高研究水平,实验室也增添了新的研究力量,双方受益。不少单位的研究生充分利用遗传工程实验室的优良条件,来此进行研究工作,不仅完成了硕士、博士论文,而且也加速了实验室研究课题的完成。又如,有些工厂的科技人员,为开发某种新产品,或为解决生产中的某些带有规律性的技术问题,也来实验室进行协作研究,自 1986 年以来,实验室接受了 30 多位这类科技人员。

当今科学技术的发展,需要各种学科、知识和实验手段进行交叉、渗透和结合。国家遗传工程重点实验室基于这样的认识,在实行多层次、全方位开放的同时,也开展了国内外广泛的合作研究。例如,他们承担了 20 多项国家科技攻关和高技术计划研究任务,其中 64% 的课题是与外单位合作研究的。不仅以较快的速度促进了科研任务的完成,而且从整体上提高了研究的学术水平。在国际交流、协作方面,他们不仅邀请国外学者来实验室讲学并且还开展了实质性的课题研究。例如,他们与美国新泽西州干扰素公司开展“人工染色体”和“谷类与豆科作物基因转化”的研究,已经在美国申请植物人工染色体组建、赤豆原生质体成苗和刀豆原生质体培养外源基因转化等三项专利。与美国新英格兰生物技术实验室协作研制新型高温限制性内切核酸酶,

至今已分离、鉴定了 20 余种,其中三种具有新的识别顺序,这是国际上首次研制成功的新型限制性内切酶。另外,还与联邦德国的比莱菲尔特大学合作,开展棒状杆菌载体系统的研究,并已列入两国政府间生物技术协作项目。

实验室开放与合作的另一方面就是广泛地为社会服务,使多方受益。几年来,先后合成了 α 干扰素,心钠素等 40 余种基因,为上海市儿科医学研究所遗传疾病早期诊断研究合成了 50 余种探针,还为中科院、北京大学等十多个单位分析测试了大批蛋白质样品。

2. 重视将基础研究的成果向技术开发和产业方面转移。

人们往往把科学研究划分成基础研究,应用研究和开发研究三种类型,但三者之间又是紧密联系和相互转化的。遗传工程研究更是如此。国家遗传工程重点实验室重视基础理论的研究,安排了不少基础研究课题。同时,他们又非常注意将基础研究的成果及时向技术开发和产业方面转化。经过几年的实践,环视当今世界生物技术发展的状况,他们感到,今天的遗传工程研究如果仅仅停留在一般的“克隆”和“表达”上,那还是不够的,应该继续做好中、下游的实验室工作,为产品的开发提供必要的和较完整的参数,努力发展我国生物技术产业。

高温细菌耐热机制研究是理论性的基础研究。经过一段时间规律性探索后发现,所筛选到的菌株能产生耐热 DNA 多聚酶。这一发现不仅具有理论意义,而且也显示出有很大的应用、开发价值,因为耐热的 DNA 多聚酶在各种遗传性疾病和传染病诊断和分子生物学研究中有广泛的应用前景。他们及时地把研究范围向应用领域扩展。经过努力,提高了产酶菌株的活力,酶的耐热性可达 93~95℃,比活大于 4 000 单位/毫升,发酵单位达到 10 000 单位/升,超过了国外文献中报道的水平。为了使其形成产品,他们又建立了分离提纯技术,并试产了一小批供国内有关单位试用。试用表明,质量完全达到了国外同类产品的水平。在此基础上,实验室又及时进行小规模的生产,接受国内用户的订货。此外还与美国、联邦德国有关公司接触,拟订在国外的销售协议。

遗传学研究所从事微生物遗传的基础研究多年,取得了不少具有规律性的研究结果。在此基础上,国家遗传工程重点实验室又进一步开展了应用和开发研究。他们在微生物遗传研究中发现了产肌苷的菌株,经改造育出了高产菌。在摇瓶发酵时发

觉该菌株具有很大的潜力,于是进入5升的自控发酵罐生产,实验结果测得肌苷产量达26.55克/升。生产罐的产量达14~16克/升,比一般工厂生产菌提高一倍左右,创造了国内肌苷发酵产率的新水平。

耐高温 α -淀粉酶基因工程是一项应用基础研究课题,实验室的科技人员对该基因的结构进行了比较和分析,应用DNA重组技术及其他处理,使其在枯草杆菌中获得高表达,并能耐90~95℃的高温,不仅产酶量高于原菌种几千倍,而且非常稳定。经500升中试罐试验20多批,其产量可达150~200工业单位/毫升,酶液性能接近NOVO公司的产品,可望今后能替代进口酶。

3. 培养专门人才是国家实验室的重要任务。

国家遗传工程重点实验室自建设和开放以来,一直较重视专业人才的培养。在流动中培养多层次的人才它是它的一大特色。外单位来的客座学者,一方面充实了实验室的科研力量,为实验室高水平的研究作出了贡献。同时,他们在研究实践和学术交流中也提高了自身的学术水平和研究与分析问题的能力,得到了培养。研究生的培养更是实验室经常性的任务。几年来,与复旦大学遗传学研究所合作培养了近百名博士和硕士研究生。目前有45名硕士生,8名博士生(包括1名外国博士生)和2名博

士后在实验室攻读学位和从事科研,他们是实验室的一支重要的力量。由于实验室的开放基金数额有限,对于那些尚未获得基金而又确实需要来实验室进行一段时间工作的科技人员,实验室也欢迎他们以“进修教师”的身份参加课题研究,并听部分研究生课程。三年来,已有70多位科技人员来实验室“进修”,并都取得了良好的成绩和不同程度的提高。实验室还为大学本科生提供研究训练的良好条件,每年接受40~50名大学毕业生从事毕业论文的设计和实验。

对实验室的固定科技人员,他们也非常注意在流动中培养。目前的学科带头人和业务骨干都曾在国外工作或进修过两年以上,并且每隔2~3年都安排他们出国参加学术会议或进行短期的研究工作。对于实验技术人员,他们也注意培养,例如,最近几年就选派了七名实验人员赴香港和国外进修、学习新的实验技术,以提高实验室的整体水平。

国家遗传工程重点实验室建立和开放的时间不长,经过这几年的建设,它已成为我国生物技术研究的一个重要基地,对我国生物技术和专业人才的培养都将起着重要的作用。

本文作者叶正祥(Yie Zheng Xiang)系上海复旦大学副教授。

科技动态

新型的直接炼钢法

[本刊讯] 据美国《科学美国人》杂志1990年第3期报道,炼钢工作者希望在90年代末研究出一种新的炼钢技术,这种技术能够不用价高而又污染严重的炼焦炉,从而有助于降低生产成本并减少环境污染。

这一技术称为直接炼钢或一步炼钢。

1990年3月中旬,由美国能源部和美国钢铁学会资助的实验性工厂(在匹兹堡附近)进行了第一次直接炼钢试验。该厂用铁和未经净化处理过的煤生产钢水,最终目标是每天生产120吨钢水。1988年后,由能源部和美国钢铁学会开始资助的一个3年内投资3000万美元的直接炼钢项目是该厂的工作重点。其中工业提供的资金约70万美元,其余则由能源部支付。

直接炼钢是把传统的三步炼钢法变成一道工序。目前,一些大型的综合性钢厂为了炼钢,首先是在没有氧的条件下将煤加热生产焦炭。然后,用炽热的空气鼓吹焦炭、铁矿和石灰石并获得铁水。然后用氧和其他化合物净化铁水而生产出纯净的钢水。

但是,在把煤炼成焦炭时会产生许多致癌物。钢铁工业的头头们说,现在的炼焦炉很难达到环境学家提出的90年代的致癌放射物的标准。而建造新的致癌放射物少的纯净的炼焦炉每台可能要花2.5亿美元,这不是一个有吸引力的选择方案。因此大型的炼钢厂面临着很大的难题。

直接炼钢流水线不需要用焦炭炼钢。炼钢工厂一开始就可以用未经净化处理的煤、铁矿和废金属在一个铁水熔池中混合,然后向这些混合物吹氧。煤既是一种还原剂,又是一种产生热量的燃料。在此同时,金属被净化并提纯而形成一种“半钢”(高级铸铁),然后将这种熔化的金属倒进一个钢水包,进一步精炼成半成品(例如,以后可以轧成板材的钢坯)。除北美钢铁工业现在进行直接炼钢技术的开发外,其他国家也在加紧进行直接炼铁的研究项目。日本国际贸易工业部正在组织一个7年内投资1亿美元的项目。奥地利、澳大利亚、南非、联邦德国、苏联也有类似的直接炼铁项目在进行之中。

现在美国进行的直接炼钢项目是要跳过直接炼铁这个计划,因为这可以减少后加工工序而不需要生铁。但要做到这一点还有许多工作要做。正当匹兹堡工厂在熔池中试验熔化工艺的时候,美国麻省理工学院和卡内基·梅龙大学的研究人员也在试验利用由煤-铁反应中产生的气体燃烧后的热来保持高的熔炉温度的途径。如果到1991年,匹兹堡工厂的试验能成功,炼钢工业界可能考虑花1亿美元或更多的经费建立一个实验性工厂,以组织全面的直接炼钢。

最老的大型钢厂也希望在90年代末利用这种直接炼钢技术。但据预测,能从这一技术中获得最大利益的是小型厂而不是综合性的大型炼钢厂,因为小型厂的那些小型设备所受的拖累较少,受官僚主义的制约也较小,容易接受新方法。

(王 竟