

中国生物工程技术新进展

(中山大学生命科学院, 广州 510275) 刘 昕 袁建平

摘 要 简述了我国生物工程技术研究现状及最新研究进展, 介绍了当前国际上基因改良食物风波的产生背景和最新动向, 指出未来生物技术的发展取决于技术平台的宽度和高度, 同时对未来生物工程技术将产生的五个平台展示了前景。

关键词 生物工程技术 进展 中国

Abstract This article reviews the existing situation and the latest progresses of biotechnology in China, introduces the background and trend of the human embryo clone and gene-amended foods at present, indicates that the future developments of biotechnology are dependent on the breadth and altitude of technology platforms, and shows the foregrounds of the future biological technology.

Key words biotechnology; progress; China

中图分类号: TS201.1 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2002)05-0004-04

生物技术在世纪之交已经以众多的成就为我们展示了一卷新世纪的宏图, 从医药革命到绿色革命, 从新能源到永续的生态环境, 生物技术研究进入了一个快速稳步发展的时期。人类重组基因草图的公布成为 2001 年的头号新闻; 同年 12 月, 人类第 20 对染色体基因测序任务的完成, 标志着人类生命天书又完成了新的一章。据统计, 1996~2001 年在人类健康和动物医学领域的世界生物技术贸易额为 400 亿美元; 农业食品领域的生物技术贸易额为 200 亿美元; 1996~2006 年生物技术产品将以每年平均 19% 的速度增长。生物技术的发展对当今人类社会面临的资源与环境、农业与食物、人口与健康, 以至人类自身的遗传进化等重大课题, 都将产生十分广泛而深远的影响。

1 农业与食物生物技术的发展

生物工程正在引发一场新的农业科技革命。2001 年 10 月, 中国水稻(籼稻)基因组“工作框架图”和数据库在我国完成; 中国北方粳型超级稻生产示范田平均亩产达 830.6kg, 开创了超级稻育种及生产技术集成示范项目的国内之最。我国在世界上首次

发现了对光(温度)敏感的水稻核不育系, 并在此基础上建立了两系法杂交稻技术。目前我国已通过审定的两系稻组合共 27 个(次), 推广省份达 16 个, 累计推广面积 5565 万亩, 增产稻谷 30 亿 kg, 增加社会产值 30 亿元。为解决中国 13 亿人口的吃饭问题, 以及世界粮食短缺问题作出了重要贡献。

豇豆胰蛋白酶(CpTI)基因是使用较为广泛的一个抗虫基因, 然而在某些情况下由于 CpTI 在转基因植物中的表达和积累水平较低, 影响了转基因植物的抗虫性。我国在体外对 CpTI 基因进行了改造, 获得了修饰的 CpTI 基因(SCK 基因)。目前 SCK 基因已转入著名的三系杂交水稻恢复系列, 并获得农业部批准进入环境释放。近年在福建进行的大田试验表明, 在完全不使用农药的情况下, 转基因水稻表现出对水稻害虫的明显抗性。我国成功地将 Xa21 基因转入水稻主栽品种中, 转基因抗白叶枯病水稻已获得农业部批准进入环境释放。20 多个抗白叶枯病杂交稻新组合正在全国进行试种示范, 抗病效果十分明显; 我国发现新型苏云金芽孢杆菌(Bt)杀虫基因约 20 余种, 占 Bt 杀虫基因的 1/3。利用这些基因, 构建了 12 株基因工程菌株, 这些菌株的田间实验结果表明, 对棉铃虫、小菜蛾等害虫防治效果达 85% 以上, 可代替化学农药。利用分子生物学技术, 寻找与某个特定基因紧密连锁的 DNA 分子标记, 并用于新品种培育, 可使育种效率比常规育种提高 4 至 8 倍。我国分别建立了水稻、小麦、大豆等作物的 DNA 分子标记辅助育种技术体系, 获得了一批重要的分子标记, 并通过分子标记辅助育种培育了一批优良新品种。

我国采用细胞工程与常规育种相结合, 培育成功了优质、抗赤霉病小麦新品种生抗 1 号和扬麦 9 号。目前已累计推广 313 万亩, 增产粮食 6260 万 kg, 增收节支 7825 万元。我国从近缘野生种簇毛麦中筛选鉴定出抗白粉病基因, 被国际命名为 Pm21, 并已成功导入优质小麦品种中, 育成抗白粉病小麦新品种——扬麦 10 号、扬麦 11 号等, 累计推广 310 万亩, 增产粮食 6200 万 kg。我国在国际上首次将中间

偃麦草的抗黄矮病基因导入普通小麦, 育成了一批抗病新品种, 并开始大面积推广。据不完全统计, 正在进行研究的转基因植物种类达 47 种, 涉及的各类基因 103 个。已有水稻、小麦、玉米、大豆、番木瓜、烟草、马铃薯、杨树等 10 余种转基因植物获准进行田间和中间实验。

转基因耐贮藏番茄是我国第一个批准商品化生产的转基因植物。耐贮藏番茄在室温 (15~35℃) 条件下, 贮藏 56d 时好果率达 70% 以上。采用病毒外壳蛋白基因导入植物细胞的方法, 我国成功培育出转基因抗黄瓜花叶病毒番茄和甜椒, 并通过农业部安全评价, 批准进行商品化生产, 目前在辽宁、北京、云南、福建累计种植 3000 多亩。我国继美国之后在世界上第二个独立培育出转基因抗虫棉花, 并已获准在国内商品化生产。目前已有 6 个品种通过审定, 累计推广面积 550 万亩, 取得了良好的社会和生态效益, 创造经济效益近 8 亿元。

利用转基因技术, 成功地将发荧光的基因转入蚕中, 获得了发荧光的转基因蚕丝, 为进一步改进蚕丝质量打下了良好的基础。利用基因工程菌可高效生产优质 L-蛋氨酸, 经国家法定药检部门检测全部质量指标达到国际标准和我国药典 2000 版标准。采用基因工程菌生产 α -乙酰乳酸脱羧酶表达水平达到每毫升发酵液 900 单位以上, 为世界上最高表达水平的 4~5 倍, 现已在全国近 200 个啤酒厂中广泛应用。植酸酶是一种新型动物饲料添加剂, 我国建立基因工程酵母生产植酸酶技术, 达到了国际领先水平, 并在江西投入生产。

2 医药生物技术的发展

在中药现代化中, 对天然植物的基因、酶和生化、构效进行分析研究, 用生物技术方法提取植物有效成分, 用植物细胞反应器工厂化生产紫杉醇、银杏内脂、青蒿素、紫草宁、麻黄素等, 用动物细胞反应器生产单克隆抗体、干扰素、生长激素、生长因子、酶等药物。‘动物个体生物反应器’的研究已开展多年, 中国科学院发育生物研究所已成功构建在乳腺中高表达 EPO 的转基因白羊 50 头。上海医学遗传所获得 5 头能表达凝血因子 LX 基因的转基因山羊, 其中一头进入泌乳期的乳头中已测得 LX 因子蛋白。我国藏北高原通过人工抚育已培植出半野生冬虫夏草, 将半野生抚育冬虫夏草的生活周期由自然界的 6 年以上缩短到 4 年以内。

我国在国际上首次发现了神经性高频耳聋和乳光牙本质 II 型两种遗传病的致病基因, 结果均发表在国际权威刊物《NATURE GENETICS》上。我国还开展了肝癌、鼻咽癌、食管癌、白血病、高血压、糖尿病等的基因定位和相关基因研究。特别是急性早幼粒白血病相关基因研究, 从基因水平研究发病机理并

应用于指导临床治疗。

我国已从心血管、造血-免疫、神经发育和内分泌等系统克隆到 1000 余条新基因的全长 cDNA, 占人类全部基因的 1%~2%。其中一些新基因在人类染色体上的位置已经确定。基因治疗关键技术取得重大突破。创建了高效、靶向性非病毒介导的基因导入系统; 建成了滴度高、可规模化生产的腺相关病毒载体, 并成功应用于血友病的基因治疗; 建立了嗜神经细胞的疱疹病毒载体, 可不经手术将外源目的基因沿嗅神经通道导入脑部相应区域。上述三类基因治疗用载体, 均具有我国自主知识产权, 各技术指标达到国际先进水平。一批基因治疗方案进入临床试验。B 型血友病、恶性脑胶质瘤、恶性肿瘤、阻塞性外周血管病等 6 个基因治疗方案进入或即将进入临床研究, 其中血友病和恶性脑瘤的基因治疗取得良好的治疗效果, 为遗传病和恶性肿瘤等疑难疾病提供了一种新的有效的治疗途径。

我国现有慢性乙肝病人约 2000 万人, 研制出有效治疗乙肝的药物是我国科学家的愿望。经多年研究发现, 乙肝表面抗原-特异性抗体二重复合物能有效消除乙肝表面抗原的免疫耐受性, 使人体产生免疫应答, 消除病毒, 达到治疗目的。该项成果已获得国家发明专利。目前这种治疗性疫苗正开展产业化开发, 有望近期进入临床试验。我国研制成功“口服重组 B 亚单位/菌体霍乱菌苗”和“冻干口服福氏 2 α -宋内氏痢疾双价菌苗 FSM2117”, 均已获国家一类新药证书, 为霍乱和痢疾的预防提供了有效的疫苗。我国首次发现灵芝孢子脂质生物活性物质具有明显的治疗乙肝和抑制肿瘤作用, 成功地通过超临界二氧化碳流体萃取技术将占灵芝孢子总重量 37.5% 的灵芝孢子脂质生物活性物质完全萃取且保持品质稳定, 是继攻克微米级灵芝孢子破壁世界难题之后取得的又一开创性的重大突破, 对开辟治疗乙肝和癌症新途径将具有极其深远的意义。可望开发为应用于肿瘤和 HBV (乙肝病毒) 感染者和糖尿病患者的无毒副作用药物。

我国目前已投放市场的产品有: 外用 α -1b 型干扰素、注射用 α -1b 型干扰素、 α -2a 型干扰素、 γ 型干扰素、白细胞介素 2、人胰岛素、人生长激素、链激酶、粒细胞集落刺激因子、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子、红细胞生成素、外用碱性成纤维细胞生长因子、外用牛碱性成纤维细胞生长因子、外用表皮生长因子、乙肝疫苗、福氏-宋内氏双价痢疾菌苗、口服霍乱菌苗。通过对胰岛素蛋白结构的改造, 得到了速效单体胰岛素, 并获得了国际专利。在基本保留天然胰岛素生物活性的前提下, 大大加快了降血糖的起效时间。

此外, 已批准进入临床的基因工程药物有: 治疗

糖尿病的重组人工胰岛素 (Insulin) 抗血栓的葡激酶 (SAK) 治疗骨髓移植及再障性贫血的重组白细胞介素-3 (IL-3) 治疗癌症及免疫缺陷的白细胞介素-2 (Ser¹²⁵IL-2 和 Ala¹²⁵IL-2) 及肿瘤坏死因子 (TNF) 衍生物等近 10 种药。

正在进行临床前研究的尚有: 治疗血小板增殖、贫血的血小板生成素 (hTPO) 治疗骨髓移植及癌症的白细胞介素-6 (hIL-6) 治疗癌症及免疫缺陷病的白细胞介素-12 (hIL-12) 和白细胞介素-15 (hIL-15) 医治 II 型糖尿病的一类胰岛素生长因子 (IGF-1) 以及人血清蛋白、肝细胞生长因子等 10 余种。

基因治疗方面亦获得可喜进展, 1991 年首例 B 型血友病的基因治疗临床试验获得成功, 用自行分离克隆的 HSV-TK 基因治疗脑恶性胶质瘤的基因治疗方案, 已完成特殊批准的 10 例临床试验, 证明基本完全有效, 现已正式进入 I 期临床试验。

基因工程疫苗方面, 自 1992 年基因工程乙肝疫苗获准大规模生产投放市场以来, 已有 CT 缺失霍乱疫苗、双价痢疾疫苗、重组狂犬疫苗、重组疟疾疫苗、重组流行性出血热疫苗、重组血吸虫病疫苗、重组麻疹病毒疫苗等十几种疫苗将投入试生产或正式生产, 在预防疾病中起到了很好的社会效益和经济效益。

3 海洋生物技术的发展

我国在海洋生物技术课题研究方面取得了一些可喜的成果。“海洋粘细菌合成 epipthilones 类代谢物的前期开发研究”完成了有关抗肿瘤药物 epothilones 类化合物样品中试规模的发酵制备, 完善了分离纯化技术并获得了纯化样品, 建立了筛选抗肿瘤药物的微管模型; “石斑鱼性控技术及批量育苗”首创外源混合激素诱导石斑鱼性逆转技术, 为规范批量育苗奠定了基础; “基因转移及合子融合培育快速生长的皱纹盘鲍”克隆了皱纹盘鲍肌动蛋白启动子, 构建了鲍鱼启动子的表达载体, 获得了转生长激素基因的皱纹盘鲍; “中国水母绿色荧光蛋白基因的获得、改造及应用研究”获得了中国水域绿色荧光蛋白基因, 在较高培养温度下产生的绿色荧光明显强于目前广泛使用的 EGFP; “对虾白斑症病毒病的现场快速诊断技术研究”为对虾育苗场、养殖厂的各种幼体、虾苗、成虾进行白斑病毒的诊断, 并根据病情提出有效的防治手段; “超声导入鱼病疫苗的研究”首次利用超声波导入鱼病疫苗并获得成功; “大珠母贝幼龄贝氨基糖饲料添加剂及其应用”对于增强大珠母贝幼龄贝营养、提高大珠母贝幼龄贝的免疫力, 从而在准中试水平上把大珠母贝 1 龄贝的成活率从原来的 1% 左右提高到现在的 40% 以上, 具有重要的理论意义和显著的经济价值。

我国已建立海带配子体无性系微繁殖的育苗技术, 用藻类光合反应器培养, 海带幼孢子体 (幼苗) 密度达到每升 7.2 万株。紫菜良种丝状体接种贝壳育苗技术已推广应用于生产, 同时建立了紫菜的膨大藻丝无性系用反应器微繁殖的无贝育苗技术。用微藻作宿主转药用基因的微藻用反应器直接生产口服药物已完成中试, 开始走向产业化。

虾青素 3,3'-(二羟基(4,4'-(二酮基-β-胡萝卜素))是重要的类胡萝卜素, 具有比 β-胡萝卜素更为有效的抗氧化作用, 比 α-生育酚高 500 倍, 我国“大规模放养雨生红球藻产业化项目”已进入中试阶段, 通过采用封闭式光生物反应器和开放式薄层生物反应器相结合的现代生物培养技术培养雨生红球藻, 可以获取具有很强生物活性的虾青素, 该成果引起了国际同行的关注。

“转基因微藻高密度高表达培养技术研究”解决了转 MT 基因微藻培养过程中 MT 表达量测定的 ELISA 方法, 进行了转 MT 基因集胞藻 6803 和野生藻自培养、混合培养和光合放氧特性研究; “海带硫酸多糖的结构分析及其生理活性的研究”进行了海带硫酸多糖的分级及主要组分的结构解析、抗氧化特性和抗肿瘤作用的研究; “循环气升式超声波破碎浸提海藻多糖及凝聚相萃取分离分级方法研究”形成一条新的海藻多糖提取分离新工艺, 还可以用于其他天然药物的分离提取。

对虾的三倍体、四倍体育苗, SPF 无特定病原对虾种苗开始试用, 虾病的检测和预防技术正在进行试用示范, 贝类三倍体育苗、鱼类性别控制和转基因鱼分别进入生产中试和试养。建立了快速生长的转基因罗非鱼品系并进行了安全性评价; 对转基因罗非鱼进行了 3 倍体诱导, 发现 3 倍体转基因罗非鱼尽管生长不如转基因 2 倍体快, 但优于未转基因的 2 倍体鱼, 同时, 转基因 3 倍体雌鱼是完全不育的, 因而具有推广价值。基因工程鱼商品化的条件已经具备, 即将走向市场。

4 基因改良食物风波

目前转基因食品问题, 似乎主要已不是科学问题, 而是比科学问题更复杂的公众接受程度、环境极端主义者、贸易保护、企业利益和反垄断情结等各种社会和经济问题的交织。1999 年 6 月八国首脑会议上专题讨论了这个问题, 2000 年 1 月, 联合国在蒙特利尔召开的、有 133 个国家参加的基因改良食品会议上, 以美加为代表的一方和以欧洲为代表的另一方, 经过激烈争论达成的《生物安全议定书》草案中的“预防性原则”提出, 基因改良食品出口到一个国家时, 这个国家如果认为对环境和人的健康有害, 有权禁止进口; 同年 2 月, 400 多名科学家、环保行动者、企业界人士和政府官员又在爱丁堡围

绕转基因食物问题举办大型论坛,会议“希望澄清一场混乱的争论:这场争论使科学蒙上阴影,给民众带来了恐惧,在欧洲和美国之间种下了一场潜在的贸易冲突”;3月,国际食品规格委员会在日本召开会议,对基因改良食品的国际安全标准作了专门讨论。

出于利益和公众接收程度的考虑,不同业界和国家的看法和政策取向各异,一场纷争还在继续之中。可以相信,面对“生物技术革命”的挑战,基因改良动植物及其产品将会更加规范和有序地出现一个新的高潮。

5 展望

生物技术的无限生机在于地球上的生命历经漫长的进化保留下来的各种基因、各种蛋白质和各种生命过程都有可能逐渐地为人类所用。未来生物技术的发展取决于技术平台的宽度和高度,已有的DNA重组、细胞培养和DNA芯片三个平台,已经取得的成果或产业,诸如基因治疗、基因工程药物、转基因植物、克隆动物、诊断试剂等都是这些平台上的产物;预计在新世纪还会形成几个新平台。第一是基因级平台,目前已有数十种微生物和四种模式生物(酵母、线虫、果蝇和拟南芥)的基因组全序列已进入数据库,人类基因组全序列的草图也刚完成,这意味着数以十万计的基因及其编码的蛋白质可供基因工程和蛋白质工程的操作,从而大大扩展生物技术的产业范围。第二个平台是生物芯片,它是分子生物学与化学和物理领域的多种高新技术的交叉和融合。从DNA芯片延伸到含各种生物分子的硅片最终将与纳米技术相结合,使离体操作的芯片发展成为可在活体内执行某种功能的组件。第三个平台是干细胞生物学,它是克隆动物和克隆组织器官的基础。正在发展的技术关键是控制有全能性或多能性的干细胞的分化发育,如神经干细胞可发育成神经系统各种类型的细胞。这一平台的完善将为医学上的器官移植,农业上优良家畜的繁殖带来革命性的进展。第四个平台是生物信息学,目前生物信息学已经广泛用于基因组蛋白质组的研究,但是随着大多数基因和蛋白质功能的阐明,将会出现一个新发展前景,这就是计算机上模拟细胞内和机体内的生化代谢过程,甚至模拟进化的历程,这将使生物学真正进入理论生物学的新时期。用计算机设计生物新类型的高技术也将会变成现实。第五个平台是神经科学,目前国际上正在开展神经生物学的大科学计划。人类的高级神经活动如感觉、认知和思维终将在分子水平和细胞水平上被解析。在不远的将来,就会在这个平台上出现新的生物技术,一方面为人类自身的精神疾患带来福音,

另一方面也会由此产生高度智能化的计算机和机器人。

诺贝尔奖得主李远哲说:“在以后的一二百年内,我们将会看到急速发展中的生物技术,尤其是当生物技术对医药和农业的应用开始了实质性的进展后”。他又说:“如果亚洲国家真要创造奇迹,也许要投入科学的研究与高技术的发展,生物技术也许是亚洲国家能够创造奇迹的一个契机”。李远哲的生物技术奇迹——契机论意在人贵有先知和善争先机。工业革命时期,机械技术之于英国,化工技术之于德国以及信息技术之于今日美国已载诸历史,而将放异彩于21世纪的生物工程技术又会花落何主?人们将拭目以待。

参考文献

- 1 林琳,等.生物技术领域取得令人瞩目的成就.生物工程进展,2001,21(3):3~7
- 2 朱立煌.展望21世纪的生物技术.生物工程进展,2001,21(1):3
- 3 郭俊,王燕.生物技术产业—21世纪新的经济增长点.生物工程进展,2001,21(1):58,46
- 4 中国科学院.科学发展报告,2001
- 5 唐启升.中国工程科学,2001,3(2):7.
- 6 陈小君,刘昕,等.启动激活赤灵芝孢子粉对肿瘤组织端粒酶活性抑制作用的研究.中草药,2001,32:135~136
- 7 刘红.世界生物技术的发展 and 展望.国际技术经济研究,2000,3(2):45~50
- 8 石元春.关于生物工程产业.中国工程科学,2000,2(7):34~37
- 9 范云六,张春义.21世纪农作物生物工程的发展与展望.中国工程科学,2000,1(2):28~33
- 10 Crawley, M. J., Brown S. L., Hails, R. S., et al. Biotechnology - Transgenic crops in natural habitats. Nature, 2001, 409(6821): 682~683
- 11 Varmus, H., Schaal, B. Forum for agricultural biotechnology debates. Science, 2001, 292(5525):2252~2252
- 12 Lorenz R. T., Cysewski, G. R. Commercial potential for Haematococcus microalgae as a natural source of astaxanthin. Trends in Biotechnology, 2000(18):160~167
- 13 Yuan, J. P.; Chen, F. Purification of trans-astaxanthin from a high-yielding astaxanthin ester-producing strain of the alga Haematococcus pluvialis. Food Chem., 2000, 68 (4): 443~448
- 14 Mann V., Harker M., Pecker I., Hirschberg J. Metabolic engineering of astaxanthin production in tobacco flowers. Nature Biotechnology, 2000(18):888~892
- 15 The Abstract of 5th International Marine Biotechnology Conference (IMBC2000) 29 September -4 October,2000, Townsville,Australia