

生物技术推波助“蓝”

■本报记者 王庆

以“蓝色宝藏”为依托的海洋生物经济正热火朝天。

如今,越来越多的人享受着来自海洋的各种“福利”:从医药到婴儿配方产品,都有来自海洋生物的成分。

欧洲科学基金会估计,海洋生物技术当前的全球市场价值为80亿欧元,如果工业界与科技界共同合作,其市场价值将以每年12%的速度增长。

鉴于海洋经济的诱人前景,世界各沿海国家更是纷纷加入到这场“蓝色”的圈地运动中。

生物技术揭开海洋面纱

中科院日前发布的《2013高技术发展报告》显示,目前全球仅有5%的洋区已被人类探测,新估计海洋中还有1/3的物种尚不为人所知。

显然,发现和研发形形色色的海洋生物,对人类来说无疑是巨大挑战。

近年来,各种各样的遥控潜水器和水下机器人不断问世,综合集成声、光、电和生物传感器等技术,各种海洋生命探测仪器和设备应运而生。

例如“海神号”无人深潜器,能在1.1万米深海中用两种互补模式运行;而“深海之眼”则可在长达24-48小时内几乎不造成任何干扰地观察深海生物。

然而,“看得见”不代表“看得懂”。幸好,基因组学等各种生物组学技术正在帮助人类逐渐揭开海洋生物资源的神秘面纱。

中科院海洋所前所长相建海对《中国科学报》记者表示,基于全基因组测序的组学研究能够全面解析生物的基因结构和功能,使人们可以从基因组水平,而不是孤立地从单个基因来认识和理解生物的各种生命过程,如生长、发育、抗性,从而为人们设计和优化生物性状提供了可能。

近年来,我国加大了对海洋生物基因组测序的支持力度,杜鰻、半滑舌鳎、大黄鱼、石斑鱼和鲤鱼的全基因组测序均在我国宣告完成。

此外,宏基因组的介入,则有助于分析给定生物群落的全部基因,从而避开一一鉴别物种的困难,特别适合于海洋环境微生物群落的研究。

“基因组学等各种生物组学技术正在帮助人类逐渐揭开海洋生物资源的神秘面纱。除此之外,生物有机化学、生物合成学、免疫学、病害学等学科也使海洋生物技术的“弹药库”变得丰富而强大。

除上述组学研究,生物有机化学、生物合成学、免疫学、病害学等学科也使海洋生物技术的“弹药库”变得丰富而强大。

海洋牧场助水产养殖升级

相建海介绍,上述海洋生物前沿技术主要应用于现代水产养殖、海洋农业生物安保和食品安全、海洋生物资源保护和环境的生物修复等领域。

从多位业内人士的观点综合来看,在蓝色经济中,水产养殖业是基础和根本。而在生物技术的带动下,此“水产养殖业”的前面必须加上“现代”二字。

现代水产养殖是在人工控制环境下,借助生物反应器等生产水生生物,不仅包括鱼虾贝类,还包括药材、食物添加剂、可替代石油的脂类和食品等。

对于水产养殖现代化升级的迫切性,好当家集团有限公司科研处处长孙永军对《中国科学报》记者表示,我国水产养殖产量的提高主要还是依靠规模的扩大和人力、物力的大量投入。随着养殖面积和密度的不断加大以及环境的恶化,近几年个别地区水产养殖单产降低、品质下降、病害频发现象逐年加剧,造成了严重的经济损失。



如何助力海洋水产养殖升级?中科院海洋所副所长杨红生特别推崇“海洋牧场”的模式,即主要通过放流、底播、移植等方式将经中间育成或人工驯化的生物苗种放流入海,利用天然饵料或微量投饵育成,并进行高水平的生物管理和环境控制,扩大海洋生物资源量,实现可持续捕捞。

杨红生在接受《中国科学报》记者采访时介绍,与捕捞相比,海洋牧场注重对生物资源的养护和补充;与海水养殖相比,海洋牧场可实现物质和能量的多营养级利用,有效降低投入品对海域环境的影响,拓展了养殖生物的活动空间,提高了养殖产品的品质;与单纯人工放流相比,海洋牧场注重生态修复和资源管理,保证了增殖目标生物成活率与回捕率。

育种水平亟待提高

正所谓“农为本,种为先”。在谈及海洋生物产业现代化问题时,受访者谈论的另一重点则集中在海洋生物资源的育种上。

相建海说:“海洋生物技术在促进传统产业转型升级方面正发挥着重大作用,其中最为活跃的领域是海洋种业。”

除了主要养殖种类的生物育种,新的

高值养殖种类的人工繁育还可以通过综合利用内分泌生理和环境因子调控、生殖和遗传操作技术来实现。

例如,味道鲜美、价格不菲的龙虾一直靠野生捕获。近年来,挪威和澳大利亚科学家先后宣布成功实现龙虾的人工繁育。

再如,金枪鱼价值很高,一条蓝鳍金枪鱼甚至可卖到70万美元,而2011年的捕捞量较1970年下降了85%。澳大利亚蓝鳍金枪鱼人工育种因技术突破也被《时代周刊》评为当年世界第二的创新成果。

相比国外,我国海产的育种水平却有待提高。

孙永军指出,我国开展养殖的各种海产品大部分是未进行系统选育和改良的品种,其遗传基础仍是野生型的,经过累代养殖,不同程度地出现了遗传杂合度降低、抗逆性差等种质退化问题,海产养殖业迫切需要高产、优质、抗逆能力强的新品种培育和良种推广机制。

对此,相建海建议,为了保证海水养殖持续健康发展,必须深入研究野生种类的驯化和培育,利用细胞、分子技术,实行人工遗传改良,建立起创新的种质体系,源源不断地提供新的优良种苗,实现养殖良种化。

本周看点

栏目主持:黄明明

邮箱:mmhuang@stimes.cn

新闻背景:美国怀特黑德研究所创始人Rudolf Jaenisch曾在1974年成功构建出第一只转基因小鼠,由此改变了遗传学的研究模式。近日,他的团队在《细胞》(Cell)杂志上发表的研究成果或将再次彻底改变遗传工程动物模型的构建方式。

动物模型构建的革命

■本报记者 王庆

上世纪70年代,美国怀特黑德研究所创始人Jaenisch通过将SV40病毒的DNA注射到小鼠的囊胚中,构建了第一只转基因小鼠,从而改变了遗传学研究模式。

这一次,他又为动物模型构建带来了革命性进展。“这种新方法颠覆了游戏的规则。我们现在可以在3-4周的时间内构建出携带5种突变的小鼠,而采用传统的方法则需要3-4年的时间。并且这种方法相当简单,甚至比传统的方法还要简单得多。”Jaenisch说。

中美奥达生物技术(北京)有限公司上游工艺开发部主管散丹对此评价道,该研究进一步将靶向基因操纵推向高潮,使得多个基因敲除、敲入变得更为简单、高效,是转基因动物模型构建的里程碑,它有潜力让人们对人类遗传特征和疾病研究产生新的认识。

传统方法局限多

那么,Jaenisch提到的传统方法有哪些短板呢?源于上世纪的传统模式,是利用显微注射的方法,将外源DNA片段导入小鼠受精卵的原核中。“而该方法只能将外源DNA片段导入动物基因组中,无法对体内基因组的特定序列进行特定地修饰。”赛业(广州)生物科技有限公司技术副总裁欧阳斌表示。

上世纪80年代后期,小鼠ES细胞及同源重组技术的发展催生了基因打靶技术,使得科学家们可以对小鼠的任何基因序列进行随意地修饰。

但这一方法的缺点同样明显。欧阳斌指出,利用此技术制备基因工程动物模型花费较大、过程较长,而且由于基因的修饰是在ES细胞中进行,目前用基因打靶技术只能用于制备基因改变的小鼠和大鼠动物模型。

近几年,生物学家们发现,两种人工改造过的核酸酶ZFN和TALEN能够识别并结合指定的基因序列位点,高效精确地切断。随后,细胞利用天然的DNA修复过程来实现DNA的插入、删除和修改。

ZFN和TALEN技术结合了原核注射制备周期短和基因打靶技术定点修饰的特点,而且可以应用到除小鼠和大鼠之外的其他动物。

“但ZFN和TALEN必须是两个功能体各识别一段序列,之后形成二聚体,进行剪切,1次只能编辑1个靶位点,若要获得多个靶位点都被编辑的小鼠需要3-4年。”散丹对《中国科学报》记者说。

基因组编辑现新星

Jaenisch团队的研究成果则有效解决了上述难题。他们正是借助了基因组编辑工具新星——CRISPR/Cas系统。

CRISPR是细菌用来抵御病毒侵袭、躲避哺乳动物免疫反应的基因系统。科学家们利用RNA引导Cas9核酸酶可在多种细胞的特定基因组位点上进行切割、修饰。“与ZFN/TALEN相比,CRISPR/Cas更易于操作,效率更高,更容易得到纯合子突变体,而且可以在不同的位点同时引入多个突变。”欧阳斌说。

散丹认为,CRISPR/Cas系统作为基因组编辑的新型强大工具,将令动物育种、干细胞定向分化、遗传疾病定点修复等在未几2-3年内得到迅猛发展。

例如,由于CRISPR/Cas系统具有更强的扩展性,没有物种的限制,若用该系统在农作物和生产性动物的细胞中进行基因组编辑,可能获得高品质的胚胎,使农作物和生产性动物更加有效地抵抗疾病,收获到多产量、高品质的动植物农副产品。

而该研究成果在医疗健康方面的应用前景则更令人兴奋。科学家利用此技术将可能激活小鼠、猪或斑马鱼靶基因,来研究早期胚胎发育和成年生活的遗传特征。在遗传组成上,这些动物与人类拥有大约90%的相同性,研究它们的发育有助于认识人类的疾病。

还有研究认为,大多数癌症是随时间的推移而发生的基因零星突变所致,上述研究可能促使人们能够操纵这些基因。

此外,鉴于很多疾病都是多基因突变共同作用引发的疾病,为了鉴别突变的因果关系,研究者必须同时进行基因组中多个突变的研究,此系统能够使这种多突变研究变得更简单、更省时和更安全。

药品的开发和评价都基于转基因小鼠模型。快速有效地开发新的转基因小鼠模型已经成为国内外许多实验室的主要课题。

“无论是ZFN还是TALEN,都需要针对不同靶点改变核酸酶前面的识别序列,这些识别序列的合成或组装耗时且费用很高。”散丹说,“Jaenisch团队的研究实现了快速、高效、稳定的转基因小鼠建立方法,可以降低药物开发的成本,增加药物开发和评价的灵活性和可靠性,无疑将促进制药领域的发展。”

未知因素待消除

当然,正如任何事物都有待检验一样,CRISPR/Cas同样面临不少未知因素。

“其中最为关键的就是缺乏大量基础性研究,需要进行更多研究工作,提高该系统的精确性。”散丹说。

在免疫原性方面,散丹分析道,人们不能预期引入的CRISPR/Cas9蛋白是不是会引发免疫系统的攻击。CRISPR/Cas是在细菌中发现的,可能在临床治疗中存在问题。到目前为止,这样的技术似乎只能用于那些可以从病人体内抽取出来的细胞,对它们进行体外操作,再注入病人体内。

“CRISPR/Cas系统操作在人体细胞内到底精确程度如何,也必须小心评估。”她说,“因为极少的错误也可能导致产生细胞癌变等严重的后果,所以将CRISPR/Cas9用于疾病治疗还有很长的路要走。”

此外,另一个未知因素是CRISPR/Cas在全基因组DNA中的特异性。

若应用于实际的科研或医疗中,该系统还需要有高度的特异性,即避免错误的酶切。事实上,CRISPR/Cas系统进行DNA剪切的精确性还未达到人们的预期。这些非特异性均可能带来毒性。如何设计出脱靶效应最小化、高精度的CRISPR/Cas将是研究方向之一。

“然而,尽管关于CRISPR/Cas系统的设计和使用仍有很多方面需要完善,但其巨大的潜力的确令人期待。”散丹说。

■热追踪·冷分析

功能基因组学渴盼技术突围

■许静静

人类基因组计划的实施,使人们初步破解了人体的基因密码,并利用不断发展的测序手段,获得了大量静态的碱基序列。

然而,新的命题接踵而至:如何解析这些序列信息?这些序列背后对应什么功能?这些功能是如何实现的?

为此,功能基因组学应运而生。

中国科学院遗传与发育生物学研究所研究员马润林表示,功能基因组学就是要解析生物的遗传信息,从基因组水平和层次上,对其内的各个基因或特定序列进行功能分析,揭示目标基因组的功能及调控机制。

微观世界破译宏观问题

在一个物种的基因组中,如果基因功能不被解析,庞大的基因组只是A、T、G、C四种碱基的序列排列,那人们将无法从中获取遗传信息。

而如果运用功能基因组学的缺失突变研究原理,敲除基因组的某个基因,观察生物个体发育成熟后与正常表型有何不同,便可鉴定出这个基因的功能。

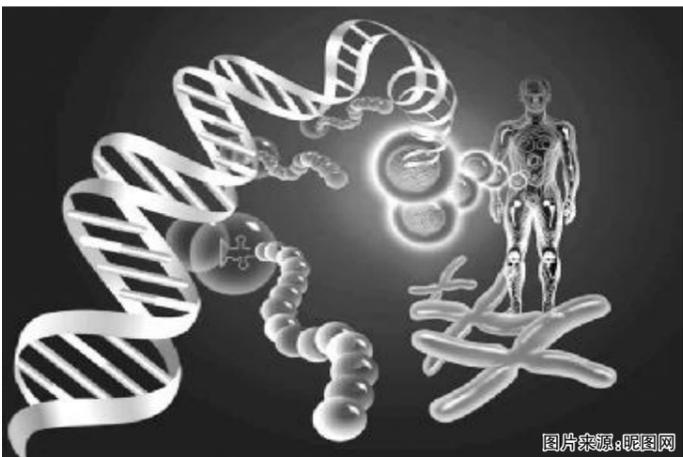
以个体为对象,功能基因组学可以研究生殖发育相关基因及其异常导致的疾病,如出生缺陷。就整个物种比如人类而言,分析人类某些染色体上遗传标志特征还可以推测人类迁徙。

马润林的实验室就在做着上述两个课题。其中,人类迁徙相关课题的研究完善了世界人类迁徙图谱,不仅有力地证明了现代人类的祖先源自非洲,还揭示了现代东亚人群(中国人)的祖先在最后一个冰川时代经过“南线”和“北线”两条迁徙路线。

这个结果可以部分解释大家所统称的“南方人”和“北方人”所表现出种种差异的遗传基础。

马润林介绍说:“我们通过对全基因组水平上开展不同个体的重测序,获得了不同个体之间的遗传变异和生物多样性的情况,摸清这两个情况就很容易了解到生物的进化、起源和迁徙,我们甚至可以推测生物进化过程中基因组内的变化、基因组与外部环境的相互作用。”

在功能基因组学领域内,科研人员还通过研究肉眼看不到的基因,解决了宏观世界里很多的问题,比如疾病与健康、食品与生存、环境与生态。



图片来源:昵图网

例如,科学家们已经发现特定基因的突变就能导致乳腺癌。而利用功能基因组学技术,则可以探究疾病的产生机理,建立基因和疾病的关系。

作为人口大国,农业问题是我国的重中之重。马润林表示,如何使农作物品质提高、产量增加、抗病虫害能力加强,也要通过开发基因技术,大量运用基因修饰和转基因技术来实现。

不仅如此,通过功能基因组学研究还可以了解环境中物种间相互作用。

“我们所解决的问题不是独立存在于生态环境中的,而是与其他物种关联在一起,如果不全面考虑物种间相互作用,就会导致新的遗传问题。”马润林说,“在遗传学上,功能基因组学对解决环境中各物种友好相处有很大的用武之地,只是现在人们关注得并不多。”

以结构基因组学为基础

马润林表示,功能基因组学应建立在以全基因组测序为目标的结构基因组学之上。

关于转基因材料,要获得各基因的详细序列资料和调控信息;关于转基因载体,要把改造好的基因放到植物或动物体内,寻找到一个合适的途径。另外,还要解决目标基因与寄主植物或动物基因组相容性问题,使目的基因在寄主体内长期稳定表达。

然而,在实验室里,由于很多调控基因未能破解,导致目的基因被沉默而无法表达。例如,把修饰好的基因转入到大肠杆菌上能表达,但转入到植物动物体内则往往就不表达。

马润林表示:“常规做法只是部分了解调控机制就去试验转基因,转基因之后再根据出现的问题,寻求解决方法。其实,人们最好是能把调控机制搞得很清楚了再去转基因,而非在模糊状态下进行。”

马润林表示,上述问题都解决后,还要解决环境安全性评估问题,以保证转基因生物只发挥我们想要它发挥的作用,阻止其他不良环境效益的产生。

马润林研究室就曾承担过转基因绵羊的课题。为了提高羊肉的营养价值,例如增加羊肉中 $\Omega-3$ (一种多不饱和脂肪酸)的含量,他们把线虫中能合成 $\Omega-3$ 的基因克隆改造并转移到一种真核表达载体上,再将其整合到绵羊体细胞的基因组中。

经试验检测,重组目的基因可在培养的绵羊体细胞中表达,把这个重组细胞核再转入到绵羊的去核卵母细胞中,在体外发育成一种微小的胚胎(囊胚),然后用手术移植到代孕母羊体内。最后,在发育成熟的转基因羊体内,每一个细胞都能携带和表达 $\Omega-3$ 脂肪酸基因。

“继续培育观察转基因羊的下一代是

否能稳定表达 $\Omega-3$ 脂肪酸,接下来还要进行食品安全性评价。”马润林说。

技术瓶颈待解

如今,基因功能鉴定的方法不断推陈出新,例如基因表达的系统分析、cDNA微阵列、DNA(基因)芯片、蛋白质组学以及基于转座子标签和T-DNA标签的反求遗传学技术等。

功能基因组学的发展也需依赖技术的革新,但是,目前制约其发展的技术瓶颈却不在少数。

转基因技术的复杂性就直接导致了这类实验无法广泛开展。

“目前,转基因在多数情况下仍是随机插入,插入后筛选成功表达的个体样本,这是导致转基因成功率低的一个原因。”马润林认为,如果能够开发出一套简便的定点整合的技术,将有利于转基因的成功。

其次,基因组数据仍然不足。尽管第二代测序平台技术使科研人员掌握了高通量、大规模的数据,但基因序列的准确度和完整性仍然较低,无法满足功能基因组研究的需要。

此外,如何深入解析现有数据也是一大技术瓶颈。马润林称,只有寻找到具有特殊价值的数据库,才能阐明和理解大量数据所包含的生物学意义。然而,庞大的数据对计算机软硬件性能和科研人员的数据处理能力都提出了更高的要求。

“若要实现功能基因组学的全部目的,最好知道这个物种的全部序列信息、调控元件、SNP,越详细越好,目前水平显然不足以达到这些目的。”马润林举例说,水稻的功能基因组学较为成熟,这得益于其全基因组测序工作已完成。而对于一个物种而言,获得了其足够的结构基因组数据,且遗传背景清楚,才易于开展功能基因组学研究。

不仅如此,基因打靶技术可用于研究单个基因的局部功能和直接效益,但却无法有效解析多基因复杂相互作用。为此,科研人员正在尝试运用RNAi、酶解等技术进行破解。

“功能基因组的核心含义是,各基因并不孤立发挥作用,在研究基因功能的同时,了解基因间调控,搞清基因间排序。”在马润林看来,目前的技术手段只能研究基因的直接效应,却无法有效解析基因之间的相互作用。