



# 遺傳工程的進展

翁啓惠

—作者現服務於中研院生化研究所

在一剎那的電閃光中，我在生命中看見你的創造是多麼無限——由世界到世界的幾許死亡中的創造。

泰戈爾·採果集·第五〇首

## 引言

正常生物細胞的遺傳基因 DNA 能複製相同的基因於相同的細胞或子代借以表現相同的功能；同時可以自己當模版轉錄成 RNA (Transcription)，其中 m-RNA 又可依其一定的序列在核糖體 (ribosome)，t-RNA，氨基酸，能源 GTP 及其他因素存在下翻譯成蛋白質 (Trans-



lation)。蛋白質的氨基酸序列與 m-RNA 之核苷酸序列是對應的，m-RNA 之列又跟 DNA 對應，所以蛋白質實在是基因上的遺傳密碼所轉譯而成，每三個核苷酸負責一個氨基酸。如果基因有任何差錯，自然影響其表現 (Expression)，蛋白質的合成也就出了問題。生物體的新陳代謝過程往往由酵素促成反應，這些酵素就是蛋白質。基因的障礙必然造成某些酵素無法生成，或合成的蛋白質構造改變了，使得代謝跟着發生故障，嚴重者且有生命的危險。這些都是所謂遺傳疾病。

遺傳疾病的治療法之一就是從其他生物體分離所需的蛋白質注射到患者，但不同生物體的蛋白質雖然生理功能相同，其構造未必相同。長久使用可能產生抵抗而引起免疫學上的問題。如以純化學方法合成所需的蛋白質或其他藥物固然是一可行的途徑，但一般酵素的分子量多是數以萬計，以人工方法合成實在是一大難事。到目前為止，由化學合成具有完全活性的最大蛋白質是由 58 個氨基酸所構成 (就是 Trypsin Inhibitor)。雖然人體 ACTH (39 個氨基酸) 已被成功的合成，但距臨床應用仍有一段距離，因為很可能尚含有少許無法被檢定出來的不純物質於合成產物中，以造成如前所述的免疫學問題。其他一些更小的蛋白質如催產素 (Oxytocin)，加血壓素 (Vasopression)，目前已可由化學合成來供應臨床需要。

科學家長久以來的夢想就是如何將高等生物的基因移植到低等生物，使低等生物在大量繁殖下連續生產高等生物蛋白以治療各種疾病。這也是目前遺傳醫學工程的中心問題。這個夢想經過多年的努力總算成功了，但緊跟而來更被關心的問題就是：經移

植的基因可能使低等生物如細菌產生突變而成其他生物，或感染到其他生物，或製造出其他產物以危害人類。基於這個理由很多科學家呼籲停止這方面的研究，甚至於引起政治問題。哈佛及 MIT 即曾在州政府的禁止下終止了這方面的研究。另一些科學家則不以為然，他們認為帶有高等生物基因的細菌生活能力必然減弱，且不易突變或感染；況且可以研究出一種控制的方法培養它，使其無法危害人類。面對這麼多的疾病如糖尿病，溶血症 (Hemophiliace)，鐮刀形貧血症，侏儒症等等，這種研究是值得進行的。將來或有一天能將人體 46 個染色體上數十萬個基因分別移植到細菌中，由其產生的蛋白質就可知道這些基因所負責的功能，如此對於任何疾病必能有很詳細的分子基礎以瞭解，進而設法控制或預防；即使癌症 (可能是基因故障造成不正常細胞的產生) 到時也可迎刃而解。

### 利用 m-RNA 在試管中製造蛋白質

生物體的不同組織往往因生理功能之需要有不同的蛋白質被合成，例如胰臟細胞有製胰島素的 m-RNA，癌細胞有其專製某些蛋白質的基因而異於正常細胞。如從這類細胞分離出製造某一特殊蛋白質的 m-RNA，必可在試管中利用這 RNA 與其他蛋白合成所需的要素來製造這個特殊蛋白質。這方面最成功的例子就是利用抗體來分離 m-RNA。細胞中的核糖體是一直在進行蛋白質合成的，如將某一特殊蛋白質的抗體加入正在合成的核糖體溶液中，則抗體與正在合成的蛋白質 (抗原) 結合而沈澱出來。這沈澱含有抗體，抗原，t-RNA 和製造該蛋白的 m-RNA。從這沈澱就

可分離出這個 m-RNA，加入的抗體愈純，所得到的 m-RNA 就愈沒有他種 m-RNA 滲於其中。將所得到的 m-RNA 放在試管中，加上其他蛋白質合成所需的因素 (即核糖體，t-RNA，氨基酸及能源 GTP) 即可生產所需要的蛋白質。這種技術已成功的應用到卵白蛋白，及牛乳糖苷酶 ( $\beta$ -Galactosidase) m-RNA 的分離。過去由於抗體純化不易，引起 m-RNA 分離的困難。最近則因為親和柱層分離技術 (Affinity Chromatography) 的發展使得抗體的純化成為可能。這技術的基本原理就是將純化的抗原 (蛋白質) 固定到聚合物上當作親和柱層分離的固定相，再將抗體血清 (一般將抗原注射到動物中製得) 流入柱層，其中只有對該抗原的抗體被吸着，其他血清蛋白則流出。吸着的抗體再以較高濃度的緩衝溶液或改變清洗液的 pH 即可將其流出來。這種經過高度純化的抗體就能用以分離相當純的抗原 m-RNA。老鼠骨細胞瘤中製造免疫球蛋白的 m-RNA 即以此法分離，並利用其在試管中製造免疫球蛋白 (見參考文獻 1)。

這種技術將來必能更發展，分離出的 m-RNA 除有上述用途外，尚可以自己當模版製造 DNA (利用 Reverse Transcriptase)，也可以檢查其他細胞是否有製造此 m-RNA 之基因 (利用 Hybridization 的方法)，如此可以幫助瞭解這種基因如何製成 m-RNA，再製成蛋白質，以及受那些因素的影響。這對於遺傳疾病的探討自有其意義。利用類似方法當然可以在試管中製造其他蛋白質，但它的缺點就是不能連續生產，所以產量很少，必須找出更有效的途徑來解決。

### 基因移植與蛋白質的連續製造





誠如前言所提，將人體基因移植到活的細菌中使其連續製造人體蛋白質是分子生物學家的最大希望。大腸菌的遺傳物質除了主要部分染色體外，另有小的遺傳物質存在於染色體外的細胞質中叫 Plasmid，這 Plasmid 的基因較簡單，其表現的功能比較容易控制。進化程度較接近的生物，基因移植的成功機會較大；進化程度相差較遠者則較難。如以人體基因移植到大腸菌中，即使能轉錄 m-RNA，但接下去的蛋白質合成並不一定能進行。因為 m-RNA 有時須經化學修飾方可起始蛋白質的合成，這種修飾工作自然是酵素參與反應，不同生物的酵素系統當然有差別。目前在這方面最成功的例子就是牛乳糖苷酶的合成。大腸菌在正常情形下是不製造這種酵素的，這種蛋白的基因有一定的控制系統叫 Lac Operon，

其中負責此蛋白合成的基因乃受到隣近基因操作體 ( Operator ) 的控制，也就是操作體能製造一種蛋白質叫抑制體 ( Repressor ) 將操作體覆蓋住，使得製牛乳糖苷酶的基因無法表現其功能。這個操作體約含二十幾個核苷酸，已經可以利用抑制體和它有親和力的原理分離，純化，並決定出構造。目前也可利用化學方法大量製造，然後移植到正常大腸菌的 Plasmid 中。這種方法就是將大腸菌的

plasmid ( 環狀 DNA ) 以離心法分離，然後利用特殊酵素 ( EcoRI ) 水解—這種酵素專門找某一特定的位置作用 ( 切 TTAA 3' 端 )。化學合成的操作體也在其左右各接上另一段合成的核酸，其中也含 TTAA，然後再以這種酵素處理，結果所得產物與經此酵素處理過的 plasmid 成互補接合 ( Complementation ) 在連接酵素 ( Ligase ) 的催化下即可製得移植基因的環狀 Plasmid。然後將正常的大腸菌以少量的氯化鈣處理使其細胞膜部分改變，而令 Plasmid 進入其內部，進去的數目不定。如此大腸菌仍能繼續繁殖，當然移植的基因也跟着複製而傳於子代。移植到 Plasmid 上的操作體即能將大腸菌染色體上 Lac Operon 的抑制體拉開，使牛乳糖苷酶連續的製造。

其他的基因也可利用這種方法移植到大腸菌中，目前加州大學正在進行的就是人體胰島素基因的移植，負責胰島素的基因最初所製造的蛋白質並不是胰島素，而是其前體。胰島素前體合成後方由酵素轉變成為具有功能的胰島素。到目前為止，這種胰島素基因已成功的移植到大腸菌中且可以繁殖，但胰島素並沒有由繁殖中的大腸菌產生出來，也就是翻譯的階段仍然有問題，相信不久的將來能解決 ( 見參考文獻 2, 3, 4, 5 )

### 未來的展望

基因的移植雖然是一很有將來性的工作，可以解決很多遺傳疾病，但這種實驗可能帶給人類的危險一直是科學家所關心的問題。目前已找到一種不能製造胸腺嘧啶 ( Thymine ) ( DNA 的構成分 ) 的變種大腸菌，這種大腸菌必須在培養液中加入胸腺嘧啶方可生活，所以這變種大腸菌一旦離開實驗室即死亡。如此即可控制大腸菌的行踪，以避免感染的問題。由於變種大腸菌的發現使得遺傳工程又有了新的希望，很多研究單位又開始這方面的研究，相信這種新的技術能夠帶給人類以新的世界。

### 參考文獻

1. I. Schechter, *Biochemistry*, 13, 1875~1885 (1974)
2. R. Wu et al., *Nature*, 263, 744-748 (1976)
3. H. W. Boyer et al., *Nature*, 263, 748-752 (1976)
4. H. W. Boyer et al., *Cell*, 10, 521-536 (1977)
5. *Time*, April 18, (1977)