

改造生物的技术 (二)

文_孙万儒

孙万儒 中国科学院微生物研究所研究员，博士生导师，中国科学院老科学家科普演讲团副团长、中国生物工程学会继续教育工作委员会主任，曾获北京市科普先进工作者和中国科学院科普先进工作者奖励。



通过基因转移不仅可以改造生物，使之具有我们所希望的生产能力和性能，还可以通过改造基因和转移，使生物能够生产出我们希望的具有全新的功能和性能的新产品，满足我们各种需要。尿激酶的生产及用淀粉生产葡萄糖和果糖糖浆，就是两个典型的例子。

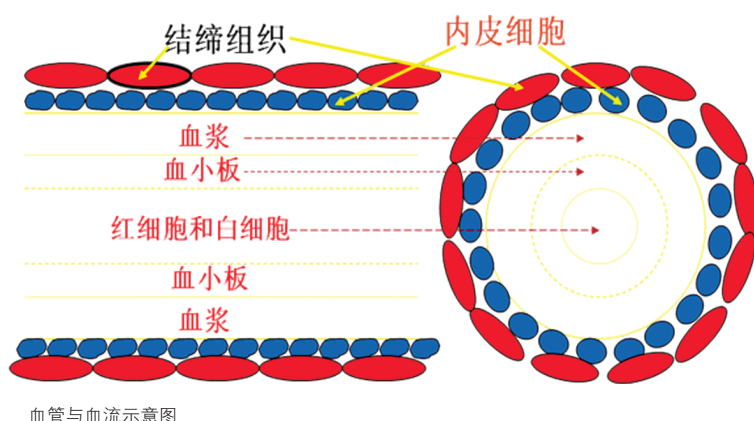
◎ 血栓克星

血液极其重要，与生命息息相关，如果一个人血液停止流动或流血过多就会造成死亡。血液看起来是液体，其实它是由固态的红细胞、白细胞（合占45%）和液态的血浆（占55%）组成。在血浆中，水分占91%~92%，其余的是各种蛋白质、无机盐和其他有机物质。一个体重60千克的成年人，大约有4800毫升血。血液约占人体重的7%~8%，人的体重不同，血量也不同。一般情况下，不是体内所有的血液都参与血液循环，大约有1/5到2/5的血液是储存在肝、脾、肺和皮下毛细血管中，它们是存而不用，所以人们常称之为人体的“小血库”。当人体剧烈活动或少量失血时，储存的血会立即释放出来，参与血液循环，以维持人体的正常生理功能。

由此可见，血液最基本的功能是运输。由肺吸入的氧气以及由肠道吸收的营养物质，都要依靠血液运送才能到达全身各器官和组织，供给全身的细胞使用。如果血液循环中止或血液量不够，机体的有关组织就会因为得不到足够的氧气和营养，不能维持其正常工作，就会坏死。比如大脑细胞，如果停止供给氧气或葡萄糖，大约8分钟后就会开始死亡。另外，身体的各个器官和组织代谢产生的二氧化碳和与其他代谢产生的废物也依赖于血液运送到肺、肾等处排泄出体外，从而保证身体正常代谢的进行。另外，由特定器官产生的激素会直接进入血液，依靠血液输送到相应的器官，使其发挥生理作用，使这些器官正常运转。

血液的主要成分是水，由于血液不断循环并与各部分体液之间广泛沟通，对体内水分和电解质的平衡、酸碱平衡以及体温的恒定等都起决定性的作用。

血液中的白细胞能够吞噬和分解入侵的微生物以及体内产生的衰老或死亡的组织



血管与血流示意图

细胞，血浆中的抗体、抗毒素、溶菌素等能够防御或消灭入侵的细菌和毒素，因此，血液又是免疫防御功能的主要承担者。

我们血管里流动的血液，其各个组分都是严格的按着一定的层次沿着血管向前流动，不能像河里流动的水乱流乱窜。血管里血液正常流动的时候，红细胞和白细胞在血流的中間部分（轴流），它的外面一层是血小板，流动得比红、白细胞缓慢，在血小板的外围是一层血浆（边流），是血浆将血液中的红白血球及血小板和血管壁隔离开，阻止血小板和血管内膜接触。当血流缓慢或血流遇到障碍产生漩涡时，血小板会进入血浆带边流，增加了和血管内膜接触的机会，血小板有可能粘连于内膜上，引发血液凝固，形成血栓。此外，血流缓慢流动和血流产生漩涡时，会激活凝血因子和凝血酶，在局部达到凝血过程所必需的浓度，即可触发凝血，形成血栓。

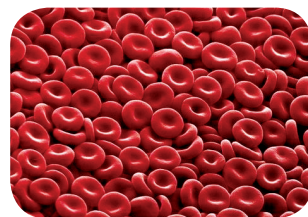
血管畸形、弯曲，或血管内壁出现沉积物，造成血管内壁不平滑，就会引起血流变慢或血流混乱，引起血栓。高血脂、特别是胆固醇过高，会在血管内壁产生堆积，使血管内壁不光滑，引发血栓；另外，高血脂会诱发冠状动脉粥样硬化，随着病情的进展，粥样斑块很容易发生破裂，一旦破裂，血管内皮细胞损伤，会诱发血管收缩，激活血小板，发生粘附、聚集、释放反应，在局部形成血小板栓子，进而造成栓塞和局部心肌缺血，引发心绞痛及心肌梗死。栓塞发生在心脏部位，就是心肌梗死，发生在脑部，就是脑血栓。两者都是严重威胁人的健康和生命的疾病，不能及时抢救就非常危险。

很早人们就发现在人的小便液中存在的尿激酶具有溶解血栓的能力，在临床上可用作血栓病患者的抢救和治疗药物。

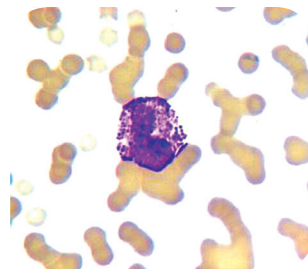
为了生产这种药物，上个世纪七八十年代在我国的一些大城市的公共厕所里都放置了许多大的塑料桶，用于大量收集小便液，然后送到工厂里用于提取尿激酶。由于尿激酶很不稳定，必须使用新鲜的尿液，可以想象，这个工作又脏又累。由于尿中尿激酶的含量非常少，而且杂质很多，提取的工作十分艰难繁琐，直接影响到制得产品的质量和数量，很难满足治病的需要。

现在科学家已经在人体细胞中找到了人的尿激酶基因，然后将其转到大肠杆菌中，构建工程菌。在工厂里通过大量培养工程菌的方法生产的人尿激酶，产品质量高，生产稳定，成本低。因此，现在临床上使用的尿激酶已经不再使用从尿液中提取的尿激酶，而是用基因工程菌生产的产品，因此，公共厕所里的大塑料桶也就消失了。

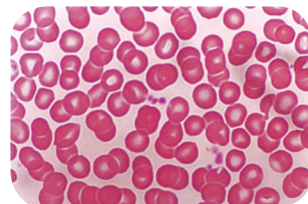
如果有人患了心肌梗死或脑血栓，要及时送到医院进行抢救，通过静脉注射将尿激酶注入病人体内，尿激酶会随着血液流动到达血栓形成部位，血栓在尿激酶的作用下会



红细胞



白细胞

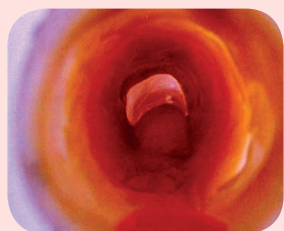


血小板

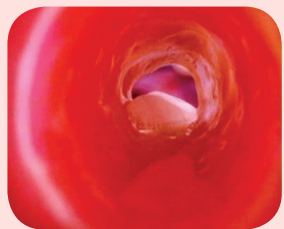


利用基因工程菌生产的注射用尿激酶

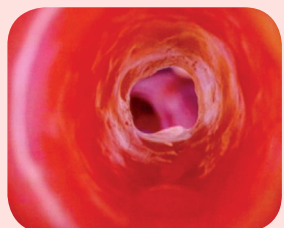
尿激酶溶解血栓的过程



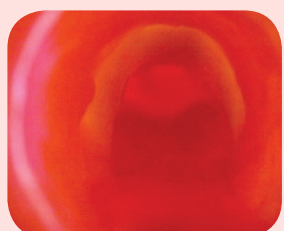
a



b



c



d

a. 血管中形成的血栓 b. 注射尿激酶后血栓开始溶解 c. 血栓已大部分溶解 d. 血栓完全溶解，血液恢复流动

慢慢地溶解，两三个小时后血栓溶解、消除，血液又恢复了正常循环流动，病人获得及时抢救，可以很快恢复健康。如果没有这样的药物，或无法及时抢救和治疗，轻度脑血栓患者会偏瘫，重的会全身瘫痪，甚至会死亡。当然使用这样的药物，必须是在医院里有经验的大夫指导下进行，治疗时的使用量也需要严格控制，因为尿激酶既有溶栓作用，也会引起溶血。如果用量控制不好，会发生副作用。尿激酶对于陈旧性血栓的溶栓效果很差，因此它只适用于血栓病人的初期治疗。如果患病已经有一定时间，一般治疗效果不会很好。

◎ 甜蜜的事业

许多人都有这种经验：吃口馒头或米饭，在嘴里慢慢地咀嚼，时间长了，会觉得饭会变甜。这是为什么？这是因为大米或面粉中含有大量的淀粉，淀粉是由一个一个连接在一起的葡萄糖分子组成，含有大量淀粉的食物在口腔中被咀嚼时，不仅被嚼碎，同时还与唾液混合，而在唾液中含有一种能够将淀粉分子切成短链小分子糊精的酶，被称为 α -淀粉酶。咀嚼的时间越长， α -淀粉酶切割淀粉的时间越长，产生的糊精分子就越短，如果咀嚼时间足够长，淀粉就会有部分被切成只有2个葡萄糖分子连在一起的麦芽糖，它就是我们吃的关东糖的主要成分。所以，长时间咀嚼米饭、馒头会感觉到甜味。

食物在口腔中混合了唾液，开始消化的食物到胃里进一步消化。我们的胰腺还会产生另一种被称为葡萄糖淀粉酶的酶，与消化的食物混合，它能够进一步地将淀粉产生的糊精从“头”的一端将葡萄糖一个一个切下来，最后将淀粉全部变成葡萄糖，然后在小肠被吸收，进入血液，供应我们生命活动使用。这就是淀粉的消化过程。这个由淀粉变成葡萄糖的消化过程，给了人们一个重要的启迪：可以使用类似的方法将淀粉转化为葡萄糖。

对于人来说，葡萄糖是人体的重要能量来源，广泛地应用于医药，具有补充体液、供给能量、补充血糖、强心利尿、解毒等作用。葡萄糖是发酵工业的重要原料，在抗生素、氨基酸、有机酸、维生素、有机溶剂等的生产上广泛应用。而在食品和饮料工业上，葡萄糖是重要的甜味剂。

过去，葡萄糖的生产一直使用的是酸水解法。将含10%的淀粉水中加入0.6%~0.7%的盐酸，在25~28KPa压力和140~150℃的温度下进行水解，经0.5~2小时，淀粉水解成为葡萄糖。但酸水解法只能使90%的淀粉转化为葡萄糖。在这样的高温、高压和强酸性条件下，水解产生的葡萄糖会转变为其他有苦味的糖，并且淀粉和葡萄糖会焦化，形成有很重颜色的焦糖，还会生成其他的物质。因此，水解后形成一锅颜色很深

工业粉状固体 α -淀粉酶

工业粉状固体葡萄糖淀粉酶

的液体，要从这样的水解物中提取出洁白的葡萄糖，要经过中和酸、反复脱色、离子交换脱盐、浓缩和结晶等工艺，造成很大损失。而生产设备需要耐酸蚀、耐压、耐高温，而且水解的设备不能太大，否则水解的工艺条件难以控制。这样的方法生产效率差、成本高。

受到食物消化的启示，人们找到了能够产生水解淀粉的2种酶的许多微生物。产生 α -淀粉酶的多数是细菌，而产生葡萄糖淀粉酶的多数是霉菌。由于从自然界分离的菌种产酶能力较低，过去采用传统的菌种选育和诱变的方法，再配合发酵条件的优化提高菌种的酶产量。用这样的办法提高产酶幅度小、耗时长，限制了酶制剂工业的发展。随着生物技术的发展，现在多利用转基因技术改造产酶菌种，将相应酶的基因，转入原来就产这种酶的生产菌中，使酶的基因数量增加，大幅度提高了酶的产量。然后配合相应发酵技术，在工厂里大规模生产这2种酶。

比如，为了进一步提高工业上应用菌种地衣芽孢杆菌的 α -淀粉酶的发酵生产能力，将 α -淀粉酶基因连接到能够与地衣芽孢杆菌的基因整合的通用表达质粒上，然后转入只有细胞膜包裹的地衣芽孢杆菌的原生质体中，由于表达质粒中带有细菌普遍存在的一段不会发生很大变化的保守DNA序列——16S rDNA，在它的引导下， α -淀粉酶基因整合到具有同样序列的染色体基因组中，使宿主菌具有更多的 α -淀粉酶基因。这种方法使得基因工程重组菌的 α -淀粉酶生产水平提高了56.37%~80.29%。 α -淀粉酶生产菌经过类似的基因改造，使得 α -淀粉酶生产菌的生产能力成倍增加，满足了工业生产的需求。

在生产时，按照食物消化的途径，先将 α -淀粉酶与30%~40%的淀粉乳液混合，以喷射方式瞬间加热到90℃，可连续使淀粉分解液化成糊精，然后降温，再加入葡萄糖淀粉酶，在50~64℃将糊精水解成葡萄糖。这样生产的葡萄糖液颜色很淡，不会产生酸水解时产生的各种物质，淀粉转化率接近100%，然后经过比较简单的脱色和浓缩，就可以大量生产出我们现在使用的高质量葡萄糖。这种生产葡萄糖的方法与酸水解法相比具有更多的优点，更经济，更合理。现在我国的葡萄糖生产已经全部改用酶法。

有人说葡萄糖不甜，吃起来不解馋。生物技术也可以把葡萄糖变甜。这需要另外一种酶，称为葡萄糖异构酶，它主要是由链霉菌或细菌产生。可在37~50℃和有钴和镁离子存在的条件下，将20%~30%的葡萄糖溶液转化为含有42%果糖的高果糖糖浆。由于钴和镁离子对人有毒，在食品中不能存在。因此，

工业生产成的液体 α -淀粉酶

液体葡萄糖淀粉酶



淀粉液化车间



糖化车间

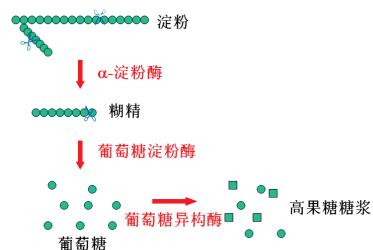
转化之后，需要通过离子交换树脂处理将钴和镁离子除去。这使得生产工艺复杂，成本提高。另外，不论从链霉菌，还是从其他细菌或霉菌产生的葡萄糖异构酶催化葡萄糖转化为果糖的反应转化率一般只有 40% ~ 50%。要想提高转化率，就需要提高转化温度，降低反应的 pH 值，使之从弱碱性变为接近中性。但是，提高反应温度或降低 pH 值都会使酶很快死掉，失去催化转化的能力。因此，近年人们对葡萄糖异构酶的蛋白质结构进行了大量研究，搞清楚了葡萄糖异构酶的结构与催化功能之间的关系，搞清楚了与钴和镁离子结合的蛋白质部位和对酶稳定性之间的关系。从而对葡萄糖异构酶的基因进行了改造，将与催化活性、金属离子结合有关的氨基酸对应的核苷酸继续更换，再将改造的基因转入细菌中，构建了基因工程菌，用发酵法于工业上大量生产葡萄糖异构酶。通过基因改造的葡萄糖异构酶在转化葡萄糖时不再需要钴和镁离子，转化温度可以提升到 60 度，在弱酸性条件下，进行葡萄糖转化，酶稳定性更好，减少了碱性条件下引起的副反应，转化率可以提高到 60%。因此，在生产过程中，缩短了转化时间，省掉了去除金属离子的离子交换工艺，提高了生产效率和产量，降低了成本，也保证了产品质量。

天然酶都是可以溶解在水里的蛋白质，当催化反应完成后，大多数酶还可以再次使用。但是，因为它们和产物混合在一起，要将酶与产物分开十分困难，即使勉强将它们分离开，花掉的成本也会大大增加，非常不合算。因此，在工业应用时，都是在反应结束后，加热将酶杀死，因为死蛋白不溶于水，所以可以通过过滤或离心等方法将酶除去，防止酶污染产品。通过千辛万苦生产的酶只使用一次就杀死不用了，实在是可惜，也是巨大的浪费。

现在人们开发了酶固定化技术。比如，将葡萄糖异构酶结合在一种固体小颗粒上，制成固定化酶，酶就变成固体形式，不溶于水了，这称为固定化葡萄糖异构酶。将它装在一个空心的圆筒里，上面不断地加入 30% ~ 40% 的葡萄糖液，下面连续流出的就是含有 42% 果糖的高果糖糖浆。经过浓缩、去水，生产的就是瓶装的高果糖糖浆。这是一个高度自动化的连续生产过程，生产的高果糖糖浆的甜度与我们现在吃的绵白糖的甜度一样。用这种糖生产的点心口感好、酥软；用它生产饮料，口味甜润、清爽。目前我国利用这种技术每年大约生产的高果糖糖浆可达百万吨。

利用 α -淀粉酶、葡萄糖淀粉酶和葡萄糖异构酶等 3 种酶就将淀粉变成了葡萄糖及与绵白糖一样甜的食用糖。现在人们还可以利用其他酶将淀粉转化为糊精寡糖、麦芽糖、异麦芽糖、麦芽寡糖等用于食品，这就是酶工程的功劳，它使淀粉成为我们的新糖源。

我们上面介绍的只是将基因转移到微生物中的有限实例，实际上仅转基因微生物的应用就已经渗透到我们的生产、生活、健康等各个方面，与我们每一个人都密切相关。可想而知，通过基因转移改造动物、植物，对我们来说它的重要性绝不亚于改造微生物。■



淀粉变糖的示意图



用固定化葡萄糖异构酶生产的高果糖糖浆