

人造基因在生物体内表达的首次成功

最近,美国科学工作者用化学合成的生长激素释放的抑制因子(Somatostatin 下同)基因成功地无性繁殖到大肠杆菌中,首次将人造基因在细菌“工厂”中生产蛋白质,首次证明真核生物的人造基因可以在原核生物中表达。

Somatostatin 是哺乳动物下丘脑分泌的一种十四肽激素,它在体内对多种激素(例如生长激素、胰岛素、

胰高血糖素等)的分泌起着抑制作用,可用来治疗肢端肥大症、糖尿病和急性胰腺炎等疾病。这种激素以前只能从动物下丘脑提取或用化学法合成,不仅成本高、产量低,而且难于获得纯净产品。因此,基因工程技术的这一重大突破,为高产质地生产更为价廉和纯净的医药开辟了新的途径。

主要的实验步骤(图1)和结果:

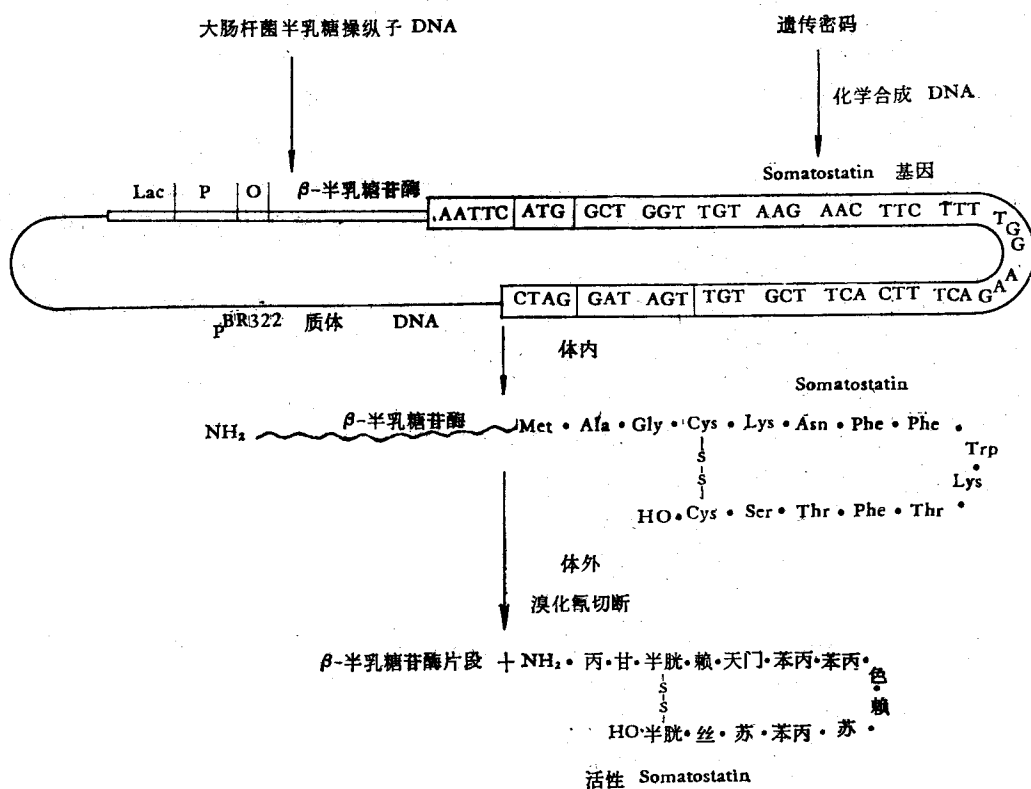


图1 实验设计示意图

化学合成的 Som 基因同大肠杆菌 β -半乳糖苷酶基因在质体 pBR 322 上重组在一起。转化到大肠杆菌中,嵌合型质体指导合成嵌合型蛋白质,该蛋白质在体外用溴化氰专一性地在其甲硫氨酸处切断,结果产生活性的哺乳动物多肽激素——Somatostatin

1. 化学合成 Somatostatin 基因

根据 Somatostatin 已知的氨基酸序列设计最可能得到表达的核苷酸序列(遗传密码),用三酯法合成各个密码子,以密码子为单位合成长度从 11 个到 16 个

核苷酸的八段寡核苷酸,最后合成出含有起始信号、终止信号和限制性内切酶作用位点的 Somatostatin 基因;

2. 重组 DNA

(下转第 45 页)

六、肾阴肾阳与丘脑下部-腺垂体-肾上腺皮质系统的关系

肾阴肾阳是五脏六腑阴阳的根本。人们在研究肾虚的本质时,发现各种疾病,凡属肾阳虚者,尿中 17-羟皮质类固醇(简称 17-羟)均较正常人为低。尿中 17-羟的来源主要是肾上腺皮质分泌的一种皮质醇及其代谢产物,随尿排出。排泄量的多少,在一定条件下,反映肾上腺皮质功能,但其本身受丘脑下部-腺垂体的控制,所以肾阳虚与丘脑下部-腺垂体-肾上腺皮质系统功能失调有密切关系。我组在慢性肾炎的研究中,根根中医理论“虚则补之”和“阴阳互根”的原则,采用中西药的特点进行综合治疗,取得了较好的效果。根据中医辨证,凡具有神疲倦怠、肢凉怕冷、腰酸痛、面色㿔白、纳少、小便清长、大便溏薄、舌淡有齿痕、苔薄白、脉沉细或沉迟等肾阳虚主要临床表现者,同时测定尿 17-羟含量,均比正常人明显降低(正常人 24 小时尿含量平均为 8.47 毫克,肾阳虚患者为 4.01 毫克)。最近我们用放射免疫法测定肾虚病人血清皮质醇含量,与上述结果一致。我们对小儿

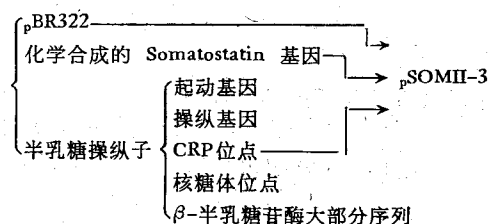
肾病综合症组采用强地松加中药治疗。用强地松之初,为防止强地松(可看成纯阳之药)补阳过胜而耗阴,加服滋阴中药(如左归饮或六味地黄),以免由肾阳虚转变为肾阴虚。当强地松减到维持量时,当避免肾上腺皮质由于长期使用强地松造成的负反馈作用而受到抑制,及时在滋阴药中加上助阳药,如附子、肉桂、杜仲等(左归饮换成右归饮),同时加用具有促肾上腺皮质激素作用的中药(如秦艽),使肾上腺皮质功能逐渐得到恢复。根据肾虚的临床表现,结合尿 17-羟或血清皮质醇的测定,不仅为肾阴肾阳的辨证提供了客观指标,而且为中西医结合治疗提供了理论基础。

以上是个人在临床实践中学习中医的一点粗浅体会。试图从生物化学角度通过临床观察和实验室研究说明祖国医学的某些道理,可能是局限的,而且是探讨性的。但它可能提示从多学科研究的可能性。只要我们以辨证唯物主义作指导,遵照毛主席关于“洋为中用”和“古为今用”的教导,坚持走中西医结合的道路,一定能为创造我国统一的新医学、新药学做出贡献。

[本文于 1977 年 2 月 22 日收到]

(上接第 46 页)

由三部分 DNA 重组成嵌合型质体,即,



3. 大肠杆菌的转化和筛选

用嵌合型质体转化大肠杆菌 RRI, 在含有 5-溴-4-氯-噁唑半乳糖苷 (X-gal) 的培养基上,能够合成 β-半乳糖苷酶的菌落,显蓝色,再根据四环素抗性和对氨基青霉素抗性,筛选含有 pSOMII-3 的转化株;

4. 鉴定

(1) 放射免疫活性的测定 用溴化氰处理转化株的细胞抽提物,测出四株元性繁殖系 (pSOMII-3、5、

6、7) 具有放射免疫活性;(2) 序列分析 用化学试剂法对转化株质体 DNA 进行核苷酸顺序的分析,证明它含有正确序列的 Somatostatin 基因和正确链向的半乳糖操纵子系统;(3) 诱导 加入半乳糖操纵子的诱导物 IPTG 后, Somatostatin 基因活性增加,最高可增加 7 倍,证明 Somatostatin 基因的表达是在半乳糖操纵子调控系统的控制下进行的;(4) 层析性质 在 Sephadex G-50 柱上(于 50% 乙酸中),转化株细胞抽提物的 Somatostatin 活性组分,同对照的 Somatostatin 一起层析;(5) 激素抑制作用 转化株(含 pSOMII-3)细胞抽提物可以抑制大鼠垂体对生长激素的分泌;(6) 产率 每个转化细胞产生的“β-半乳糖苷酶-Somatostatin 杂种”蛋白质,至少占细胞总蛋白的 3%,其中 Somatostatin 的含量最高可达 320 微微克/细胞总蛋白。

摘自“Science, 198, 1056, 1977”,陈德高