

遗传工程及其应用前景

罗进贤 温晋

遗传工程的出现，是分子遗传学的一项重大突破。

遗传工程或称基因工程，简单说来是将基因（遗传物质的单位）从一个生物转移到另一个生物的技术。即是在分子水平上在生物体外用人工方法进行遗传物质（DNA）的重组。再重新输入生物以改变生物性状，创造生物新品种的一门新兴的学科。它是分子遗传学的一个分支，是随着分子生物学的发展在六十年代末、七十年代初发展起来的。它和常规育种的区别，就是突破了种的界限，极大地扩大了基因交流的范围。譬如说，不仅细菌异种间可以交流基因，甚至细菌与动、植物及人类都能交流基因。遗传工程不仅对生物学有着重要的理论意义，而且在工、农、医等方面的实际应用也展示着美好的前景。值得注意的是帝国主义者还可能利用它来进行生物战争，我们必须研究对付的方法，因此，在国防上它也同样具有重要意义。

遗传工程产生的历史背景

微生物遗传学很早就发现所谓转化（transformation）现象。即一个供体菌种的遗传物质DNA（脱氧核糖核酸），被另一个受体菌种吸收后，后者就能获得前者某些遗传特性。此后又发现所谓转导（transduction）现象。即噬菌体（一种能感染细菌的病毒）在感染第一宿主细菌被释放出来再感染第二宿主细菌后，往往能将前者的某些基因带给后者，使其表现出第一宿主的某些遗传性状。

除了噬菌体有转移基因的能力外，六十年代中期还发现细菌里一种带有抗药性基因叫做R因子的质粒（plasmid）也有这种能力。它是一种环状DNA，仅有细菌染色体（绝大部分的基因都在染色体上）大小的1%左右。这种很小的带有抗药性基因的质粒，很容易通过接触而进入其它同种或异种的细菌体内。当它进入之后，就将抗药性基因带了进去，使本来不具抗药性的细菌也变成了抗药性的菌种。此外，这种质粒在细菌体内还不时与染色体产生重组（交换部分基因），因此往往也能将供体细菌染色体上的各式各样基因带一部分到受体菌内，所以这种质粒和噬

菌体一样被看成基因的运载工具。

当质粒在供体菌内与染色体发生重组的结果,使质粒带上染色体上的一些基因,利用质粒能在一些细菌种间通过接触自由出入的特性,就能实现种间的基因转移。但是这些体内重组的机会还是比较低的,而且只限于供体菌自身的基因重组。能不能将质粒接上其它各类生物基因,实现远缘生物间的基因转移呢?假使将质粒这个运载工具比喻为只能运载特定人员的专用汽车,那么它能不能成为运载各种人员的公共汽车呢?

当六十年代末发现了限制性核酸内切酶后,上述希望变成了现实,遗传工程这门新兴技术也就随之建立了起来。

遗传工程技术

遗传工程技术的几个主要部分,①不同来源的DNA分子的断裂和连接方法,②能够连接外来DNA断片并自我复制的基因运载体,③把重组的DNA分子即杂种DNA分子引入异种细胞以形成无性繁殖系的方法。

目前常用的遗传工程技术是在体外用酶的方法将目的基因(外来的DNA断片)与合适的载体重组形成杂种DNA分子(也就是体外重组),然后把这个分子用转化或转导的方式引入受体细胞,再进行无性繁殖。

(1) 目的基因的来源

① 化学合成。自1970年首次合成含77个碱基对的酵母丙氨酸tRNA的基因以来,现已合成含126个碱基对的细菌酪氨酸tRNA的基因及其促进子和终止子,并已证明有生物功能。

② 酶促合成。即利用反转录酶以mRNA为模板合成相应的DNA。目前已合成人、兔、鸡、鼠等多种血红蛋白的基因。

③ 从微生物、植物、动物中,用物理、化学和生物学方法分离基因,目前已分离的有20多种,主要是原核细胞的基因。

(2) 基因运载体

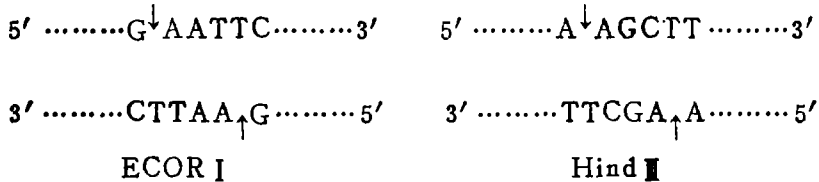
① 细菌质粒。是细菌染色体外的DNA单位,它是一种双链环状的DNA分子,通常是将带有质粒细菌溶解后,用密度梯度离心分离,并用凝胶电泳方法进行鉴别。它能在细菌之间传递,自我复制,影响遗传性状,但失掉了它也不影响细菌的生存。作为遗传工程载体的质粒,除了自我复制并能复制外来的DNA断片的能力外,还带有选择性标记如抗药性等。目前在自然界中发现的抗药性因子(R-因子)、性因子(F-因子)、大肠杆菌素因子(Co1E1-因子)等都是质粒。遗传工程中常用的质粒如psc101, pMB9, λ dv等都是经过人工改造的。

② 病毒。作为基因载体的病毒有 λ -噬菌体和S. V 40病毒。前者是一种温和噬菌体,寄主是大肠杆菌,其遗传结构已基本弄清楚,后者是在猴体内繁殖的球形

DNA病毒。

(3) 工具酶

① 限制性内切核酸酶，碱基专一性很强的内切核酸酶，能将双链的DNA分子断裂成可由人工处理的断片，它能识别DNA的特异碱基顺序，切断的DNA形成粘性末端，与用同一种酶切开的任何DNA的粘性末端重新结合（连接），这对于基因的分离和DNA的重组是很有利的。下面是EcoRI酶及Hind III酶的切断部位及碱基顺序。



② DNA连接酶，1967年发现，它能修复DNA（包括单链DNA）的断裂，使不同的DNA断片连接起来。

(4) DNA的体外重组

体外重组是利用限制酶和DNA连接酶使不同来源的DNA分子重新组合生成杂种DNA分子的方法。外来的DNA与载体DNA用同一种限制性核酸内切酶切后生成相同的粘性末端，当它们在一起的时候就能互相粘合，再经DNA连接酶连接起来形成杂种DNA分子。

(5) 转化及无性繁殖

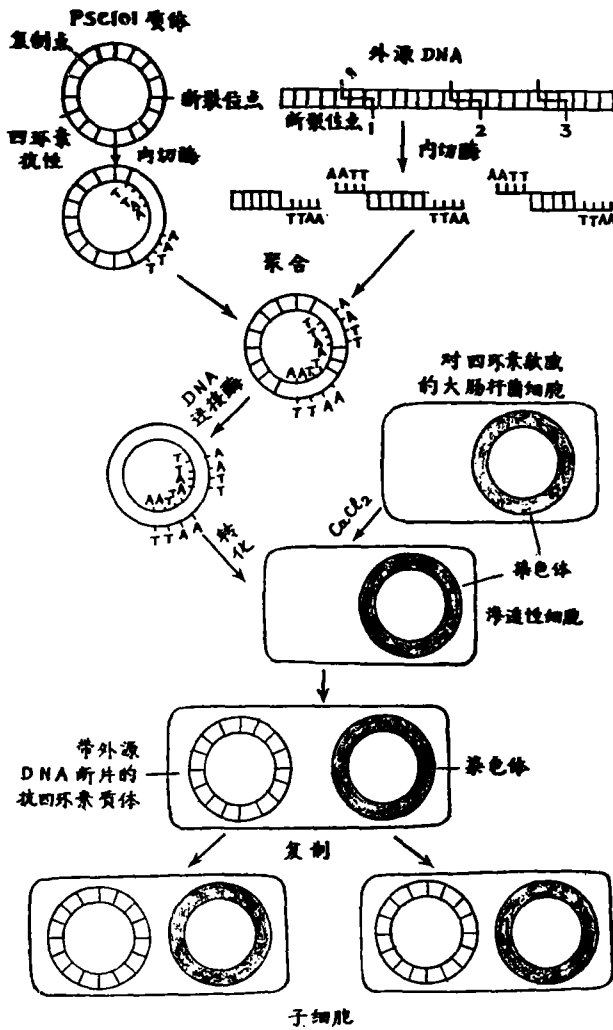
转化是将经过重组的DNA分子引入异种细胞的一种手段。例如用CaCl₂处理大肠杆菌后，这种重组DNA分子即能通过细胞膜进入大肠杆菌细胞，在大约一百万个细胞中，仅有一个细胞吸收了重组的DNA分子，产生一个无性繁殖系。由于吸收了杂种DNA分子的细菌细胞带有质粒提供的抗菌素抗性，在抗菌素存在下仍能生存和繁殖，而其余细胞则死亡，故这些少数细菌细胞可以被挑选出来。

附图是遗传工程技术图解，说明外源DNA被接在psc101质粒上而且随质粒引入大肠杆菌的过程。

目前应用遗传工程技术已实现了20多种基因重组并转入异种细胞，其中大部分是在原核细胞（细菌）之间进行的，在真核细胞与原核细胞之间的重组转移实验成功的还不多。下面是具有代表性的两个实验：

① 不同细菌种间的重组，1974年S. N. Cohen等将PI258质粒DNA（金黄色葡萄球菌质粒，对青霉素、红霉素等呈抗性）和psc101质粒DNA（大肠杆菌质粒，对四环素呈抗性）用EcoRI酶切断，再用连接酶连接成杂种质粒psc112，通过转化方式引入大肠杆菌进行无性繁殖，从而使受体大肠杆菌获得对四环素和青霉素抗性。

② 细菌与动物之间的重组，1974年J. F. Morrow等人，将南非蟾蜍的核糖体RNA的结构基因与psc101质粒连接，并转化到大肠杆菌中去，这个重组质粒能在



附 图

寄主大肠杆菌中复制，并转录出蟾蜍的核糖体RNA说明动物细胞基因也能在原核细胞中复制自己。此外亦有将细菌基因转移至高等动、植物细胞中去的报导。

目前，这类实验虽然还未能合成有重大实践意义的新种，但从最近短短几年内实现的基因转移的物种范围，以及各国争先投入的人力物力看来，遗传育种科学上的一次巨大飞跃正在酝酿之中。

遗传工程应用前景

遗传工程是一门基础理论性强、探索性大的学科，随着近年来限制性内切酶及

载体的分离和应用, 基因分离和体外重组技术的发展, 它在工、农、医等方面的实际应用已出现良好的前景。

当前世界各国在遗传工程上集中力量探索的有以下一些重大研究课题。

一、固氮基因的转移

世界粮食作物增产的一个重要限制因素是氮肥的供应不足。据国外一些专家估计, 未来十年为了满足人口增长的粮食需要, 须投资200亿美元从事氮肥厂的增建。若能将固氮细菌或固氮蓝藻的固氮基因转移到粮食作物的根细胞中, 使作物能直接利用空气中取之不尽的游离氮, 不仅从根本上解决了氮肥的供应, 同时大大节约了能源(目前全世界每天用于制造氮肥而消耗的石油约达200万桶), 减少了环境污染。根据目前遗传工程所拥有的手段及发展情况, 从事这项研究, 估计最多只需上述氮肥厂增建投资的百分之一甚至千分之一就能取得突破。因此, 这项研究是世界性的角逐焦点。

其次, 在农业方面人们还在考虑应用遗传工程技术培育抗病、耐寒、低脂肪高蛋白的新品种。

二、利用发酵工业生产高等生物体内合成的物质

微生物繁殖迅速, 可以用工业方法生产, 不受气候、土壤等自然条件的影响。假使将当前提取困难, 产量很低的一些激素, 免疫蛋白等生物制品的有关基因, 转移到微生物为大肠杆菌中, 利用大肠杆菌生长快, 容易培养等特点, 由发酵工业生产这些物质, 就能成百成千倍地提高产量, 大大降低成本。据我国医药界估计, 即使用全国牲畜的胰腺提取胰岛素, 也只能满足实际需要量的三分之一。目前正在研究将动物胰岛素基因引入大肠杆菌中。这也是一个世界性的研究课题, 各国都在集中力量进行这方面的工作。

此外, 应用于回收贵重金属, 净化海水, 环境保护等也有不少报导。

三、医学上的基因治疗

在医学上目前已发现的一千余种遗传病中, 有一百多种已确定是由于基因缺陷而使体内某种酶激素或转移蛋白不能合成而导致代谢障碍。对此, 当前医学的对策仍限于治标不治本, 如对糖尿病人只能终生注射胰岛素来维持生命。远缘种间基因转移的成功, 为根治某些遗传病提供了可能性。所谓“基因疗法”, 就是将外源性基因(DNA断片)引入病人体内以取代或矫正其缺陷基因, 最后根除疾病。如将含精氨酸酶基因的兔乳头瘤病毒注射进高精氨酸血症的病人身上以降低病人血中的精氨酸就是一例。人们还设想人工合成终止癌细胞繁殖的基因以根治癌病。

遗传工程是一门正在发展的非常活跃的分子生物学的新领域, 对于生物学理论的发展和实际应用都是十分重要的。有人认为这是二十世纪生物学的最重要成就之一。尽管以上提到的仅仅是一些应用于实际的可能性, 还有不少困难尚待克服。但是从目前遗传工程所拥有的手段和发展速度看来, 实现上述的前景不过是时间问题。