

基因治疗

成 军 斯崇文 著

学 苑 出 版 社



84-7.9

98806

基 因 治 疗

成 军 斯崇文 著

学 苑 出 版 社

C0163580



内容提要

本书阐述基因治疗的概念、理论、技术及基因治疗在各系统疾病治疗中的应用。本书分设 20 章,系统介绍基因治疗中目的基因获得的方法、靶细胞种类的选择、基因转移的方法、基因表达的调控,遗传病、肿瘤、病毒感染性疾病及心血管、消化、呼吸、内分泌、血液、神经以及免疫等系统疾病的基因治疗的研究进展等。本书适合于高等院校遗传、生化、医学等专业人员和研究机构从事基因治疗研究者及临床医师等学习参考。

(京)新登字 151 号

基因治疗

著 者:成 军 斯崇文

出版发行:学苑出版社 邮政编码:100032

社 址:北京市西城区成方街 33 号

印 刷:永清县印刷厂

经 销:各地新华书店

开 本:850×1168 1/32

印 张:14.625 字 数:350 千字

印 数:2000 册

版 次:1993 年 12 月北京第 1 版

1993 年 12 月第 1 次印刷

ISBN 7-5077-0687-7/R·114

定 价:18.00 元

前 言

本世纪中叶分子生物学的理论与技术的迅猛发展，推进了整个生物学及医学领域的巨大进步，并导致了基因治疗这一全新临床医学治疗技术的出现。在短短十余年的时间里，基因治疗的理论逐步得到了完善，基因治疗技术逐渐走向成熟。

基因治疗的出现，不仅使遗传病第一次有了根治的可能，而且在控制恶性肿瘤、病毒感染性疾病等领域中的作用也已初见端倪，而且已渗透到呼吸、消化、血液、内分泌、神经及免疫系统疾病治疗的各个方面。九十年代国外开始开展人体基因治疗实验，已取得了令人瞩目的成就。越来越多的人体基因治疗计划正在不断得到批准。有人乐观地预测：二十一世纪的人类基因治疗，就象二十世纪抗生素的应用和免疫预防一样，将给人类的健康事业带来极其深远的影响。

近十年来，基因治疗逐渐被世人所接受，基因治疗的社会伦理问题已基本得到解决，而且其安全性也有保证。我国遗传病的基因治疗，特别是血友病和地中海贫血病的基因治疗已列入重大科研计划，并取得突破性进展，已走在了世界的前列。但总的来讲，我国基因治疗研究还不够系统，还缺乏强有力的基础研究支持。但基因治疗技术的重要性和发展前途已被世人所重视。为了推进人体基因治疗技术的研究和应用，我们在查阅大量文献的基础上，结合自己在肝脏病基因治疗研究的一些体会，编写了我国第一本有关基因治疗的专著。

本书的前九章是有关基因治疗的总论部分，后十一章是基因治疗的各论部分。总论部分介绍了基因治疗概念、策略和发展过程，介绍了目的基因的三个主要来源，基因治疗靶细胞的选择，基因转移技术，基因转移后的表达调控和基因治疗的管理。各论部

分介绍了遗传病、肿瘤、病毒感染性疾病，以及呼吸、循环、消化、血液、内分泌、神经及免疫系统疾病等的基因治疗研究情况。目前各系统遗传病和肿瘤的基因治疗研究较多，因此各论中每一系统基因治疗的研究，以这两大类疾病的研究占相当大的比重。这种情况应该是暂时的，基因治疗技术同样在人类常见病和多发病的治疗中更有用武之地。

我们目前从事肝脏疾病基因治疗研究，并为本书的写作查阅了大量文献，但基因治疗发展迅速，本书可能挂一漏万，同时由于水平所限，书中存在的缺点和错误，希望读者批评指正。如果读者能从本书中了解基因治疗的要点和发展趋势，实为作者之原意。

成 军 斯崇文
于北京医科大学第一医院
1993 年 5 月 20 日

目 录

第一章 基因治疗概论	(1)
第一节 基因治疗的概念和策略	(1)
第二节 基因治疗的条件	(2)
一、目的基因的获得	(2)
二、靶细胞的选择	(3)
三、基因转移的方法	(4)
第三节 基因治疗的程序	(4)
一、基因治疗的步骤	(4)
二、基因治疗的疗效影响因素	(8)
第四节 基因治疗的发展	(9)
一、基因治疗的形成阶段	(9)
二、基因治疗的实验阶段	(10)
三、基因治疗的临床应用阶段	(11)
第五节 基因治疗的地位和作用	(12)
一、基因治疗的地位	(12)
二、基因治疗的作用	(12)
参考文献	(14)
第二章 基因的克隆化	(15)
第一节 基因克隆化的基本原理	(15)
一、基因克隆化的概念	(15)
二、基因克隆化的条件	(16)
三、基因克隆化的意义	(16)
四、基因克隆化的理论基础	(16)
第二节 基因克隆化的工具酶	(17)
一、限制性内切酶	(17)

二、DNA 聚合酶	(18)
三、RNA 聚合酶	(20)
四、DNA 连接酶	(20)
五、其它酶类	(20)
第三节 基因克隆化中的载体	(20)
一、质粒载体	(21)
二、 λ 噬菌体载体	(22)
三、粘粒载体	(23)
四、单链丝状噬菌体载体	(23)
五、载体的选择	(24)
第四节 基因克隆化程序	(25)
一、真核细胞 mRNA 的制备	(25)
二、cDNA 双链的合成	(26)
三、双链 DNA 的克隆	(27)
四、重组质粒的鉴定	(27)
第五节 真核基因组 DNA 的克隆	(29)
一、染色体 DNA 克隆的载体	(29)
二、从哺乳动物细胞中分离高分子量 DNA	(30)
三、染色体 DNA 文库的建立	(31)
四、染色体 DNA 文库的筛选	(31)
参考文献	(32)
第三章 基因的人工合成	(34)
第一节 基因人工合成的发展和策略	(34)
一、基因人工合成的发展	(34)
二、基因人工合成的策略	(35)
第二节 核酸小片段的人工合成	(35)
一、化学合成法	(35)
二、酶促合成法	(42)
第三节 核酸大片段的人工合成	(43)
第四节 基因人工合成的应用	(48)

一、合成功能全基因	(48)
二、引物合成	(49)
三、制备分子杂交探针	(50)
四、制备 DNA 接头片段	(50)
五、研究基因的结构和功能	(51)
六、基因的定向序列突变	(51)
参考文献	(52)
第四章 基因的 PCR 扩增	(53)
第一节 PCR 技术的发展	(53)
第二节 PCR 技术的原理	(55)
一、引物的选择与合成	(56)
二、目的 DNA 片段的扩增	(56)
三、PCR 扩增产物的分析鉴定	(59)
四、PCR 技术的特点	(61)
五、PCR 应用中应该注意的问题	(63)
第三节 PCR 扩增目的基因	(64)
一、PCR 扩增目的基因的特点	(65)
二、以 RNA 为模板扩增目的 DNA	(66)
三、以 DNA 为模板扩增目的 DNA	(68)
四、目的 DNA 的纯化分离	(69)
第四节 PCR 技术的应用	(69)
一、遗传性疾病的基因诊断	(69)
二、病毒性疾病中病原的检测	(73)
三、PCR 技术在癌基因检测中的应用	(76)
四、PCR 技术在突变体和基因重组体 构建中的应用	(77)
参考文献	(78)
第五章 基因转移的靶细胞	(80)
第一节 靶细胞的选择条件	(80)
一、发病的器官及位置	(81)

二、容易取出和移植	(81)
三、容易在体外培养	(82)
四、容易被转导	(82)
五、具有较长的寿命	(83)
第二节 肿瘤浸润的淋巴细胞	(84)
一、TIL 的分离和培养	(84)
二、TIL 生长动力学	(85)
三、TIL 的表型	(86)
四、TIL 的体外激活	(87)
五、TIL 的应用	(87)
第三节 血液细胞	(88)
一、骨髓干细胞	(89)
二、红细胞	(90)
三、淋巴细胞	(91)
第四节 实质器官细胞	(92)
一、肝细胞	(92)
二、心肌细胞	(93)
三、脾细胞	(93)
第五节 其他靶细胞	(94)
一、内皮细胞	(94)
二、上皮细胞	(95)
三、神经胶质细胞	(95)
四、成纤维细胞	(96)
五、骨骼肌细胞	(97)
六、肿瘤细胞	(98)
参考文献	(100)
第六章 基因的转移方法	(102)
第一节 基因转移的物理法	(103)
一、显微注射法	(103)
二、电脉冲介导法	(104)

第二节 基因转移的化学法	(105)
一、DNA-磷酸钙共沉淀法	(105)
二、DEAE-葡聚糖法	(106)
三、染色体介导法	(107)
四、聚阳离子-DMSO 转染技术	(107)
第三节 基因转移的融合法	(108)
一、细胞融合法	(108)
二、脂质体介导法	(108)
三、原生质体融合法	(109)
四、微细胞核介导法	(109)
五、红细胞血影法	(110)
第四节 颗粒轰击技术	(110)
一、颗粒轰击技术的基本原理	(111)
二、颗粒轰击技术的程序	(111)
三、影响颗粒轰击技术的因素	(112)
四、实验装置	(112)
五、颗粒轰击技术的应用	(114)
第五节 病毒载体基因转移技术	(115)
一、逆转录病毒载体	(116)
二、其它病毒载体	(117)
参考文献	(132)
第七章 逆转录病毒载体	(134)
第一节 逆转录病毒基因结构以及复制特点	(134)
一、逆转录病毒基因结构	(135)
二、逆转录病毒的生活周期	(136)
三、研究逆转录病毒的意义	(137)
第二节 逆转录病毒载体的构建	(141)
一、逆转录病毒载体的构建过程	(143)
二、逆转录病毒载体构建的要素	(145)
三、逆转录病毒载体的类型	(147)

第三节 包装细胞的构建	(150)
一、辅助病毒的构建过程	(150)
二、辅助病毒改建的要素	(151)
三、包装细胞的类型	(151)
第四节 逆转录病毒载体的应用	(154)
一、用于基因治疗	(154)
二、用于基因的克隆化	(155)
三、用于杂交瘤细胞建株	(156)
参考文献	(156)
第八章 基因治疗的基因调控	(158)
第一节 基因调控的结构基础	(158)
一、复制水平的调节元件	(158)
二、转录水平的调节元件	(160)
三、翻译水平的调节元件	(161)
四、新生多肽的加工与分泌	(162)
五、表达融合蛋白质载体核苷酸的相位	(163)
第二节 基因靶技术	(164)
一、基因靶技术的原理	(164)
二、基因靶技术的特点	(166)
三、基因靶技术的筛选系统	(168)
四、基因靶技术的应用	(170)
第三节 逆转录病毒载体基因转移的基因调控	(171)
一、提高逆转录病毒载体的载体滴度	(172)
二、重组载体序列间的相互影响	(173)
三、反应效应提高病毒载体表达效率	(175)
第四节 干扰素基因及其调控	(176)
一、干扰素基因家族	(176)
二、干扰素基因调控	(177)
参考文献	(179)
第九章 基因治疗的管理	(180)

第一节 基因治疗的安全性	(180)
一、逆转录病毒载体基因转移	(180)
二、插入突变	(182)
三、与人内源性逆转录病毒序列的重组	(184)
四、外源性遗传物质的转移	(184)
五、复制型小鼠逆转录病毒的感染	(185)
第二节 基因治疗的社会伦理问题	(186)
一、基因治疗的靶细胞	(186)
二、基因的表达水平	(187)
三、基因治疗疾病种类的选择	(188)
第三节 国外基因治疗审批机构	(188)
一、美国有关的机构	(189)
二、欧共体国家的有关机构	(191)
三、澳大利亚有关的机构	(192)
第四节 关于我国基因治疗研究管理的建议	(192)
一、建立人类基因治疗学术机构	(193)
二、建立我国人类基因治疗审批机构	(193)
参考文献	(193)
第十章 遗传病的基因治疗	(195)
第一节 遗传性疾病的分类	(195)
第二节 遗传病基因治疗总体设想	(199)
一、遗传病基因治疗的策略	(199)
二、目的基因的选择	(200)
三、遗传病基因治疗的细胞途径	(202)
四、基因转移方法	(204)
第三节 苯丙酮酸尿症的基因治疗	(205)
一、苯酮尿症的表现	(205)
二、苯酮尿症的生化机制	(205)
三、苯丙氨酸羟化酶的分子结构	(205)
四、苯酮尿症 PAH 基因分析	(206)

五、苯丙氨酸羟化酶基因转移.....	(206)
第四节 白细胞粘附不全症基因治疗.....	(207)
一、LAD 的临床表现	(207)
二、粘附分子的种类.....	(208)
三、LAD 分子病理机制	(209)
四、LAD 的基因治疗	(210)
第五节 遗传性酶病的基因治疗.....	(213)
一、遗传性酶病的分类.....	(213)
二、粘多糖症.....	(214)
三、Gaucher 病	(215)
参考文献.....	(215)
第十一章 肿瘤的基因治疗.....	(217)
第一节 抗肿瘤基因治疗总体构想.....	(217)
一、基因治疗的策略.....	(217)
二、抗癌基因转移与基因治疗.....	(219)
三、淋巴因子转基因与基因治疗.....	(219)
四、MHC 基因的转移与基因治疗	(220)
五、病毒基因的转移与基因治疗.....	(220)
六、基因转移与抗肿瘤化疗.....	(220)
七、反义技术抗肿瘤.....	(221)
第二节 抗癌基因转移.....	(221)
一、P53基因	(221)
二、RB 基因	(226)
三、WT-1基因	(227)
第三节 细胞因子基因的转移与抗肿瘤基因治疗.....	(229)
一、干扰素类.....	(229)
二、白细胞介素类.....	(231)
三、克隆刺激因子.....	(233)
四、肿瘤坏死因子.....	(233)
第四节 MHC 基因转移	(235)

一、MHC 抗原的基因	(235)
二、MHC 抗原的功能	(235)
三、MHC 抗原的分布	(236)
四、MHC- I 型抗原基因的转移	(237)
五、MHC- II 型抗原基因的转移	(239)
第五节 病毒基因的转移	(240)
一、流感病毒基因	(241)
二、单纯疱疹病毒的基因	(242)
第六节 病毒主导性酶药物预施疗法	(243)
一、VDEPT 的理论基础	(243)
二、VDEPT 方案的设计	(244)
第七节 反义技术抗肿瘤	(245)
一、ODN 抗肿瘤基因表达	(246)
二、反义 RNA 表达载体	(247)
三、抗肿瘤基因核酶技术	(248)
参考文献	(248)
第十二章 呼吸系统疾病基因治疗	(251)
第一节 基因治疗的策略和途径	(251)
一、基因治疗的策略	(251)
二、目的基因的选择与疾病谱	(252)
三、靶细胞的选择	(253)
四、基因转移的方法	(254)
第二节 囊性纤维化的基因治疗	(256)
一、CFTR 基因及异常	(256)
二、CFTR 蛋白质的功能	(258)
三、CF 基因治疗研究	(259)
第三节 α_1 -抗胰蛋白酶缺乏症基因治疗	(263)
一、 α_1 -AT 基因结构与异常	(264)
二、 α_1 -AT 基因转移与表达	(264)
第四节 其它呼吸系统病的基因治疗	(268)

一、P ⁵³ 基因与肺癌	(268)
二、呼吸系统氧自由基代谢与致病性	(269)
参考文献	(269)
第十三章 心血管系疾病的基因治疗	(271)
第一节 心血管病基因治疗概述	(271)
一、策略	(271)
二、目的基因选择	(271)
三、靶细胞的选择	(272)
四、基因转移方法	(272)
五、转导内皮细胞的移植	(274)
第二节 家族性高胆固醇血症的基因治疗	(275)
一、病因	(275)
二、LDL-R 基因结构	(276)
三、FH 基因治疗的靶细胞	(276)
四、转移基因的表达	(277)
五、FH 基因治疗动物模型	(279)
六、FH 基因治疗人体实验	(281)
第三节 血栓形成和再狭窄的基因治疗	(281)
一、血管内支架和心导管技术	(282)
二、冠状动脉搭桥术	(283)
三、高血压	(284)
第四节 心血管系统基因转移与全身性疾病	(285)
一、ADA 缺乏症	(285)
二、凝血因子缺乏之血友病	(285)
参考文献	(290)
第十四章 消化系疾病基因治疗	(291)
第一节 基因治疗的策略和条件	(291)
一、基因治疗的策略	(291)
二、基因治疗的靶细胞	(292)
三、目的基因的选择	(294)

四、基因转移的方法	(296)
第二节 某些肝脏病的基因治疗	(299)
一、LDL-R 缺乏症	(299)
二、慢性乙肝病病毒感染	(300)
三、肝细胞癌的 VDEPT	(303)
第三节 胃肠道疾病基因治疗	(305)
一、OTC 缺乏症	(305)
二、结肠癌	(307)
参考文献	(307)
第十五章 血液系疾病基因治疗	(309)
第一节 血液系疾病基因治疗的策略	(309)
一、基因修饰策略	(309)
二、基因失活策略	(310)
第二节 血液系疾病基因治疗的条件	(311)
一、目的基因与疾病谱	(311)
二、靶细胞的选择	(312)
三、基因转移方法	(314)
第三节 地中海贫血的基因治疗	(315)
一、人类珠蛋白基因	(315)
二、异常血红蛋白的分子基础	(316)
三、 α 珠蛋白基因的异常	(317)
四、 β 珠蛋白基因的异常	(318)
五、 β 珠蛋白基因的转移与表达	(318)
第四节 血友病的基因治疗	(322)
一、凝血因子 VIII 的基因结构	(322)
二、凝血因子 IX 的基因结构	(324)
三、凝血因子 VIII 基因异常	(324)
四、凝血因子 IX 基因异常	(325)
五、凝血因子基因的转移	(326)
第五节 血液系肿瘤基因治疗	(326)

一、Burkitt 淋巴瘤与癌基因 c-myc	(326)
二、慢性髓细胞白血病与癌基因 bcr	(328)
参考文献	(329)
第十六章 中枢神经系疾病基因治疗	(331)
第一节 神经系统疾病基因治疗的策略和条件	(331)
一、策略	(331)
二、目的基因的种类	(332)
三、靶细胞的选择	(333)
四、基因转移技术	(334)
第二节 Lesch-Nyhan 综合症的基因治疗	(337)
一、Lesch-Nyhan 综合症的分子病理基础	(337)
二、HPRT 基因转移与表达研究	(338)
第三节 中枢神经系肿瘤的基因治疗	(342)
一、淋巴因子基因转移抗肿瘤	(342)
二、病毒基因转移抗肿瘤	(345)
第四节 其它中枢神经系统疾病的基因治疗	(347)
一、帕金森氏病	(347)
二、神经生长因子基因转移	(347)
参考文献	(348)
第十七章 内分泌疾病基因治疗	(350)
第一节 内分泌疾病基因治疗的策略和条件	(350)
一、基因治疗的策略	(350)
二、目的基因的选择	(351)
三、靶细胞的种类	(352)
四、基因转移的方法	(353)
五、基因表达与调控	(355)
第二节 胰岛素的基因结构	(360)
一、基因组 DNA 结构	(360)
二、胰岛素基因的多态性	(360)
三、糖尿病患者胰岛素基因的异常	(362)