



身负重任的猪

■本报记者 袁一雪



▲小图为广州生物院首次培育出的带有基因剪刀的工具猪

在中国科学院广州生物医药与健康研究院赖良学课题组用于研究的养猪场里，生活着一群特别的猪。这里不仅有十几头带有基因剪刀的工具猪，而且拥有六七百头其他在生物医药领域具有重要应用价值的基因修饰猪。而这些猪的用途听起来更加“骇人”，有些基因修饰猪可以模拟人类疾病，如老年痴呆症、渐冻症和亨廷顿舞蹈症等，有些猪可为人体器官移植提供异种器官来源。

异种器官移植一直是国际研究的重点方向之一。如果这一重大难关能够攻克，将会为全世界需要器官移植的上百万病人带来希望。

令人兴奋的是，这道通往希望的大门正在悄然打开——不久前，赖良学课题组在国际权威杂志《基因组研究》上发表了一篇关于构建了条件性表达 Cas9 基因新型工具猪模型的论文。

为何选择猪

要了解这项研究，先得从 Cas9 基因说起。Cas9 基因与 CRISPR 技术曾经在寨卡病毒暴发时大显身手，被用于监测寨卡病毒，甚至还能用来检测 SARS、SARS 冠状病毒、麻疹病毒、流感病毒、丙肝病毒等。前者是基因中的一种核酸酶，后者则是“规律成簇间隔短回文重复”的英文缩写，来自细菌体内，肩负着细菌免疫的“重任”。

在 CRISPR 利用病毒 DNA 自行转化后驱逐这种病毒的过程中，Cas9 是关键的核酸酶。不过这次，两者联手却不是要检测病毒，而是被研究人员在猪身上“埋人”一个可以世代遗传的“秘密”，让它肩负起更大的使命。

这个秘密就是研究人员通过定点修改猪的基因组，为实验打开“方便之门”。

一直以来，医学技术的进步离不开实验动物的牺牲。这是因为要获得有关生物学、医学等方面的新知识或解决具体问题，人类无法在自身上实验，只能在实验室使用动物进行科学的研究。

在用于实验的动物中，既有小鼠、大鼠、兔子等小动物，也有猪、猩猩、狒狒等大动物。不过，因为大动物的孕育期、生长期和性成熟期较长，不如小鼠、大鼠、兔子等小动物繁殖时间短。“如果做基因实验，就需要在胚胎期间更改基因，再放入代孕母体内，等待降生。”赖良学告诉《中国科学报》记者，“小鼠的孕期是 21 天，4 周可性成熟，继续繁殖下一代。但猪的孕期就有 114 天左右，性成熟期则需要 6-8 个月。”所以研究人员往往会选择孕育期较短的小型动物，以便早日看到实验结果。

只是，使用小型动物虽然缩短了时间，却因为小型动物与人体的差别较大，所以实验结果往往无法直接用在人身上。那么谁可以肩负重任，与人类相近，让实验更接近于真实呢？

在众多哺乳动物中，猪虽然与人的血缘不近，但其器官大小、形态结构、生理代谢和免疫系统等与人类非常接近；再者，猪是人类饲养的家畜，数量比狒狒、猩猩等灵长类动物更多，没有伦理方面的障碍，所以猪是目前比较理想的实验动物。

但问题是，如果想根据实验目的敲掉其中特定基因，研究人员又必须从动物胚胎期开始实施，待到动物被孕育出来才能进行实验。这样不仅延长了实验时间，而且因为培育过程复杂，成功率比较低，导致开销很大。

从事基因修饰克隆猪研究近 20 年的赖良学，意识到如果培育一种能够在体内直接进行基因编辑的工具猪就可以解决上述问题。

中国科学院广州生物医药与健康研究院博士、论文第一作者王可品在接受《中国科学报》记者采访时解释说：“我们设想可以通过基因编

辑技术，将能够切割基因组的蛋白基因加入到猪的基因组，这样就等于在猪的体内插入了一把基因剪刀。”而且，通过体细胞克隆获得这种带有基因剪刀的第一代工具猪，还能通过简单的配种实现世代遗传，形成带有基因剪刀的猪种群。这样实验人员就可直接在成年猪身上做实验，而不必再从胚胎期做起，从而简化并大大地加快实验流程。

四年的坚守

找到了研究方向后，2013 年，赖良学又带领团队巧妙地设计了实验方案，接下来的任务，便是向着目标不断前行。

在实验过程中，研究人员利用基因打靶技术，将能够剪开基因的 Cas9 蛋白基因插入到猪基因组的特定位点 ROSA26。“Cas9 蛋白作为剪刀，预先埋入猪基因中。不过为了防止 Cas9 乱剪，所以又加入了开关。”赖良学解释说。

关键是在，配种时，如果公猪与母猪只有一方进行了基因修饰，那么后代并非所有都会呈现阳性；如果公猪与母猪双方都完成了基因修饰，那么所孕育的全部后代会 100% 继承这一基因。

这意味着，实验人员在使用工具猪进行实验时，不需要每次都对猪的基因组进行修饰，只需要在第一代即 F0 代猪的基因组特定位点插入 Cas9 蛋白基因，就可以依靠猪的自然繁殖得到同等类型的“天生自带基因剪刀”的猪，即工具猪。

控制这一开关的关键是 Cre 重组酶。Cre (Cyclization Recombination Enzyme，即环化重组酶) 是来源于噬菌体 P1 的一种酶蛋白，它可以识别催化基因中两个 LoxP 位点之间发生同源重组，从而造成 DNA 的缺失、易位等现象。这一特性在基因工程操作中得到广泛的应用，尤其在诱导型基因剔除小鼠的建立中应用得十分成功。

那么，将这一技术应用到猪身上能否获得成功呢？“我们做得很顺利，因为我们当时实验设计得比较好，所以第一代猪孕育出来时就得到了想要的结果。”赖良学回忆说。

其实，实验之所以如此顺利，也得益于赖良学多年的“修炼”。他自 2007 年回国之后，一直从事基因修饰猪模型的构建，在这以前在多种基因修饰猪方面都取得了重大突破，良好的基础保证了此工具猪实验的顺利进行。

王可品是赖良学课题组一名硕博连读的研

究生，他还清晰地记得，2015 年 4 月份的一天，克隆的工具猪诞生。“小猪生出来是下午两三点，我们需要通过分子实验来验证小猪是否是我们需要的工具猪。”为了尽快得到实验结果，王可品与他研究人员一起在实验室中进行鉴定。

那一夜注定无眠。王可品和同事从下午一直忙碌到第二天清晨九点，当实验结果显示为阳性时，他们特别兴奋——他们成功了！

不论是第一代，还是由之繁殖起来的后代工具猪，外表和其他功能与正常家猪并无不同。“它们不会出现特异性疾病。”赖良学说。

关键是在，配种时，如果公猪与母猪只有一方进行了基因修饰，那么后代并非所有都会呈现阳性；如果公猪与母猪双方都完成了基因修饰，那么所孕育的全部后代会 100% 继承这一基因。

这意味着，实验人员在使用工具猪进行实验时，不需要每次都对猪的基因组进行修饰，只需要在第一代即 F0 代猪的基因组特定位点插入 Cas9 蛋白基因，就可以依靠猪的自然繁殖得到同等类型的“天生自带基因剪刀”的猪，即工具猪。

这只是开始

在等待工具猪的繁育结果过程中，赖良学还将这一技术用在狗身上。2015 年，赖良学带领另一队研究人员，在狗的胚胎期使用了同样的方法，即敲掉了其中的一部分基因。这让被孕育出的小狗呈现出肌肉更发达、运动能力更强的特点。

因为狗在营养代谢、生理解剖、心血管系统等方面与人类极其相似，且狗较为聪明，所以会被用来进行行为学研究，适合建立帕金森综合征、老年痴呆等狗模型来研究人类疾病。当然，狗作为宠物，通过基因敲除来研究培育还可以用来改良遗传性状。

在工具猪繁育出后代以后，赖良学团队的研究人员又围绕其潜在的应用价值展开了研

究。他们首先想到的是利用基因剪刀工具猪制备原发性癌症模型。

以前制备用于肿瘤发病机制研究和药物研发的肿瘤模型大多是将人的肿瘤细胞移植到裸鼠体内来实现的。“裸鼠是在胚胎期完全敲掉所有与免疫力相关的基因诞生的鼠类，即一出生就不带任何免疫力。”赖良学进一步解释说，“以这种方式制备的小鼠肿瘤模型，一方面因为没有免疫能力，另一方面，不是原发性肿瘤，因此与人体肿瘤的发生发展有很大的差别，用它对肿瘤药物进行有效性和安全性检测的结果 95% 以上不能转化为临床应用。”

研究人员将包装含有 Cre 重组酶和靶向六种肿瘤相关基因的 gRNAs 慢病毒通过滴鼻方式，感染工具猪的肺脏，即让猪肺细胞的基因组发生癌化突变。果然，三个月后，该工具猪出现了典型的肺癌症状和病理变化，从而成功地建立了原发性肺肿瘤大动物模型。

“这种工具猪可在癌症研究中发挥重要作用，因为癌症本身就是基因突变。”赖良学解释说。也因此，人体身上的其他癌症也可以通过类似的方式作用在工具猪上被复制出。

“以前，一个大型动物的实验就需要花费上百万，现在有了工具猪，不仅缩短了时间，费用降低到几万元即可。”赖良学表示。

让异体移植离临床更近

无疑，赖良学团队的研究使异种器官移植往前迈了一大步。

众所周知，异种器官移植是国际研究的重点方向之一。2015 年，美国哈佛大学的中美研究人员在美国《科学》杂志网络版上发表报告说，他们利用一种新的基因编辑技术，剔除了猪基因组中可能有害的病毒基因，从而攻克猪器官用于人体移植的一个重大难关，为需要器官移植的病人带来希望。

这是因为猪基因组中大约有 11% 的重复元件 (PRE-1)，这一比例与灵长类动物的重复元件副本几乎相同。有研究人员在《自然》杂志上发表的研究报告称，这些猪重复元件的结构和功能非常类似于灵长类动物的重复元件副本，暗示人类和猪之间存在比之前所认为的关系亲近得多。

现在，赖良学利用 CRISPR/Cas9 技术，对猪的基因进行改造，获得了多种免疫源性与人体更为接近的基因修饰猪，大大降低了人体异种器官的排斥反应，让异体移植距离临床越来越近。

另外，他们也在探索利用基因编辑猪和多能性干细胞技术培育人体器官的可能性，“比如，胰脏的发育由一个关键基因控制，即 PDX1 基因，所以我们只需敲掉这个基因就可以让猪不生长自己的胰脏。再在胚胎期，将人全能性干细胞注射到早期发育的胚胎，理论上，生出来的猪的胰脏就全部来自于人的细胞，那么猪长大后的胰脏与人的就可以匹配。”赖良学举例说。

这并非空穴来风，2016 年，美国加利福尼亚大学戴维斯分校的研究团队就正试图通过向猪的胚胎注入人类干细胞，来培育出可供人体移植的器官，并希望这些“嵌合体”胚胎能为缓解世界移植器官紧缺问题提供答案。

工具猪、培育人体器官的猪……这些都是赖良学团队的研究内容，他将 CRISPR/Cas9 技术不断加入自己的理解。“现在我的学生们已经青出于蓝，他们的讨论总是能紧跟世界科技前沿动态。”这让赖良学更为激动。

2016 年，完成博士论文的王可品选择留在了赖良学的团队，他希望未来可以利用大动物基因修饰模型为生命科学和医学作出更多贡献。

导读

时光隧道中的“翼龙伊甸园”

◀详见第 3 版

鸟儿走了，水就净了？

◀详见第 4 版

数据追问艺术

◀详见第 5 版

《二十四节气志》： 用科学印证文化

◀详见第 6 版

周末聊吧

做环保要热情，也要家庭

■莫笑鸾

12 月 13 日，腾讯网在《中国人的一天》栏目中，以题为“藏族汉子四年不回家，黄河源头捡垃圾”的图片讲述了一位名叫华青杰的藏族汉子对环保的一腔热情与践行。

阿尼玛卿地区是黄河源头主要的水源之一，拥有丰富、珍稀的生物资源，也是藏区历史最悠久的神山之一。随着交通越来越便捷，来这里旅游以及朝拜的人越来越多，食品包装、塑料瓶、废弃的氧气罐、坏掉的衣裤、铁皮烟盒、粪便等垃圾日积月累，对阿尼玛卿的河流污染也越来越严重。

几年来，华青杰一直在阿尼玛卿东部的东倾沟乡和十几个牧民自发开展环保活动，捡拾游客遗留垃圾，保护神山的秀美风景，得到了当地人的支持和敬重。

其实，像华青杰这样的环保卫士，在中国并不在少数。有的人一直默默无闻地坚持，有

的人带动了一批人加入环保领域，还有的人组建了相应公益组织获取资金的支持以求持续生存和发展……但无一例外，这些人首先都有对于环保事业的热情。

因为任何事情，如果缺乏了热情，很难形成专注力。倘若在开展工作的过程中，遇到困难和挫折，就很可能半途而废。而这些对环保充满了热情的人或组织，多数都能一直坚守，并逐渐成为政府对环保事业的有益补充。

不过，只有一腔环保热情，似乎并不能长久。

“开始势头迅猛，后劲不足，最后不了了之”的局面，也时有发生。

笔者注意到，华青杰做环保公益是赚不到钱的，主要收入来源是家里的牛羊，靠妻子、妹妹、妹夫轮番管理。“如果不是现在的生

活好了，也没法花这么多时间做公益，家里人也不会答应的嘛。”这是华青杰的回答。

如果十几年、几十年为了环保事业，而忽视对家庭的责任与奉献，华青杰是否依然能够坚持下去。但我们更希望看到的是：环保事业与家庭生活彼此协调平衡，这样才能长久地发展。

因为家庭是社会的细胞，每个细胞的健康关系到整个社会的和谐稳定。再者说，环保事业不应该是一个人的战斗”，从事环保的人也不应该就甘当“苦行僧”，只有探索一种新的合作机制，把各方环保力量有机汇聚起来，并让链条上的利益攸关方受益，我们才能在建设美丽中国的道路上走得更远。

正如习近平总书记在十九大报告中所说，我们要建设的现代化是人与自然和谐共生的现代化，既要创造更多物质财富和精神财富以满足人民日益增长的美好生活需要，也要提供更多优质生态产品以满足人民日益增长的优美生态环境需要。

据北京市卫生和计划生育委员会透露，北京市朝阳区和海淀区于 12 月 13 日启动实施医疗机构电子化注册试点工作，这标志着北京市医疗领域电子化注册管理工作进入了全面启动实施阶段，医疗机构、医师、护士三大基础执业注册数据库实现了互联互通和信息的交互验证。

“实施医疗机构电子化注册后，办事人可以在网上申办业务，大大减少了来回补正材料的困扰，办事过程也更加便利透明。”北京市卫生计生委医政医管处副处长陆珊说。北京市卫生计生委在网上建立了电子化注册平台入口，优化了面向公众的查询公示功能，群众可以在北京市卫生计生委网站的“北京市医政医管电子化注册平台”中查询全市医疗机构、医师和护士的执业注册信息。不仅如此，医疗机构执业许可证上还增加了二维码，通过扫码可以查验许可证的真伪。(周天整理)

逾万条鳄鱼完成越冬转场

经过工作人员连日加班转场，扬子鳄国家级自然保护区 13000 余条扬子鳄已安全迁入越冬暖房。与此同时，保护区冬季观鳄厅于近期向公众开放。

扬子鳄已有两亿三千万年的历史，具有“活化石”之称。自然条件下，野生扬子鳄在冬季会进入洞穴休眠；而人工饲养条件下，它们由保护区的工作人员帮忙，在越冬暖房和饲养池之间来回“搬家”。

据了解，扬子鳄国家级保护区今年有 38 个越冬暖房，室温会保持在 10 至 12 摄氏度，有专人每天检查湿度、清洗鳄鱼排泄物，并定期对房间进行消毒。

扬子鳄国家级保护区位于安徽宣城，现有面积 18000 多公顷，为满足公众冬季观鳄需求，保护区今年在新建的扬子鳄科技中心内设置了总面积 630 平方米的冬季观鳄厅。

北京市医疗机构真伪将可扫码查验

据北京市卫生和计划生育委员会透露，北京市朝阳区和海淀区于 12 月 13 日启动实施医疗机构电子化注册试点工作，这标志着北京市医疗领域电子化注册管理工作进入了全面启动实施阶段，医疗机构、医师、护士三大基础执业注册数据库实现了互联互通和信息的交互验证。

“实施医疗机构电子化注册后，办事人可以在网上申办业务，大大减少了来回补正材料的困扰，办事过程也更加便利透明。”北京市卫生计生委医政医管处副处长陆珊说。北京市卫生计生委在网上建立了电子化注册平台入口，优化了面向公众的查询公示功能，群众可以在北京市卫生计生委网站的“北京市医政医管电子化注册平台”中查询全市医疗机构、医师和护士的执业注册信息。不仅如此，医疗机构执业许可证上还增加了二维码，通过扫码可以查验许可证的真伪。(周天整理)