

转基因植物药物的开发研究评述*

An Outlook on the Developmental Research of Transgenic Plant Drug

邵宏波

Shao Hongbo

(广西植物研究所 桂林市雁山 541006)

(Guangxi Institute of Botany, Yanshan, Guilin, Guangxi, 541006, China)

摘要 基因工程的完善与发展为利用转基因植物作为生物反应器来开发与生产转基因植物药物提供了可靠的技术基础。目前已利用转基因植物作为反应器生产出了多种转基因植物药物,其中包括多种药品和疫苗。已有的转基因植物药物的临床实验及国内外的应用表明转基因植物药物安全性是可靠的。随着表达效率和遗传稳定性的不断提高,转基因植物药物的开发研究将会在21世纪得到更大的发展。

关键词 转基因植物药物 转基因植物 生物反应器 基因转移

中图分类号 R282.71

Abstract Perfection and development of gene engineering provided strongly technical basis for producing transgenic plant drug. Nowadays, many kinds of transgenic plant drug have been prepared by utilizing transgenic plants as bio-reactors, which include various medicines and vaccines. Clinic experiments and application of the prepared transgenic plant drug around the world show transgenic plant drug safety for human beings. With the increasing of expression efficiency and genetic stability, a great advance will take place in the field of the developmental research of transgenic plant drug in the 21st century.

Key words transgenic plant drug, transgenic plants, bioreactors, gene transfer

人类社会已经步入了崭新的21世纪,人类对其生存质量的提高及减少疾病的威胁都有了更高的目标和要求^[1-11]。如何以低廉的价格和适合的给药方式向人类提供有效的药物和各种安全专一性的疫苗已成为世界范围内急待思考与解决的重大问题^[2,12]。最近10年,基因工程、细胞工程、酶工程、微生物工程等生物技术领域的大力发展,为解决上述问题提供了可靠的技术保证和基础^[1,2,12-19]。当前利用转基因植物作为新型的生物反应器来大规模生产转基因植物药物的开发研究已成为植物生物技术领域中的热点^[3-11,20-24]。本文就此领域的一些问题及进展作一评述

1 植物生物技术的相关发展

自从 White 和 Gatherer 利用实验方法培养植物

组织和器官以来,植物细胞和组织培养技术已经有了很大的发展,目前它已成为一门精细的实验科学^[1,2,16,17],在取材、消毒、灭菌、接种、培养、诱导筛选、继代保存、再生转化、分离鉴定、快速繁殖和工厂化大规模生产等方面均已建立了一套标准的操作程序,并成为现代生物技术的重要组成部分之一^[1,2,16,17,19,21,22]。

植物细胞全能性理论是植物再生的前提和条件。即单个细胞经过合适的人工培养可以通过器官分化或体细胞胚胎分化途径形成完整的植物。另外,不同来源的外植体或不同器官经过培养也可以直接形成完整植株^[1,2]。只有这样转基因植物药物的开发研究才有了必要的技术保证^[12-17,22]。

由于植物原生质体失去了原来细胞壁外壳后便成为良好的实验转化系统^[6,14,19-24],当外界存在合适浓度的 PEG 或磷酸钙时,可通过共同培养使原生质体吸收外源 DNA 或通过高压电场作用使外源 DNA 进入,从而完成转化。另外,子房、胚、花药、根、茎、叶、果实和种子等器官和培养细胞也可成为有应用前

2001-09-04收稿,2001-10-25修回。

* 广西自然科学基金和中国科学院广西植物研究所科研启动基金项目。

景的转化系统, 见图 1^[1, 12, 19]。

植物基因工程技术是在 80 年代初建立发展起来的, 目前已在许多技术领域取得了重要进展^[4-11, 23, 24], 这些都已成为本领域研究的另一重要支撑技术^[1-3, 14, 22]。

目前已有许多方法能将动物、植物、微生物以及人类的特异基因分离出来, 从而为植物基因转移和表达研究提供了丰富的基因来源^[12-14]。

为了使外源基因能在植物细胞内高效稳定的表达, 还必须使外源基因整合到受体细胞染色体组上并复制。通过把分离的基因与来自植物、病毒、细菌的启动子相连接, 然后再转移到受体细胞内来完成表达。目前常用的启动子主要是 CaMV 35S RNA 启动子, 另外还有玉米泛素 I 型启动子和水稻肌动蛋白启动子。内含子顺序常用于外源基因在单子叶植物中的表达^[16, 20, 23, 24]。

为尽快在转化产物中筛选到含外源基因特性的转化重组子, 除了使外源基因与启动子连接外, 还要

有选择性的遗传标记, 目前常用的有抗菌素标记^[1, 2, 14]、酶活性标记等^[18, 21]。

除了农杆菌介导法外, 电击法或枪击法也是较常用的把外源基因转移到受体细胞中去的方法^[1, 14, 16, 19]。

2 生产药物的生物反应器

生产药物的生物反应器主要有 3 种类型, 即植物反应器、动物反应器和微生物反应器。不同生物反应器依所使用的不同生物体而定义的。目前以微生物反应器最多, 但是植物与动物反应器已成为研究的主题, 因为它们有着原核生物不可替代的优点, 有关各种反应器的优缺点见表 1^[2, 12, 13]。

通过表的比较可以发现, 与微生物和动物反应器相比较, 植物反应器的优点在于它的经济性, 这对于人口达 13 亿的我国来说, 是一个非常令人振奋的喜讯, 由此我国政府和有关部门都投入巨资支持本领域的开发研究工作^[2]。

3 转基因植物药物的开发研究

转基因植物药物的开发研究始于 20 世纪 90 年代初, 目前已经获得了可以表达多种外源基因的转基因植物 (见表 2)^[1, 2, 4-11]。原则上说, 这些转基因植物均是新型的生物反应器, 利用它们生产出的药物就称为转基因植物药物, 而不管该转基因植物是否是药用植物。

表 2 所列的转基因植物是通过两种途径获得的, 一种通过外源基因稳定地整合到植物基因组中而得到, 如表 2 所列的大多数例子; 另一种是通过使用病毒作为载体而得到暂时的表达性寄主植物, 如某些作为疫苗和亚基疫苗应用的例子。通过第 1 种途径获得转基因植物的周期较长, 但并不像第 2 种途径那样需要进行接种程序^[2, 19]。通过病毒途径得到的寄主植物可利用抗原决定基的传导系统达到开发药物的目的, 因为抗原决定基已经与病毒外壳蛋白进行了很好的融合^[7-11, 21, 22]。

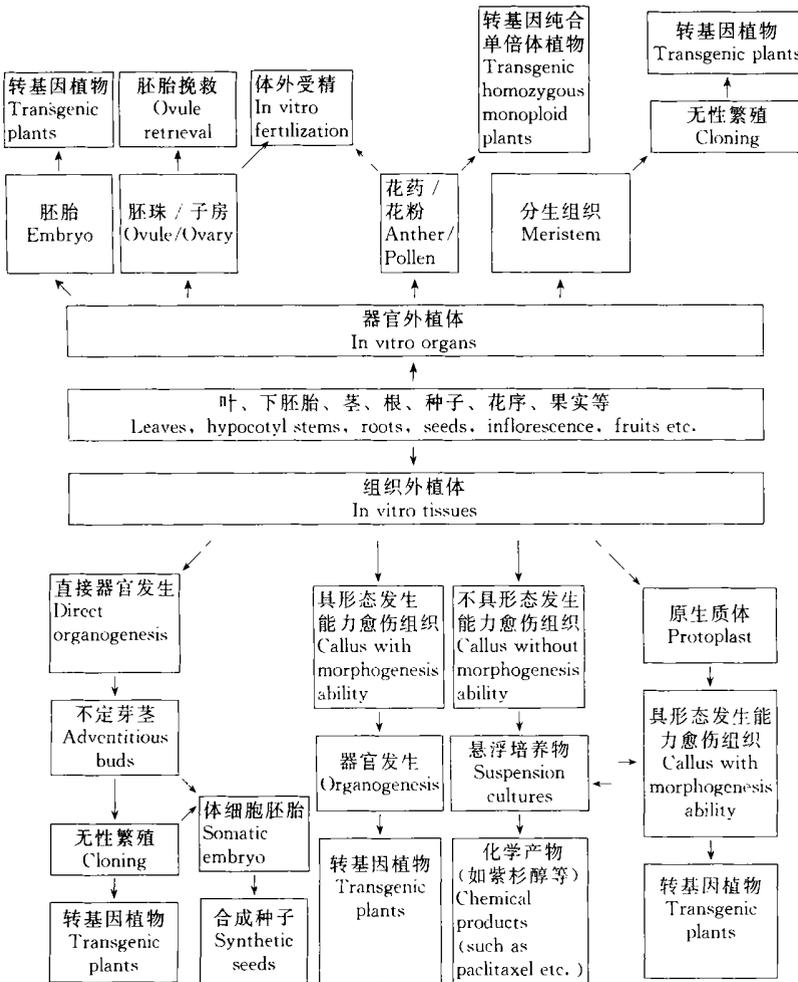


图 1 植物组织培养和转化系统的建立路线

Fig. 1 The established routine for plant tissue culture and transformation systems

表1 不同生物反应器的比较

Table 1 The comparison of different bioreactors

生物反应器 Bioreactor	优缺点 Merit and fault
微生物反应器 Microbial reactor	① 真核生物蛋白质翻译后加工的精确性有限。 Limited truth of posttranslational processing of eukaryote protein. ② 细菌发酵常形成不溶聚合物, 下游加工成本增加。 Formation of non-dissolve polymers in bacteria fermentation; increase of cost in the downstream processing production.
植物反应器 Plant reactor	① 上游生产成本 (包括发酵生产) 较低。 Lower cost of the upperstream production including fermentation. ② 转基因植物自交后得到的同质后代的新遗传性状稳定遗传。作为食物还可以省去下游加工成本的开支。 Stable heredity of new characters of homogenous selfs of transgenic plants; used as food and save cost in the downstream processing.
动物反应器 Animal reactor	① 发酵需要昂贵的培养基。 Need expensive culture media for fermentation ② 转基因动物容易产生公共和伦理等棘手问题。当然相关的安全性也更加严格些。 Transgenic animal would be easily connected to commonality and ethic problems, and there are more stricts for its safety.

除表2列入的部分转基因植物例子以外, 目前还有利用培养的愈伤组织、细胞、毛状根等作为生物反应器进行药物开发研究的报告^[3, 23, 24]。

4 转基因植物药物的安全性问题

由于转基因植物中形成的重组蛋白质具有相对稳定、表达量低、不易消毒、结构不易确定及翻译修饰后造成活性差异和生物活性取决于正确结构, 甚至折叠方式等特点^[1, 2, 18, 21, 22, 24], 因此必须制定相应的安全管理条例以确保使用这些药物和用做药品的这些产物(药物)的安全性和有效性。全面考虑转基因植物的遗传稳定性、微生物污染、纯度、产物的可比较性及环境影响和污染情况等众多因素并且制定必要的规范化管理条例是必要的, 而且这样会积极推动本领域的研究工作^[2-11, 21, 22]。目前我国已有中国科学院、中国农业科学院基因工程安全管理办公室等单位专门负责此方面内容的申报及安全管理工作。

就世界范围来讲, 目前美国等国家对转基因植物药物有较健全的管理办法, 欧洲总体来看仍然持保守态度, 我国持积极参与的态度。我们认为, 从已有的转基因植物药物的临床实验及国内外应用情况来看, 其安全性是可靠的, 应该在我国大力支持发展, 因为这一领域是高利润的高新生物技术产业, 也是人类解决所面临的各种疑难杂症的最有前景的方法。

表2 利用转基因植物作为生物反应器而生产的一些转基因植物药物

Table 2 Some examples of transgenic plant drug produced by using transgenic plants as bioreactors

药物 Drug	基因来源 Gene source	应用意义 Application	使用的植物种类 Plant	参考文献 Reference
核糖体抑制蛋白 Ribosomal profilin	枯楼、玉米、 Maize	抑制 HIV 复制 Restrain HIV duplication	烟草 Tobacco	[12] [18] [21] [22]
血管紧张肽转化酶抑制剂 Angiotensin invertase inhibitor	牛奶 Milk	抗过敏 Anti-hypersusceptibility	烟草、香蕉 Tobacco, Banana	[1] [13] [24]
抗体 Antibody	老鼠 Rat	多种应用 Multi-application	烟草 Tobacco	[14]
抗原 Antibody	细菌、病毒 Bacteria, virus	口服疫苗、亚基疫苗 Oral vaccine, subunit vaccine	烟草、马铃薯、番茄、莴苣 Tobacco, potato, tomato, lettuce	[4] [5] [7] [15]
脑啡肽 Enkephalin	人 Human	安神 Clam the nerves	油菜、拟南芥 Rape, Arabidopsis thaliana	[6] [8]
表皮生长因子 Epidermal growth factor	人 Human	特殊细胞增殖 Unusual cell proliferation	烟草 Tobacco	[16] [20]
促红细胞生成素 Erythropoiesis stimulating factor	人 Human	调节红细胞水平 Adjustment erythrocyte level	烟草 Tobacco	[9] [17]
生长激素 Growth hormone	鲑鱼 Salmon	刺激生长 Stimulation growth	烟草 Tobacco	[11] [18]
水蛭素 Hirudin	合成 Synthesis	血栓抑制剂 Thrombo-inhibitor	油菜 Rape	[12] [16] [20]
人血清白蛋白 human serum albumin	人 Human	血浆扩张剂 Plasm dilatation dose	烟草、马铃薯 Tobacco, potato	[10] [23] [24]
干扰素 Interferon	人 Human	抗病毒 Anti-virus	芜菁 Turnip	[1] [9] [12]

5 结语

综上所述,转基因植物药物的开发研究还刚刚起步,还有许多具体问题有待于解决和规范化,相信,随着人们对植物再生系统、基因转移系统的完善和基因表达调控机制的深入了解,转基因植物药物的开发研究会在新的世纪里获得更大的发展。

参考文献

- 1 邵宏波. 分子生物学发展前沿与展望. 北京: 中国农业科技出版社, 1993.
- 2 刘 涂. 转基因植物——生产药物的新型生物反应器. 生物技术通报, 1999, 15(3): 23~ 27.
- 3 邱德有, 韩一凡. 红豆杉器官组织、细胞培养和基因工程的研究进展. 天然产物研究与开发, 1998, 10(1): 90~ 97.
- 4 高国庆, 李杨瑞, 林文雄. 转基因作物产业与风险评价. 广西农业科学, 2001, 1: 36~ 39.
- 5 沈桂芳, 苏 宁. 农业高新技术产业化发展趋势. 生物技术通报, 2001, 1: 1~ 15.
- 6 常 钰, 刘 涂, 胡之壁. 植物细胞和器官大规模培养研究的进展. 生物技术通报, 2001, 1: 31~ 35.
- 7 张银定, 王琴芳. 2000年全球转基因作物商品化概述. 生物技术通报, 2001, 3: 41~ 44.
- 8 林 琳, 李 青, 马贵宏等. 生物技术领域取得令人瞩目的成就. 生物工程进展, 2001, 21(3): 3~ 7.
- 9 王新国, 肖成祖. 用转基因植物生产基因工程疫苗. 生物工程进展, 1998, 18(1): 51~ 54.
- 10 洪 琅. 现代生物技术制药工业发展概况. 生物工程进展, 1998, 18(6): 4~ 9.
- 11 丁锡申. 中国基因工程药物产业化发展历史、现状、存在问题与国外的差距和发展战略. 生物工程进展, 1999, 19(1): 1~ 5.
- 12 Goddijn O J M, Pen J. Plants as bioreactors. TIBTECH, 1995, 13(9): 378~ 387.
- 13 Miele L. Plants as bioreactors for biopharmaceuticals

regulatory consideration. TIBTECH, 1997, 15(2): 45~ 50.

- 14 Walden R, Wingender R. Gene transfer and plant regeneration techniques. TIBTECH, 1995, 13(9): 324~ 331.
- 15 Hialt A, Cafferkey R, Bowdish K. Production of antibodies in transgenic plants. Nature, 1989, 342(6245): 76~ 78.
- 16 Songstad D D, Somers D A, Griesbach R J. Advances in alternative DNA delivery techniques. Plant Cell Tiss Org Cul, 1995, 40(1): 1~ 5.
- 17 Hamamoto H, Sugiyama Y, Nakagawa N et al. A new tobacco mosaic virus vector and its use for the systemic production of angiotensin-I-converting enzyme inhibitor in transgenic and tomato. Biotechnol, 1993, 11(8): 930~ 932.
- 18 Duning K, Hippe S, Krenzler F et al. Synthesis and Self-assembly of a functional antibody in transgenic Nicotiana tobacco. Plant Mol Biol, 1995, 15(2): 281~293.
- 19 邵宏波, 初立业, 姜恩来. 转基因技术在果树抗性育种中的应用. 北方园艺, 1994, 3: 1~ 4.
- 20 Zuo W N, Weissinger A K, Boston R S. Expression of a maize ribosome-inactivating protein gene in transgenic tobacco plants. Plant Physiol Suppl, 1995, 108(2): 150.
- 21 安成才, 李 毅, 陈章良. 核糖体失活蛋白研究进展. 生物技术通报, 1999, 15(2): 1~ 6.
- 22 周北雁, 李 毅, 陈章良. 北京大学的抗病毒转基因作物. 生物技术通报, 1999, 15(3): 42~ 45.
- 23 Matsumoto S, Ishi A, Ikura K et al. Expression of human erythro protein in cultured tobacco cells. Plant Mol Biol, 1995, 27(6): 1163~ 1172.
- 24 May G D, Afza R, Mason HS et al. Generation of transgenic banana (*Musa acuminata*) plants via Agrobacterium-mediated transformation. Biotechnol, 1995, 13(5): 486~ 492.

(责任编辑: 蒋汉明)

(上接第 59 页 Continue from page 59)

细胞的吞噬作用和提高免疫功能低下小鼠溶血素含量, 显示其能增强小鼠非特异性免疫功能和体液免疫功能, 因而起到保肝作用. 以上结果为 CX₂TF 的临床应用提供了依据

参考文献

- 1 全国中草药汇编编写组. 中草药汇编. 下册. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 788.
- 2 广西医药研究所. 广西药用植物名录. 南宁: 广西民族出版社, 1974. 203.
- 3 覃洁萍, 许学健, 李剑江. 广西瑶族藤茶化学成分的研究. 天然产物研究与开发, 1997, 9(4): 41.
- 4 钟正贤, 陈学芬, 周桂芬. 广西产藤茶总黄酮的药理研究. 广西科学, 1999, 6(3): 216~ 218.
- 5 钟正贤, 覃洁萍, 陈学芬等. 双氢杨梅树皮素对链脲霉素所

致糖尿病大鼠的降血糖作用. 广西科学, 2000, 7(3): 203~ 205.

- 6 钟正贤, 覃洁萍, 周桂芬等. 广西瑶族藤茶中双氢杨梅树皮素的药理研究. 中国民族医药杂志, 1998, 7(3): 42.
- 7 韩公羽, 沈企华编著. 植物药有效成分的研究与开发. 杭州: 杭州大学出版社, 1991. 94~ 102.
- 8 郭建生, 吴勇军, 王小娟等. 摄生肝泰胶囊对肝损伤动物治疗作用的实验研究. 中药新药与临床药理, 1999, 10(2): 87.
- 9 施顺清, 任建伟, 李 健等. 虎杖、小田基黄煎剂的动物实验. 中成药研究, 1983, 6: 36.
- 10 李仪奎. 中药药理实验方法学. 上海: 上海科学技术出版社, 1999. 158~ 463.

(责任编辑: 蒋汉明)