

转基因技术的原理、应用 及安全性

叶建国 波恩大学医学院

基因科学大事记

- 1859年
- 英国生物学家达尔文发表《物种起源》，第一次用大量事实和系统的理论论证了生物进化的普遍规律。

- 1865年
- 瑞士科学家米歇尔发现核酸

- 1866年
- 奥地利生物学家孟德尔发表论文“植物杂交试验”，提出了遗传学的分离定律、自由组合定律和遗传因子学说。

- 1879年
- 德国生物学家弗莱明发现细胞核内的染色体。

- 1903年
- 美国细胞学家萨顿发现了遗传因子与染色体的平行关系，提出了遗传的染色体学说。

- 1915年
- 美国生物学家摩尔根创立了现代遗传学的基因学说。

- 1924年
- 德国细胞学家福尔根发现了核糖核酸（RNA）和脱氧核糖核酸（DNA）。

- 1927年
- 美国遗传学家缪勒发现X射线照射可人工诱使遗传基因发生突变。

- 1929年
- 俄裔美国生物化学家列文发现核酸碱基的主要成份是腺嘌呤、鸟嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶。

- **1938年**
美国生物学家、遗传学家比德尔与美国生物化学家塔特姆提出遗传基因通过一定的化学反应起作用的理论。
- 1943年**
德裔美国生物学家、物理学家德尔布吕克，意大利裔美国生物学家卢里亚，美国遗传学家赫尔希合作发现了病毒的复制机制。**1952年**，他们又分别发现在上述复制机制中起决定性作用的遗传物质是DNA。
- 1944年**
美国细菌学家艾弗里首次证明DNA是遗传信息的载体。
- 1946年**
美国生物化学家塔特姆与美国遗传学家莱德伯格合作发现了两种细菌混合培养时发生了“杂交”现象，实现了基因重组。
- 1948年**
挪威科学家弗伯格提出了DNA螺旋结构的结论。
- 1951年**
美国女遗传学家麦克林托克提出了可移动的遗传基因（即“跳跃基因”）学说。
- 1952年**
美国遗传学家莱德伯格发现了通过噬菌体的“转导”实现的不同细菌间的基因重组现象。

- **1953年**

美国生物学家沃森、英国生物物理学家克里克在英国女生物学家富兰克林和英国生物学家威尔金斯等人研究成果的基础上，首先建立了DNA的双螺旋结构模型，并提出了DNA的复制机制。

1954年

俄裔美国物理学家伽莫夫提出蛋白质的遗传密码是由3个碱基的排列组合而成的假说。

1955年

华裔生物学家蒋有兴、瑞典生物学家莱温确认人体的46条染色体。

- **1956年**

美国生物化学家科恩伯格与美国生物化学家奥乔亚用人工合成的方法制得了DNA和RNA。

1958年

英国生物物理学家克里克提出了蛋白质合成的“中心法则”。

巴基斯坦裔美国生物化学家霍拉纳开始已用化学的方法合成64种可能的遗传密码，并测试它们的活性。

法国医学家勒热内发现先天愚型痴呆症的病因是第21号染色体畸型，这是人类第一次发现染色体异常导致的疾病。

1961年

法国生物化学家、分子生物学家雅各布与法国生物学家莫诺合作提出了“信使核糖核酸”（mRNA）和“操纵子”概念，阐明了RNA在遗传过程中的信息传递作用和乳糖操纵子在蛋白质生物合成中的调节控制机制。

美国生物化学家尼伦伯格发现了第一个遗传密码--苯丙氨酸的密码是RNA上的尿密胺（UUU）。

- **1967年**
美国生物化学家霍利确定了丙氨酰转移核糖核酸（tRNA）的76个核苷酸的顺序及在蛋白质合成中的作用。

1963年

巴基斯坦裔美国生物化学家霍拉纳、美国生物化学家尼伦伯格、美国生物化学家奥乔亚等人测出了20种氨基酸的遗传密码

1965年

美国生物化学家霍利首次分析出丙氨酸tRNA所含的全部76个核苷酸的排列顺序。
瑞士微生物遗传学家阿尔伯首次从理论上提出了生物体内存在着一种具有切割基因功能的限制性内切酶。并于1968年成功分离出I型限制性内切酶。

1967年

法国免疫学家、医学家J·多塞发现并阐明控制免疫反应的细胞表面遗传决定结构。

1970年

美国分子生物学家、遗传学家史密斯分离出了II型限制性内切酶。1971年，美国微生物遗传学家内森斯使用II型限制性内切酶首次完成了对基因的切割。
美国病毒学家特明、美国病毒学家巴尔的摩发现了“逆转录酶”，揭示了生物遗传中存在着由RNA形成DNA的过程，发展和完善了“中心法则”。

1971年

英国生物学家布伦纳、美国生物学家霍维茨、英国生物学家苏尔斯顿发现关于器官发育和程序性细胞死亡过程的基因调节现象。

- **1972年**
美国生物化学家伯格首次将剪切后的不同DNA分子连接组成新的DNA分子，首创基因重组技术。
巴基斯坦裔美国生物化学家霍拉纳合成了含有77个核苷酸的DNA长链，1976年又合成了第一个具有生物活性的基因--共有206个核苷酸的DNA长链。

1973年

美国分子生物学家科恩、美国生物化学家博耶合作完成了将两种不同基因拼接的复合基因引入细菌的实验，并申报了第一个基因重组技术专利。

1975年

英国生物化学家桑格发明了确定RNA和DNA分子中碱基排列顺序的技术。

美国分子生物学家吉尔伯特发明了DNA碱基的快速分析方法。

德国免疫学家克勒、英国生物化学家米尔斯坦合作开发出了单克隆抗体技术。

1977年

美国生物化学家夏普、英国生物化学家罗伯茨发现断裂基因。

1981年

美国应用单克隆抗体技术首次检测出世界上第一例艾滋病人。

1977年

美国生物化学家博耶利用DNA重组技术产生出人丘脑分泌的生长激素释放因子。

- **1978年**
美国哈佛大学的科学家利用**DNA**重组技术生产出胰岛素。
- 1978年**
美国分子生物学家奥尔特曼和美国化学家切赫分别发现了**RNA**具有酶的生物催化功能。
- 1979年**
加拿大生物化学家史密斯发明能够重新编组**DNA**的定点突变技术——“寡聚核苷酸定点突变法”。
- 1980年**
瑞士和美国科学家利用**DNA**重组技术使细菌生产出干扰素。
- 1981年**
中科院上海生物化学所王德宝等人人工合成了酵母丙氨酸**tRNA**。
- 1982年**
美国神经学家普鲁西纳发现比病毒还小、没有核酸、但具有遗传物性的病原微生物——朊毒体（意为“类蛋白质感染因子”）。
- 1983年**
美国生物化学家穆利斯发明利用“聚合酶链反应法”（**PCR**）。该技术可从极其微量的样品中大量生产**DNA**分子，使基因工程又获得了一个新的工具。
第一株转基因植物在美国诞生。

- **1985年**
意大利裔美国病毒学家杜尔贝科提出“人类基因组计划”。

1986年
第一只胚胎细胞克隆动物（绵羊）在英国诞生。

1990年
“人类基因组计划”正式启动。

1996年
第一只体细胞克隆动物（绵羊）“多莉”在英国诞生。

1998年
中、日、美、英、韩五国代表制定“国际水稻基因组测序计划”。

1999年
国际人类基因组计划联合研究小组宣布完整破译出人体第**22**对染色体的遗传密码。

2000年
中、美、日、德、法、英**6**国科学家联合宣布成功绘制出人类基因组草图。
“中国超级杂交水稻基因组计划”正式启动

2001年
中、美、日、德、法、英**6**国科学家联合公布了人类基因组图谱及初步分析结果。

2003年
第一只体细胞克隆动物（绵羊）“多莉”死亡。
中国大陆、台湾、香港科学家宣布联手启动“中华人类基因组单体型图”计划。
中、美、日、德、法、英**6**国科学家联合宣布完成人类基因序列图。
中、美科学家分别测定出非典型肺炎病毒的基因图谱。

DNA—RNA—蛋白

- DNA携带遗传信息
- 信使RNA作为DNA向蛋白信息传递的桥梁
- 蛋白行使功能

细胞结构

- 细胞膜（细胞壁）
- 细胞质（含大量的细胞器、细胞骨骼）
- 细胞核（含遗传物质染色体**DNA**）

几种常用的植物转基因方法

- 农杆菌介导转化法
 - 基因枪介导转化法
- } 组织培养再生植株

- 花粉管通道法
- 无需组织培养

在授粉后向子房注射合目的基因的DNA溶液，利用植物在开花、受精过程中形成的花粉管通道，将外源DNA导入受精卵细胞，并进一步地被整合到受体细胞的基因组中，随着受精卵的发育而成为带转基因的新个体。

常用的动物转基因技术

- 显微注射法

在显微镜下，用一根极细的玻璃针（直径1-2微米）直接将DNA注射到胚胎的细胞核内，再把注射过DNA的胚胎移植到动物体内，使之发育成正常的幼仔。

- 病毒载体介导法（如逆转录病毒、腺病毒等）

病毒整合的机制

- 电击介导法

- 体细胞核移植方法

生物个体克隆（多利羊）

- 如果不是为了筛选物种，而仅仅是为了改善细胞或者动物个体的表型功能，外源DNA不一定要掺入到基因组DNA中，而仅在细胞质中进行表达。一般通过脂质体等进行导入。

-

转基因手段的机理

- 随机掺入

主要通过病毒的感染机制将外源DNA片段随机掺入到基因组DNA中，对于DNA的拷贝数，掺入位点都不能精确控制。

- 定点掺入

通过DNA的同源重组机制将外源DNA片段定点、定量的插入基因组DNA中，比如基因剔除（knockout）小鼠。

转基因到底转入了什么

- 基因 = 启动子 + 编码DNA序列
- 如果是通过电击或注射等手段，则是基因本身
- 如果是通过病毒，则整合好的病毒基因和外源基因一起被转入到目的细胞的染色体DNA中。

转基因技术在农业、畜牧业上应用

- 1983年
- 世界上第一例转基因植物——一种含有抗生素药类抗体的烟草在美国成功培植。

- 1993年
- 世界上第一种转基因食品——转基因晚熟西红柿正式投放美国市。

- 1996年—2002年
- 世界转基因作物种植总面积从170万公顷扩增到5870万公顷。

- 转基因技术在动物饲养领域也取得了很大进展，提高了蛋、奶、肉、毛皮等的产量与质量。

转基因技术和传统育种方法的比较

- 对已知基因所进行的操作
- 目标更为明确，效果更为确定，因而可以更快、更好地获得结果
- 打破了物种界限，可以把来自其他物种的基因转入农作物中，多方面地改良农作物

菲律宾的国际水稻研究所已开发出的“金大米”，通过转基因技术让水稻制造 β 胡萝卜素(维生素A的前体)，有助于消灭在亚洲地区广泛存在的维生素A缺乏症。

将玉米基因转入水稻中，大幅度提高水稻的产量和改良稻米的品质。

植物中一种不饱和脂肪酸在温度升高时候可以阻遏光合作用，使得植物枯萎，将特异阻止该脂肪酸合成的酶基因重组到植物里，植物就具有抗高温性。

转基因技术在医学上的应用

- 转基因植物疫苗（胡萝卜）

用转基因方法，将编码有效免疫原的基因（转轮状病毒抗原蛋白基因和毒大肠杆菌抗原蛋白基因）导入可食用植物细胞的基因组中，免疫原即可在植物的可食用部分稳定的表达和积累，人类和动物通过摄食达到免疫接种的目的。常用的植物有胡萝卜、蕃茄、马铃薯、香蕉等。

到目前为止，在转基因植物中表达的抗原基因有乙肝病毒表面抗原(HBsAg)基因，肺结核病毒分泌型蛋白MPT64基因，麻疹病毒血细胞凝集素糖蛋白(MV-H)基因等约二十几种。

基因治疗的方法

已知人类遗传病已达4000种以上，大部分是由单基因决定的陷性遗传病

- 体外法

体外法基因治疗需要从患者体内取出细胞，并以治疗基因修饰，回输表达治疗基因的修饰细胞于患者。

目前只有皮肤细胞和骨髓细胞可接受该处理，而且能做到的治疗只是引入外源基因使其表达，以补充缺失的或失去正常功能的酶，而不能做到用正常基因去替换突变基因。

- 体内法

体内基因直接转移手段有安全病毒介导、寡核苷酸直接注射、干扰核糖核酸注射、脂质体介导等

基因治疗的原理

- 基因置换（**gene replacement**）：用正常的基因原位替换致病基因，使细胞内DNA完全恢复正常。这是最理想的基因治疗方法，但目前的技术水平尚难达到。
- 基因修复（**gene correction**）：纠正致病基因的异常部分，正常部分保留，最终使致病基因完全恢复，这种基因治疗方式操作上要求高，实践上有一定难度。
- 基因修饰（**gene augmentation**）：又称为基因增补，将目的基因导入病变细胞或其它细胞，其表达产物能加强或纠正缺陷细胞的功能。这种治疗方法中，缺陷基因仍然存在。目前的基因治疗多采用这种方式。
- 基因失活（**gene inactivation**）：利用反义技术特异地封闭基因表达的特性，抑制有害基因的表达，达到治疗疾病的目的。如利用反义RNA、核酶或核酸等抑制一些癌基因的表达，抑制肿瘤细胞的增殖，诱导肿瘤细胞的分化。用此技术还可以封闭肿瘤细胞耐药基因的表达，增加化疗效果。
- 免疫调节（**immune adjustment**）：将抗体、抗原或细胞因子的基因导入患者体内，改变免疫状态，达到预防和治疗疾病的目的。如将白细胞介素-2（**IL-2**）导入肿瘤病人体内，提高IL-2的水平，激活体内免疫系统的抗肿瘤活性，达到防治肿瘤的目的。

06年生理学和医学诺贝尔奖

- 干扰RNA技术在基因治疗上有广泛的应用前景
 通过在RNA水平上的调控来达到治疗目的。

你接受转基因食品吗？

- 美国 60%以上的加工食品含有转基因成分。90%以上的大豆、50%以上的玉米、小麦是转基因的。
- 对转基因生物的管理法规，内容主要集中在环境安全性和食用安全性。我国有《中国生物安全国家框架》。
- 潜在危险性表现在转基因生物是否会破坏其转基因前的表达体系，验证时间太短暂。