

【基础科研】基因工程与分子生物学的新发展 (二)

2015-08-26 15:06:00

原文网址：<http://blog.udn.com/MengyuanWang/108908768>

上一篇文章提到人类基因组解码十多年来，基本上对医疗没有什么贡献，这主要有两个原因：首先，如果要进行基因疗法（Gene Therapy），就必须有可靠、廉价、高速的手段对活细胞的基因做重组，很不幸的，早期的尝试（主要是使用改造过的病毒）不但复杂而昂贵，而且非常不精确，常常在错误的染色体位置上做意外的修改，其结果是不但没有治好这些遗传性的基因病变，反而引发急性的癌症肿瘤，在有志愿者因此而死亡之后，研究的脚步就更加缓慢困难。

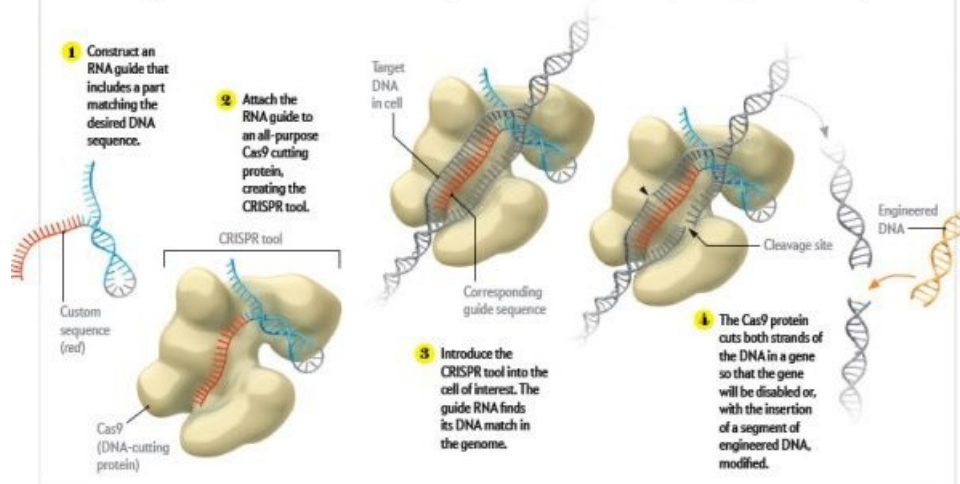
另一方面，如果不是直接改变病人的基因，而是要开发新药，那么就必须在细胞依据DNA的蓝图制造RNA然后再制造蛋白质等等机制中找寻机会，但是蛋白质千变万化，其作用又主要靠分子折迭（Folding）后的三维形状来决定，所以只从分析DNA而决定蛋白质分子的分子式是远远不够的，必须能确定它们在活细胞环境内如何自我折迭，但是这个问题连超级电脑都不能可靠解决，最终还是必须有直接测量的手段，而在人类基因组解码后，研究人员仍然没有一个很好的直接测量蛋白质形状的技术，所以也就不能促成开发新药的革命。

在学术界内研究DNA的叫做基因工程（Genetic Engineering），研究蛋白质的则是分子生物学（Molecular Biology）的一支。在基因解码越来越快越便宜之后，研究人员开始集中力量要突破前面提到的两个制约因素，在最近几年终于先后得到了好的解决方案。目前我们正处在改进和推广这些新技术的阶段，在未来15-20年将是一个革命性的黄金时期（上一次有这种规模的医疗革命是抗生素的发现和普及），目前困扰人类最严重的许多病变如癌症、Alzheimer's、Aids等将逐步被征服，下一代人的生活品质将因此而大幅提高，实在是件震撼全球的大事。我将在本文介绍基因工程方面的突破，在下一篇文章再讨论分子生物学的新研究工具。

2012年新发现的基因编辑（Gene Editing）技术叫做CRISPR（Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat）。它原本是某些细菌用来消灭入侵的病毒基因的一个天然手段，由一个RNA和一个特别的蛋白质Cas9组合而成。RNA负责识别病毒基因，一旦找到正确的对象就自然接合起来，然后附带的Cas9像剪刀一样把目标DNA切断。一开始研究人员只是用它来对特定基因做消音（Silencing），但是很快地就有人发现只要有合适的新DNA段落在附近，有时细胞修复DNA时会把新段落加进去，如此一来就达到了基因编辑的目的。

How CRISPR Works

Bacteria use a weapon called CRISPR to julienne invading viruses. Scientists can hijack this process to chop up sequences of DNA they would like to modify instead. Unlike previous genome-editing methods, the CRISPR system uses a single, all-purpose enzyme, called Cas9, to do the slicing. All the researcher has to do is create an RNA "guide" to steer it there; RNA is vastly easier to synthesize than enzymes.



和以往的旧技术相比，CRISPR的特点在于它基本上是同一组分子，只有RNA的识别段（图中红色段落）需要量身订制；这不但使制造过程加速了不只一个数量级，而且也大幅减少错误，不过目前的技术还做不到100%精确。

CRISPR发现后不到一年，美国就开了好几个新创业公司（Startups），准备用它来做基因疗法。这些人或许是操之过急了点，毕竟CRISPR才刚被发现，技术很不成熟，尤其是新DNA段落的融入基本上仍是靠运气，所以不是100%的细胞都会被正确处理。更严重的是目前的RNA识别段都还不够可靠，虽然已经比上一代技术好太多了，但是即使是少数的错认仍然有可能会引起癌症，所以CRISPR还有很大的改进空间。

2015年四月，广东中山大学的黄军就教授发表了一篇有关CRISPR的论文，引发了科学界的广泛注意和讨论。他使用CRISPR对刚受孕后的单细胞人类胚胎尝试了基因改造，结论是只有52%（54个胚胎，28个成功）的成功率。不过震惊欧美科学界的不是他的研究结果，而是他的研究对象。胚胎细胞属于所谓的Germline，也就是修改过的基因是会被传到下一代的，而目前由基督教主导的欧美社会还不能接受研究人员扮演上帝的角色。我个人认为这是落伍的观念，Germline Modification必须被规范，但是不可能被永远禁止。

事实上对胚胎细胞使用CRISPR，比对整个活体进行基因疗法要容易多了。这是因为失败的个例可以被丢弃，所以目前的不成熟技术其实已经可以在胚胎方面实用。不过由于“道德”上的考虑，应该不会很快发生；我们大概还是要等上相当的时间（15年？），CRISPR的错误率被压到极小的可接受程度，才会看到大规模的医学应用。至于与医疗无关的应用则会快得多，例如我们可以预期各式各样的转基因作物将会有爆炸性的发展；当然在这方面，政府的法律规范也必须加紧脚步，才能跟上技术的进步，确保他们的安全应用，避免意外的灾难。After All, With Great Power, Comes Great Responsibility.

【后注】今天（2016年九月22日）消息传出，Monsanto正式签约与Broad Institute合作，将利用CRISPR技术来开发新农业品种。早在今年四月，Dupont已经与Caribou Bioscience签了类似的合约。

16 条留言

...

2015-08-26 00:00:00

“必须在细胞依据DNA的蓝图制造RNA然后再制造蛋白质等等机制中.....必须能确定它们在活细胞环境内如何自我折迭”

请问施一公的这个发现是？

www.guancha.cn/Science/2015_08_24_331731.shtml

www.guancha.cn/lonkeduo/2015_08_24_331780_s.shtml

另外，美国人连人造大脑都做出来了

www.guancha.cn/Science/2015_08_21_331491.shtml

“

施一公的这个发现我会在下一篇文章讨论。

frances

2015-08-26 00:00:00

I don't usually understand the detailed and deep theory in many areas you wrote about ...so hope i am not a kill joy here (not being overly excited by such science. With my usual way of applying common senses...even the most advanced science/future drugs will not cure most cancers/diseases if we don't work on the roots/causes to many; our life style, our diets, so many bad add-ons into ingredients for manufactured/processed foods, polluted environment, etc. Few people's greeds (for accumulating wealth, for trying to live forever , etc) have caused most troubles/problem to this world...maybe we need to be cautious about where we apply good science in the future??

“

It's world-shaking progress. We need to develop corresponding laws and regulations for it, but the benefit is simply too great to ignore.

frances

2015-08-26 00:00:00

Thanks again for brilliant mind sharing your thoughts with us...to know the excitements/wonders out there...(admittedly sometimes with depressing implications) still, thank you for taking time writing for the sake of bettering our society.

“

It's really not my field, but it is also so important that I just have to report it. Hope I can do justice to it.

Parking

2015-08-26 00:00:00

黄军就在Protein & Cell的文章，只尝试“编辑剪接修改”地中海贫血基因就引起广泛关注与压力，广州中山大学以这项研究失败率实在太高而取消研究，以板主对中共军事科技数据谦虚的态度逻辑推论，或有重大突破而转入秘密研究？我不相信欧美社会不能接受研究人员扮演上帝的角色，大家都瞞着头干，只是时候未到。

“

欧美研究机构的确是暂时只能偷偷地干，我不知中山大学的内部计划如何。不过不要低估基督教原教旨主义者的势力，尤其是在美国，这种研究目前还是很大的忌讳。

很久以前就看过有一些文章说俄国科学家可以透过频率的方式去调变DNA, 还有发现DNA 的幽灵效应(DNA Phantom effect DNA)
不知道这些研究是否是偽科学??

www.bibliotecapleyades.net/...

www.bibliotecapleyades.net/...

<https://www.youtube.com/watch?v=Cc7OkmggC7k>

“

是的。

lbboy

2015-08-26 00:00:00

另外从网路文章看到

华人科学家姜堪政1957年, 他写出了大约七万字的论文, 题为“场导论”, 他认为, 既然生物体有电磁场的交换, 那么该电磁场必然会有一部分传递到有机体之外。如果被另外的有机体所接受, 作为生物信息, 他必然会定向控制该生物体的生命活动过程.....

姜堪政做了一系列的有关突变实验(如鸡变鸭...), 感觉很离奇, 但至今感觉也没有后续的进展, 是否也是一种骗局, 或偽科学??

www.reconnectiontaiwan.tw/viewthread.php?tid=1376

zh.wikipedia.org/wiki/%E5%A7%9C%E5%A0%AA%E6%94%BE

“

也是的。

caspase

2015-08-27 00:00:00

我的理解是, 最初研究DNA跟人类疾病关系的学科是遗传学genetics, 而研究蛋白质结构功能的学科是生物化学biochemistry. 1953年DNA双螺旋结构被发现后, 建立了分子生物学molecular biology. 分子生物学最重要的内容是中心法则central principle, 它揭示了生命体是如何使用DNA制造蛋白质的, 使人们终于可以把遗传学和生物化学统一起来, 微观生物学被一统天下。基因工程旨在利用gene editing技术去改变基因型genotype来获得某种表型phenotype。对人类基因组的编辑难度比微生物大好几个数量级, 这是因为人类基因组太过庞大, 调节太过精细, 如果没有绝对的特异性specificity, 是永远不能应用到医学上的。所以长期以来只在实验室对动物使用, 比如建立疾病的小鼠模型mouse model, 这对我们了解疾病机理有非常大的贡献, 而基因敲除小鼠gene knockout mice的成果也获得了2007年的诺贝尔奖。

所有的gene therapy都依赖同源重组homologues recombination. 也就是你把有缺陷的dna破坏, 然后提供一段正确的dna, 细胞就会自动用正确的dna作为模板复制并修复原来的基因。所以这包括两个过程, 第一是在宏大的人类基因组中找到你要修复的基因, 这个概率非常非常底, 你可以理解成在30亿颗乒乓球中找到你丢进去的那颗。第二个过程就相对简单, 用正确的dna替代错误的dna, 这个过程细胞自己就帮你做了。

所以分子生物学和基因工程多年来的努力都在解决第一步。目前有三种极为高效的方法, zinc finger nuclease 锌指核酸酶技术, talens 类转化因子核酸酶技术和先生提到的crispr技术。这三种技术的共同点是先设计一个可以特异性识别目标基因分子, 然后给这个分子加上一个核酸内切酶, 那么这个融合分子结合了目标基因后, 核酸酶立刻就把它切断, 第一步完成了。前两种方法使用的识别分子是蛋白质, 这就好比说英语的和说中文的进行交流, 需要一个非常好的翻译过程。但是crispr使用的是RNA, 可以理解为把这个过程变成说四川话的和说东北话的进行交流, 难度简化了几个数量级。而且RNA设计生产的成本非常低, 这就使大规模应用变成可能。

提醒大家一点的就是, 这三种技术目前都无法保证100%的特异性, 人类的基因组太庞大, 而且同源基因很多, 比如说染色体的结构蛋白histone组蛋白就有好几个亚型, 而且基因序列彼此非常相似, 这些技术在识别这些同源基因的时候难度要大上许多。crispr目前无法保证无错的修复, 所以还停留在实验室阶段。中山大学黄军的论文的一个最大的结论就是crispr离直接在胚胎修复缺陷dna的距离还有很远。

但是crispr的成本实在是太低了，而且发现者张峰把每一个基因对应的识别序列都解开并且放到网上了。早晚有公司会做这方面的尝试。其实我认为在未来，胚胎直接修复的可能性很低，更有可能的是和干细胞技术结合起来，因为和胚胎不同，干细胞可以在体外培养并且大规模试验，即使不能保证100%的准确性，发生off target脱靶效应的细胞丢弃就是，只要那些正确的然后进行培养分化，再移植到病人体内。比如白血病可以通过这种手段治愈。但是其他器官的类似治疗依赖于干细胞技术的进一步发展。

分享一个个人的经验，来说明这些技术的优越性。我曾经用传统的手段在人的体外细胞系中敲除一个基因，经过抗性筛选得到的500多个克隆中，只有一个是正确的。后来我用了zinc finger nuclease技术（那时crispr还没出现），在22个克隆中，有20个是正确的。

“

谢谢你的补充。生化不是我的专业，很高兴没有严重写错什么。

我想使用可丢弃的特殊细胞必然会实用化的第一步。

Laplace

2015-08-27 00:00:00

施一公的基因Spliceosome 高解析度三维结构分析可以被考虑得诺贝尔奖，但实际作人类基因剪接修改却只能偷偷地干。

“

宗教是非理性的组织，在美国是妨碍社会进步与公平的很大力量。这主要是财阀需要分散人民的注意力、避免理性思考的普及，所以美国是西方先进国家里唯一在过去40年变得更加迷信的。

caspase

2015-08-27 00:00:00

先生各方面都有涉猎，我很佩服，而且大众需要先生这样的人来做科普。搞科研的人多少有些曲高和寡，而且精力有限，少有人做科普的工作。

我想习近平已经意识到制定有关转基因的法律的重要性了，我记得观察者网也报道过他这个决定。对民众的科普也变得非常重要，因为转基因是和生活密切相关的，一旦技术成熟起来，经济效益不可估量，如果不能做出政策的调整一定会吃大亏。

在这方面我认为中国有优势，一方面民粹主义和反智主义在精英政治下空间较少，另一方面中国没有宗教的干扰，而且中国在法律方面不象西方那样死得走程序，能够较快做出改变。这些因素可能导致在下一个十年中国在胚胎干细胞技术，再生医学反超西方。13年的时候细胞杂志就已经注意到肿瘤研究和干细胞研究的中心有向中国转移的趋势，还专门做了一期special issue介绍中国的肿瘤研究。未来中国可能会吸引越来越多的西方科学家，因为在中国获得肿瘤样品容易得多，而且胚胎干细胞研究也不象西方一样带着镣铐跳舞。可以预见到时西方对中国科研伦理上的攻击会非常多。

“

是的，以“道德”标准来批评和箝制中国生化科学的发展，必然是未来10-15年常见的欧美宣传噱头。

ada

2015-08-27 00:00:00

Genetic engineering is but one of the challenge in solving human diseases. For most diseases (e.g., cancers, autism), scientists do not even know which faulty genes are the major contributors. Another challenge is the dissimilarity between human and animal (rodent) models. A gene that is critical for alzheimer in mice may be unimportant in human.

“

There are ways to circumvent these difficulties. You will see in the next article greater details about how researchers are attempting to develop treatments for the Alzheimer's.

fish

2015-08-28 00:00:00

王孟源先生以物理学博士和资深金融从业人员的身份对生物医学有深入的理解并能写出这样一篇

引人入胜的文章，了不起！我曾向多位同事、学生推荐过贵博客，他们也颇享受阅读大作。些许瑕疵对于一般读者或许没有问题，但对于将要进入业内的学生有引起困惑的可能，最好略做修改。

例如“在学术界内研究DNA的叫做基因工程（Genetic Engineering），研究蛋白质的叫做分子生物学（Molecular Biology）”的说法不准确。在生物化学界，研究DNA和RNA的结构与功能的是核酸化学。研究蛋白质的结构与功能的是蛋白质化学。在了解了DNA和RNA的结构与功能的基础上，生物学家建立了DNA重组技术（Recombinant DNA Technology）该技术可将不同来源的DNA按照人类的设计重组为一个新的DNA分子。该技术又被称为基因工程。它可以按照人类的意愿生产出自然界已有或没有的蛋白质。在此基础上人们建立了可以在分子水平上研究各种生命现象的本质的新学科，也就是分子生物学（Molecular Biology）。

另外，大作用基因编辑（Gene Editing）来描述CRISPR不是很准确。更被业内接受的名词是基因组编辑（Genome Editing）。有学者将DNA重组技术称为第一版的基因工程，基因组编辑则为第二版的基因工程。这两版的不同之处在于：第一版的基因工程所操作的DNA比较小通常为一个基因，且外源DNA通常未整合入宿主基因组或是随机整合。而基因组编辑所操作的DNA可以比较大甚或同时操作多个基因，且可定点整合入宿主基因组。

以上意见供参考并祝王先生有更多引人入胜的博文面世。

“

谢谢你的指正。

我知道你说的对，但是我这是一篇科普文章，是给外行人看的，如果细分到核酸化学和基因工程的差别，可读性就没了。我要以一页的篇幅来介绍两个重要的话题（即新一波的医疗突破和CRISPR）必然得要简化一些细节，尤其不能引入太多专业词汇，选择用“基因工程”和“分子生物学”这样笼统的外行人分类是有意的，还请专家们见谅。

我也知道CRISPR技术能对好几个基因同时做修改，这是它相对一些旧技术的另一个优势；不过Gene Editing和Genome Editing之间的差别同样是不适合在这么简短的文章里讨论，所以也就一样蒙混过关了。

我的文章素来注重可读性；这篇已经是开创部落格以来最硬的文章了，我实在必须Cut Corners，请知情的读者谅解。不过留言栏是个补充细节的好地方，欢迎你们来指教。

caspase

2015-08-28 00:00:00

没有深入了解的部分读者，可能会对黄军就教授直接对人类胚胎进行实验感到不妥，这也是受到西方质疑的最重要一点。其实黄军就教授使用的人类胚胎，是所谓的‘三核受精卵’tripronuclear zygotes，在试管婴儿的体外授精过程中，有大约6-7%的几率产生三核受精卵，也就是两个精子同时和一个卵子结合。这样的胚胎是授精失败的产物，是不可能发育成为胎儿的。我认为用这些医疗的失败副产品做这样的实验完全没有伦理上的问题。但是很多西方媒体有意忽略这一点，让民众以为中国允许人类胚胎实验。

“

是的。

其实每年世界上堕胎或流产的案子没有上亿也有几千万个，就算是完美的胚胎和它们比起来，距离真正可称为人的程度也还差得更远，我个人觉得没什么大不了的。

K.

2015-08-28 00:00:00

那些极端反堕胎者可不就是从受精卵开始算，早就有了反口服避孕药的

我认为这些基督教的狂热者对科学的阻碍可以与中世纪相比，只不过现代的教会没有中世纪那么大的权力，而中国能避免这一点，是相当大的优势

“

但是硬是把自己社会里的不合理细节提升为普世价值，正是美国人的拿手好戏，所以未来对中国科学界的口诛笔伐是必然的。

小花

2015-09-23 00:00:00

美国因为宗教上的限制,已经开始限制很多生物科技上面的发展了,前面的黄军就是一例.

想请问你觉得未来15年内生技的黄金期,也会发生在美国吗?还是不一定呢?

“

不一定。很多人才还是在美国，但是资金和自由却在亚洲。

小花

2015-09-24 00:00:00

再问一个问题,美国在科研投资跟药品利润上比其他国家都高很多,许多昂贵的药品也都只能在美国贩卖.为什么您却觉得资金在亚洲呢?

“

前面的留言讨论已经详细解释过了，我在这里简单总结一下。

美国对上游的基础科研投资已经远落中国之后。药品公司利润虽高，大部分被财阀吸走了；能用来投资的，只专注在新的控制性药物上，其中超过一半以上相对旧药没有优势，纯靠公关和律师来保障销售量。专利系统被改为专为这样的大公司垄断服务，有真正突破的小公司反而会面对一大堆莫名其妙没有医疗意义的专利保护，不能公平竞争。

caspase

2015-10-02 00:00:00

前两天参加了在EMBL欧洲分子生物学实验室的一个研究报告会。得到一些我个人认为对这个领域很重要的信息，在这里分享一下。

1：crispr技术发展之快超过我的想象，目前最前沿的实验室已经不再使用plasmid或者virus作为crispr的载体，而是直接纯化cas9蛋白，并在体外跟sgRNA直接结合成为ribonucleoprotein,RNP.然后直接将这种复合体送入细胞，大大提高了效率，降低了plasmid被随即整合入基因组的可能性。

2：cas9和sgRNA的结构也逐渐被揭开，接下来肯定会根据已知结构来进行人为更改，off-target和efficiency会得到进一步改善。

3：crispr用来改良人种可能比我想象的要更早。bill skarnes是这个领域的权威人物，他认为用这个技术来对胚胎进行基因治疗对整个物种来说没有任何意义，因为这样做无法进一步丰富人类的基因库 gene pool,其应用也仅限于少数极富有的家庭。他认为应该结合人类基因组计划，用这个技术来改善整个人类的基因库，比如改善人类耐严苛环境的特性，增强运动能力和智力，甚至不排除可以用来生产超级战士。bill skarnes不是科幻作家，是一个很严谨的科学家，他说这些观点的时候在现场并没有引起反驳，可见西方科学家和西方大众的考量是完全不同的。我认为西方强调crispr的gene therapy的潜力不过是给大众一个更容易接受的理由的来继续发展gene editing，技术成熟之后，肯定会有改良人种的应用。比如如果真的出现星际移民，gene editing绝对有助于创造太空人类。

“

我也听说了，而且已有论文把cas9切开DNA的“剪刀”部分换成更好的。

我想Skarnes只是从纯科学的角度讨论他的梦想，实际上的政治阻力必然会极大的。

[返回索引页](#)