

全国科技长远规划参考资料（之七）

国外生物技术研究 与开发工作进展

全国科技长远规划办公室

一九八三年十月·北京

《中国科学院植物研究所建所五十周年纪念册》

国外生物技术研究 与开发工作建图

中国科学院植物研究所建所五十周年纪念册
——中国科学院植物研究所

说 明

近年来，生物技术受到国外科学界、企业界和政界人士的重视。许多发达国家把生物技术作为本国优先发展的领域。有人预言，生物技术的进一步发展，将更新已有的产业，建立新兴的产业，并在新的技术革命中发挥巨大的推动作用。

为了提供“应用生物学革命状况的广泛实例”，美国科学促进会（AAAS）主办的刊物《Science》于1983年2月11日出版了“生物技术”专辑（该刊第219卷4585期）。全辑共有23篇文章，由61位科学家撰写，阐述生物技术各方面的研究和开发工作的进展情况和展望。我们组织有关同志将全部文章译出，供规划工作参考。此外，还选译了其他国外刊物的几篇文章，合编成全国科学技术长远规划参考资料之七《国外生物技术研究与发展工作进展》。

“Biotechnology”的中文译法尚有不同意见，有译作“生物工程学”或“生物工艺学”的，本资料统一译为“生物技术”。

目 录

1、新的生物技术公司.....	1
2、生物技术概述.....	4
3、大肠杆菌中狂犬病病毒糖蛋白类似物的生物合成.....	14
4、利用酵母分泌人干扰素.....	30
5、影响猿猴病毒40强化子的多点突变.....	46
6、DNA重组技术生产人胰岛素.....	61
7、人类传染病诊断用的单克隆抗体.....	76
8、免疫毒素：治疗癌的一种新方法.....	93
9、蛋白质序列分析：自动化微量序列分析法.....	110
10、与蛋白质上预定位点起反应的抗体.....	121
11、蛋白质工程.....	139
12、植物遗传工程的展望.....	151
13、从植物细胞培养中分离农业上有用的突变体.....	164
14、在植物中通过种间原生质体融合的遗传性状转移.....	180
15、传统植物育种对粮食生产的贡献.....	194
16、森林产量的生物技术.....	206
17、抗生素产生菌的遗传操纵.....	229
18、微生物产物的新应用.....	246

19、细菌、病毒和真菌杀虫剂.....	246
20、固定化酶和固定化细胞——实用的催化剂.....	284
21、生物反应器的设计及操作.....	300
22、原料化工制品的生产.....	316
23、单细胞蛋白.....	334
24、关于从油井三次采油的烃类微生物学.....	351
25、杂交瘤：生物学分析的新领域.....	361
26、单克隆抗体在医学应用的前景展望.....	374
27、生物反应和生物催化剂的利用.....	383
28、生物技术受到科学、技术和资源三方面的限制.....	392

新的生物技术公司

P. H. Abelson*

现在我们处在应用生物学发展特别迅速的时期。使用重组DNA和杂交瘤细胞已经出现了重要的、有益的进展，人胰岛素已作为商品出售，其他用于人或家畜的主要药物也正在试验，杂交瘤细胞产生的抗体已获准在诊断上应用。病毒性疾病不久将用干扰素或疫苗来治疗，其前景是良好的。

应用生物学发展的主要动力是 150 多家小公司。它们当中，多数是新的，是在几年前重组DNA和杂交瘤细胞的巨大潜力还没有显示出来的时候建立的。现在一些公司已经破产，另外一些公司即将消失。几个月前，大多数观察家认为其他一些公司也将倒闭。但是，它们已有幸存的前景。

“基因工程技术公司”（Genentech）被公认为第一流的新公司。这是旧金山南部的一家公司，它首先采用重组DNA技术开创了十几个蛋白质产品。公司的 350 名雇员中，70 位是博士。研究和发 展经费是 2.1 亿美元。跟那些大公司相比，这笔经费还是很小的，某些大公司花费的资金是它的十倍或更多些。然而，基因工程技术公司创造新产品的记录，在制药行业中没有其他公司能赶得上它。基因工程技术公司的成功，一部分是由于较早地来用重组DNA来创造新产品这个事实；一部分还起因于其明智的选择设计方案以解

* P. H. Abelson 为《Scienc》的编辑

决问题。但是，最重要的或许是公司的人事政策，使它有可能吸引并雇用高质量的人才，保有了学术环境包括奖励出版工作的最好形象。科学家们在这家公司里能各得其所。

其他一些较小的公司，在确定其自己专业范围内，其中在奖励忠实和创造性上也是成功的。通常在大学里、政府里或在企业界，一个科学家仅仅显示出他的或她的一小部分潜在能力。这是由于精神涣散，担负职务太多，受到许多妨碍，人事摩擦，跟资方经理矛盾，以及不能充分发挥。一个组织机构能够对其工作人员更快地加以培养，充分发挥他们的作用，有可能大大地超过其竞争对手。许多新公司在这方面是成功的，现在它们的发展速度比得上基因工程技术公司。

以实验室规模合成一种新产品，仅仅是向着市场销售有利可图的产品的方向，跨出了一小步。随后是扩大生产过程、进行耗费多的临床试验、得到食品与药物管理局（FDA）的承认批准，最后，这种产品必须成功地在市场出售。上述步骤需时4年或更长；需要资金一千万或几千万美元。但是，还有其他途径从新技术或新知识得到更快的财政结算。有诊断用品、特定化学药物和牲畜保健的一些项目。其中，很多项目用量很少，但价格高。还有些费用用于合同研究和专利特许权。一些获得成功的小公司很注意选择一些有明显效益而又能使他们能得到生存发展的环境。

一些大的制药、化学、石油公司和其他工业公司，因生物技术的潜在能力而引起兴趣的。他们相信他们的财力，生产技艺，法定才能和销售的窍门，以后证明这些是基本的。上述许多公司正在慢慢地改进他们内部的研究能力。但是，在这同时一些小公司将领先快速地开发潜在的知识，并使它迅速扩展。它们将是生物学革命及

其应用前进的重要动力，在确立和保持高速发展中将起决定性作用。

(梁家源译自美国《科学》1983年219卷609页，
柯为校)

生物技术概述

P. H. Abelson

这一期《科学》杂志，主要涉及应用生物学革命状况的广泛实例。在重组DNA技术和杂交瘤细胞技术的应用方面，已获得快速的进展。因此，过几年后对于人类和动物的保健将发生实质性的改善。人胰岛素已于1982年9月出售。在已创制的其他产品中，大多数是干扰素的不同亚型、人生长激素、人降钙素（Calcitonin）、人清蛋白、胸腺素 α_1 、组织型血纤蛋白溶酶原活化剂、猪牛生长激素、口蹄疫疫苗和牛白细胞干扰素等12种以上。它们正在进行临床或动物试验。早些时候，这些产品的许多种如干扰素等只是很少量地得到。

应用生物学的其他领域是处在发展的早期阶段。产生高效催化剂的蛋白质工程是可行的，并正在大力开发中。植物组织培养取得进展，而且终究在这个领域里将应用重组DNA技术。在工业发酵方面也已取得进展。微生物正用于生产抗生素和大量精细化学药品如氨基酸，最终它们将用于大量生产重要商品如氧化反应产品（Oxy chemicals）。

这个潜在的巨大收益是由国立卫生研究院（NIH）在基础生物学研究方面明智投资的结果。NIH资助的其他结果还未强调说明。I. Page已经惯于谈论金钱通过化学巧妙设计后的效应。NIH的资助，加上从事生物医学研究机会的吸引力，诱惑许多有才能、有创

造力的生物学工作者参加基础生物学工作。这些人当中的许多人，现在是新的具有生命力的生物技术公司的重要人员。NIH的资助也为用于研究的仪器和特种产品开辟了一个市场。在这个国家里用的仪器设备是超级的，同时是经常改进的。提供研究用的产品（如酶）的公司紧跟着潮流，也很快地提供所需的原料、培养物或动物。

基 因 拼 接

在应用生物学方面取得很大进展的技术是基因拼接。概念上这是简单的，但在操作上是复杂的。重组DNA技术是在一定条件下，把决定某种理想产物的外源基因插到一类生物体中，在这种条件下插入的外源基因，将比原来天然基因表达得更丰富。为此目的，最喜欢用的生物是大肠杆菌突变株，它不能合成必需氨基酸——色氨酸。菌体内有环状DNA的质粒，它含有产生色氨酸的一个基因。一个外源基因能被捻接到质粒上，并靠近色氨酸基因。这样，外源基因和色氨酸基因将同时表达。将这些质粒加入大肠杆菌突变株培养物中，部份质粒进入细菌细胞，并通过供应所需色氨酸的方法使它们有可能生存和增殖。在大肠杆菌中这些机理是，每一个细菌细胞中的一个新质粒能够复制20—40次。由于最大的需要是色氨酸，所以色氨酸基因和外源基因同时优先地表达。

通过重组DNA用大肠杆菌色氨酸突变株获得产品，并不经常是最好的选择。用大肠杆菌其他突变株可能更方便，或者可利用其他原核生物的质粒。但是大肠杆菌将继续用来合成许多蛋白质。这方面已积累了大量资料 and 如何进行的知识；并已经发现现在正在进

行临床试验的全部蛋白质，事实上都可用DNA重组技术产生。因此，当基因工程技术公司决定设法制备一种狂犬病疫苗时，他们研究了通过重组DNA方法（用大肠杆菌）来制备这种疫苗的可能性。尽管病毒含有糖类的外壳蛋白这一事实，但还是作出制备疫苗那样的决定。大肠杆菌能合成蛋白质链，但不能合成糖类。在这期杂志里，E. Yelverton及其同事详细地报导了生产一种蛋白质的过程，该蛋白由狂犬病糖蛋白的生化和抗原标准证实为狂犬病糖蛋白。

除了合成蛋白质的局限性外，大肠杆菌有其他的缺点。突变型有恢复为野生型的倾向。细菌能够生长的培养浓度也有限制。大肠杆菌产生一种内毒素。一般它不分泌蛋白质到培养基中。可是，酵母（也有质粒）在很高的培养浓度下能够生长；它的突变是稳定的；它不产生毒素；并且能分泌蛋白质。此外，它们是真核生物，并能合成糖蛋白。由于这些有吸引力的特征，许多公司已用酵母进行重组DNA的工作。Hitzeman及其同事已经用了啤酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）。在这期杂志中，他们描述一个有希望的产品——干扰素的分泌方法。

有关基因在高等生物（如人）中的开启或关闭机制的发现，是生物学重大问题之一，肝和皮肤有相同的DNA；但对DNA的转录有所控制，使不同组织有着显著的差异。叙述这些过程在基础生物学中将是非常重要。在研究控制真核基因表达过程中，SV40已用做一个模式系统。Weiher, Konig和Gruss鉴别了影响转录活性的核苷酸序列。

重组DNA产物能够在市场上销售以前，对这些产品必须进行广泛的临床实验。产品的质量与均一性也必须确认无疑。在这期杂

志中，Johnson描述了一些实验室的方法。这些方法用于提供为获得食品和药物管理局批准推广一般应用的人胰岛素所必需的化学方面的资料而采用的。

单 克 隆 抗 体

现在有可能创造长期生活的、生产单一抗体的无性细胞系。这些细胞已用于制备抗许多病毒、细菌、真菌和寄生虫的抗体。这项技术正在被用于生产诊断试剂，其中二十多种已由食品和药物管理局批准。通过化学方法使免疫小鼠的淋巴细胞和一种小鼠瘤（骨髓瘤）细胞系于体外融合而建立细胞系。杂种细胞有来自淋巴细胞产生抗体，和来自骨髓瘤的在培养基中持久生长的能力。Nowinski及其同事已用这项技术生产诊断某些疾病（在人类中是通过性生活传染的）的抗体。

各种疾病如已知的癌症的诊断与治疗是一个持续努力的目标，已制备了抗癌的单克隆抗体。业经发现某些癌细胞比相应的正常细胞有更多的抗原，即抗体在癌细胞表面比正常细胞发现并占有更多的部位。在本期杂志中，Vitetta、Uhr及其同事记述一些实验，其中抗体用作载体将一种毒性化学药物有选择性地携带到癌细胞。

蛋 白 质 工 程

生物有机体根据一个基因提供的一套指令，使机体能够合成与这个基因相对应的蛋白质。从另外的生命形态可获得这种模板，或者它可能是一个人造基因。现在我们正处在能开发工程蛋白的初期

阶段。其目的，一是创造优质的酶，在价值很高的特定化学药品生产中用作催化剂；二是生产优于天然状态的生物催化制剂；三是生产大量用于化学工业中的酶。

可用相互连接核苷酸的方法合成必需的基因。这需要时间和努力。但是在AMGen公司由一个两人小组用两个月的时间制造了一种 γ -干扰素的500个寡核苷酸。尔后，修饰该基因内部的一小段则成为可能，并使各种人造 γ -干扰素在大肠杆菌中得到了表达。

开展蛋白质工程的潜在途径多种多样。为了探求未知的东西，可用已知功能的天然蛋白质作为一个良好的开端。将来，当新的蛋白质被现在有力的分离方法分离出来时，对它们的氨基酸序列将会发生兴趣。在这一期杂志中，HunkaPiller和Hood叙述了加以改进了的Edman程序的操作。用 $5-10^{-12}$ 克分子那样少的样品，就能够完成蛋白质自动化微序列分析。对于某种样品来说，成功的运转限制在30—70周期之内，用化学或酶解方法使之成片段后产生一套重迭的肽类，就可测定蛋白质残余物的序列。获得蛋白质氨基酸序列的另一途径是分析能编码该蛋白质的基因的核苷酸序列。当该基因可获得时，此方法十分有用。

Sctcliffe, Lerner及其同事叙述了在Lerner观察的基础上进行的工作。来自一种蛋白质抗原的相当小的肽链能够导出一个抗天然蛋白的抗血清。利用病毒基因组序列作为一种蓝图，他们合成了与基因组的不同区段相当的肽。他们从免疫试验确立了一些初步规律。极端疏水的这些肽，和含有6个或更少些的残基的那些肽是无效的。较长的可溶性肽，特别是含有脯氨酸的那些肽是有效的。这项研究扩展到其它病毒中，所得结果与上述规律相一致。进一步研究指出，在一些而不是所有的情况中，肽片段是能够用作有效的疫

苗。

这一期Ulmer的论文是对适用于蛋白质工程的现有技术和机会的一种有趣的分析。在自然界，特种催化功能来自不同特性的酶。例如嗜高温菌的酶能够忍受将近100°C的温度，而那些嗜中温菌可能在极低温度下被破坏。就转换率、合适的pH范围和其他特征而言，不同有机体之间有很大不同。来自进化的论据是，为了特殊应用，有可能选择更合适的组成和结构。通过应用基因合成和DNA重组技术，有可能改进进化的过程。在这种尝试中，X-射线结晶学和计算机能力包括图解将是重要的。这项研究将提供关于对蛋白质功能极端重要的蛋白质结构方面的牢固的知识。许多稳定而有用的工业催化剂将要生产。

农 业 研 究

像Borlaug等植物育种家勤奋工作约40年，已能获得诸如产量、抗虫害特性、营养品质等显著改进了的品种。他们的这些技术仍旧是重要的，但将被目前正在发展中的新技术所充实。

为植物细胞生长的组织培养技术已很有成效地发展起来，通过组织培养产生的植物正以商业化形式销售。在这期杂志中，Chaleff评述了关于组织培养的工作，并注意到：当单个细胞被允许增殖时，与原来的细胞相比后代的染色体含量常有差异。已鉴别到多倍体、非整合体和染色体重排。更多的证据清楚地表明，组织培养将有助于许多植物品系的选育。其中有些或许将被证明是优良的。像成熟植株那样，细胞群对除莠剂或植物毒素会起反应。

创造新植物的另一种方法是集合两个不同植物种的染色体。这

是六十年代用小麦和黑麦做的实验。小黑麦的产量和其他特性是低劣的。但是通过育种现已得到改变，育成的品种，它们的一些重要性状如耐贫瘠土壤等优于小麦。位于Trigo的国际玉米研究中心（CIMMYT）正在研究小麦和野生草本之间进行杂交。

Shepard和同事们描述了原生质体的研究工作，而原生质体也能产生新类型。原生质体是由除去含有大量纤维素的细胞壁而制备的。当把两个原生质体集聚在一起融合时，而新的融合体便含有两者的核物质。通过这一途径，有性不亲和性的植物能够配对。无亲缘关系的基因组结合后，随之而来的是来自亲代细胞系的一方或双方的染色体的丢失。然而，来自双亲任何一方的染色体并不一定全部丢失。因此，创建一个新类型植物是有潜在可能的。一个更直接的可能性是将有亲缘关系的但有性不亲和的原生质体融合后获得杂交种。通过这一途径，一个原始种的广谱抗病性有可能拼合到一种商用栽培品种中。

Barton和Brill怀着重组DNA技术能用来改造生物基因组的希望来检验植物遗传工程的问题。在开初，这方面乍看来的进展将是缓慢的，因为植物方面的知识落后于动物和某些微生物。无性繁殖的DNA在微生物之间的转移已是常规工作。但是在植物中缺乏可资比较的载体系统限制了类似实验的开展。然而，在这个领域里目前在取得进展。缺失也是一种转化的标志——一个存在于载体上的基因，使转化的细胞易于鉴别。这一问题看来似乎解决了，但障碍仍然存在。植物遗传工程的成功将依赖于对植物遗传学和被转移特性的调控的全面了解。目前，调控机制尚不清楚。Barton和Brill在文中列举的例子，说明了如把固氮基因拼入植物中的一类本质上改变中所存在的问题。作为另一种途径，他们强调对与植物根系联合

固氮的微生物加以改造的可能性。其他有可能的主要目标是改进植物的光合作用和对病虫害的抗性。看来是可能的。

地球表面的大部份不适于农业，但可供树木生长。最后结局，森林产量将有实质性的增加。除了现有产品——石柏以外，木材将用于能源和饲料，以生产食物或药品。在这期杂志中，Farnum, Timmis和Kulp描述森林产量是如何进行巨大的改良，并估算最后通过良好的森林管理措施，最终能获得些什么。他们也讨论了优良树种的组织培养繁殖，它可缩短森林达到优质的时间。

微 生 物 工 程

几十年来，工业微生物已进行了抗生素的生产。已经发现了优质抗生素，并通过诱变剂和选育的劳动过程，其产量已有实质性的增加。主要药物公司拥有设备和具有器材和专门知识，一旦有了合适的菌株，他们就可有效地进行大规模的生产。就生产小量的、价值高的特定药品而言，一些小公司将会竞争。人们能够期望，许多新产品将相当快地出现。有许多载体能够把遗传物质引入寄主微生物中，它们完成一个世代的时间是短暂的。Vournakis和Elander描述用来扩大抗生素生产和用来发现一些新的抗生素的方法。现代的筛选方法比早期人们所使用的那些方法更为有效些，并应用了精细合成途径的知识。有亲缘关系的或相互有关的微生物的原生质体之间的融合，已经导致一些新产品的出现。重组DNA技术已经开始利用。

过去三十多年，药物工业大量集中于通过发酵生产抗生素。从啤酒发酵分离到许多物质，它们作为抗生素是没有活性的。然而，

其中许多被发现有其他用处。Demain 在本期杂志中对此进行了考虑分析。例如, 其中约有20种对人体发生生理效应, 这就使它们具有医学上的价值。这些物质中的另一类对防治线虫也是有效的。一种发酵产品——莫能菌素对小鸡是一种潜在的制球虫剂 (coccidiostat)。此外, 当莫能菌素拌入反刍动物的饲料中, 则它抑制甲烷的形成。因此, 这就改善了饲料的效果。细读Demain编撰的微生物产品的资料, 一定会使读者对微生物功能深感赞美。

细菌、病毒和真菌生长在多种多样的环境里。其中有些以昆虫作为它们自身的培养基, 并常在昆虫体内分泌毒素。Miller, Lingg和Bulla讨论了使用日益增多的微生物杀虫剂。一般说, 这些微生物杀虫剂比迄今为止已经使用的化学药物在生态学上更加温和得多。

在这篇概述的前部份, 作者评述过蛋白质工程的前景, 并引证了在催化特定反应优质酶的生产中可能的应用。在实践中, 使游离酶或产酶细胞的固定化通常是希望做到的。Klibanov叙述了做这方面工作的一些技术, 并引用了所具有的优点。例如当酶以化学方式结合到一种支持物上时, 酶不丧失, 其稳定性经常得到改善。固定化酶正在商业化应用中。葡萄糖异构酶正用于大规模地使玉米糖 (葡萄糖) 转化成葡萄糖和果糖的混合物。

显然, 在今后发酵的作用将越来越大。对许多产品而言, 它将与常规化学工艺竞争。考虑的关键将是成本的比较。在生物工艺中, 生物反应器将起一个关键的作用。Cooney讨论了设计这些反应器的因素。

目前, 年产有机化学产品接近一亿吨, 其中约99%是氧化反应产品。其中许多产品可由带有或不带有化学工艺的微生物发酵来生产。这些化学品及其衍生物约占整个有机化学品生产的一半; 目