

合成生命之探索——人造噬藻体*

胡志红¹ 陈新文¹ 姜治平² 赵进东³

(1 中国科学院武汉病毒研究所 武汉 430071

2 中国科学院生命科学与生物技术局 北京 100864

3 中国科学院水生生物研究所 武汉 430072)

摘要 人造生命是多种学科交叉、高新技术集成的系统工程,随着科学技术的发展,特别是基因组全人工合成技术的形成,这个梦想的实现开始变得可能。噬藻体是原核藻类(蓝细菌)的病原,结构相对简单,人工合成噬藻体、阐明其感染并杀灭蓝细菌的分子机制,有望实现对水华蓝藻的噬藻体控制,并可为人工合成更复杂的生命形式奠定理论基础和技术基础。

关键词 人造生命,人工噬藻体,水华

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3045.2011.02.007



中国科学院



胡志红研究员

人造生命 (artificial life) 是多种学科交叉、高新技术集成的系统工程,和太空漫步一样,是人类恒久的梦想,在生物技术迅猛发展、日新月异的今

天,这一原始性创新领域可能出现最激动人心的革命性突破。

噬藻体作为相对简单的病毒,其宿主是具备光合作用的原核藻类(蓝细菌),可以作

为病毒与宿主相互作用、协同进化研究的模式病毒。研究噬藻体的最小生命单元、阐明其感染并杀灭蓝细菌的分子机制,有望实现对水华蓝藻的噬藻体控制,并可为人工合成用于环境污染物代谢或能源再生的蓝细菌奠定理论基础和技术基础。人造生命(人造噬藻体)研究高度依赖长片段 DNA 合成拼接技术的飞跃,也将促进病毒等简单生命体感染、复制机制研究的突破。

人造噬藻体将为控制有害生物、保护生态安全提供新途径,也将为保障人类健康和国防安全提供新思路,从人造噬藻体开始逐步实施人造生命计划具有重要战略意义。

1 目的意义

人造生命建立在基因组学、系统生物学理论和生化工程技术综合的基础上,以创造人造生命、解析生命本质为核心科学问题,

* 收稿日期:2011年2月17日

为生命起源和生物进化的研究开辟了整合的、精准的实验新途径。病毒作为蛋白质外壳包裹核酸(DNA 或 RNA)而形成的结构最简单的生命体形式,成为合成生物学和“重塑生命”研究领域的关注热点和最具希望的突破口。人工合成病毒,解析这一相对简单的生命体实现自我复制的最小或必需元件,将为探索和掌握复杂生命体合成的关键技术提供基础和支撑,并逐步实现复制和翻译机器以及细胞器的合成与组装,进而实现单细胞和多细胞生命的合成与人工改造。理解病毒 DNA 编程及感染宿主机制和人工调控规律,也将为理解生命的起源与进化提供重要的借鉴。我们知道,99%的微生物是不可培养的,从基因组序列出发人工合成并拯救出具有感染性的病毒或其他微生物,将重塑或再造某些重要的战略生物资源。因此,人工合成病毒(人造噬藻体)具有极其重要的科学意义。

人造噬藻体将为控制有害生物,如蓝藻水华、海洋赤潮以及虫灾、鼠害等提供新思路与新途径,在保护生态安全方面具有重大应用前景。人造噬藻体技术可推广到其他病毒,如在未获得 H1N1 甲型流感输入性病例的血液或体液样本、但可从互联网上下载到病毒基因组全序列的情况下,即能设计和合成病毒,快速研制疫苗,为保障人类健康做出贡献。同时,人造病毒在生物反恐和国防安全中也具有重要意义。因此,发展人造病毒技术契合国家战略需求。

蓝藻又称蓝细菌,是地球上最早出现的光合自养生物,在环境条件适宜时,某些蓝藻能快速生长,当达到一定生物量时,这些藻类在水体表层大量聚集,形成肉眼可见的藻类聚集体,即蓝藻水华;以微囊藻(Microcystis)、鱼腥藻(Anabaena)等为代表的水华,已严重影响太湖、巢湖、滇池等淡水水体的生态安全,蓝藻毒素(Microcystin-LR

等)是我国南方肝癌高发的主要危险因素之一,控制蓝藻水华是保护生态环境和保障人类健康的迫切需要。噬藻体(cyanophage)作为侵犯并裂解蓝藻的病毒,可望在控制有害生物方面形成新的思路。以人工噬藻体作为人造生命研究的初级模板,可以为复杂高等生命研究提供重要数据、技术支持和理论基础。

2 国际发展态势

人造生命研究在 21 世纪得到长足发展,相继取得几项里程碑式的进展:2002 年,纽约州立大学石溪分校 Wimmer E 小组合成了脊髓灰质炎病毒全长 cDNA (7 740 个碱基),在体外(HeLa 细胞胞浆提取物)转录出病毒 RNA、翻译出病毒衣壳蛋白,并组装具有感染性的脊髓灰质炎病毒^[1];2003 年,美国合成生物研究所 Venter JC(克雷格·温特尔)小组仅用 14 天时间,就从头合成 ϕ X174 噬菌体(5 386 个碱基)^[2];2005 年,美国疾病预防控制中心 Tumpey TM 等依据来源于西班牙大流感死亡士兵福尔马林保存肺标本的 RNA 序列,利用 8 质粒反向遗传操作系统,成功地重建 1918 年 H1N1 甲型流感病毒^[3];2008 年,美国温特尔团队利用酵母载体合成、拼接出长达 592kb 的生殖支原体(Mycoplasma genitalium)的环状基因组^[4, 5];2008 年,日本 Itaya M 又发展了利用芽孢杆菌基因组载体拼接、合成小鼠线粒体和水稻叶绿体的新技术^[6]。后两项研究尚未报道合成支原体或线粒体等具有生物学功能,但在合成、拼接技术领域取得重大突破。

特别是 2010 年温特尔团队又合成了丝状支原体(Mycoplasma mycoides)1.08M 的基因组,并将其移植到山羊支原体(Mycoplasma capricolum)中,开发出了第一个由合成的基因组控制的细胞^[7],这是地球上第一个由人类制造并能够自我复制的新

物种。

3 现有优势与基础

中科院在蛋白质和核酸这两类生物大分子人工合成方面做出了举世瞩目的贡献。结晶牛胰岛素的人工合成是新中国第一个居世界领先水平的基础理论研究成果。从1958年开始,来自中科院上海生物化学所、上海有机化学所、北京大学等单位的学者攻克了胰岛素A链及B链的拆分、合成、组装等一道道难关,于1965年9月,在世界上首次人工合成了结晶牛胰岛素,它是第一个全合成的、与天然产物性质完全相同的、有生物活性的蛋白质。1968年中科院又把“人工合成酵母丙氨酸转移核糖核酸”列为重大科研项目,组织了中科院上海生物化学所、上海细胞所、上海有机化学所、生物物理所以及北京大学、上海化学试剂二厂等单位联合攻关,在1981年11月完成了酵母丙氨酸转移核糖核酸的全合成。这是世界上第一个人工合成的含有全部修饰核糖核苷酸并具有接受丙氨酸和参与蛋白质生物合成等活性的丙氨酸转移核糖核酸。

在病毒分离鉴定及设计改造、蓝藻水华控制等研究领域,中科院具有较好基础。在蓝藻水华的暴发机理、分子生态学、产毒机制及其生态毒理学效应、特殊功能基因等基础理论以及资源化利用、水华的控制技术等研究上取得了一系列成果。在重要病毒的分离鉴定及设计改造方面展开了系统、深入的研究,包括分离、鉴定了几百种病毒,其中分离与鉴定我国首株噬藻体——裂解织线藻和席藻的双链DNA病毒;对多种病毒的基因组结构和功能进行了深入研究,揭示了病毒感染的分子机理;构建了杆状病毒、流感病毒、冠状病毒等多种病毒的遗传操作系统,实现了重要病毒的分子设计与改造,并应用于生物防治和新型疫苗快速研制。其中

棉铃虫核多角体病毒131Kb全长基因组Bacmid的构建、改造及其在病毒杀虫剂研究中的应用得到国内外高度关注,美国合成生物学研究所Venter JC(克雷格·温特尔)小组2010年发表在*Nucleic Acids Research*上的题为“Cloning whole bacterial genomes in yeast”的论文^[9]引用了该研究成果。

中科院拥有国家认证认可委员会认可的三级生物安全实验室(BSL3),也拥有较为完备的病毒分离鉴定、功能基因组学研究技术平台,为人造噬藻体的安全评价等提供了条件;在太湖、滇池和巢湖等地建有研究站,拥有无菌操作室、湖泊试验围隔、试验湖沼学系列科研装置等实验仪器和试验基地,为开展蓝藻水华生物学、生态学研究提供了有力的保障。

4 未来研究的工作重点

人工合成噬藻体将使我国在人工合成病毒的技术和方法上处于国际领先行列;为合成更高等级的生命体奠定基础,拯救出有感染性的人造噬藻体,能在水华蓝藻中进行复制,具有重要的理论和应用价值,定向设计自然界不曾存在的重组型或广谱型人工噬藻体,为蓝藻水华的控制提供新的技术手段。

(1) 藻类和藻类病毒的宏基因组学研究,包括几种特殊生境水样藻类的宏基因组分析及重要水华蓝藻的全基因组序列分析,几种特殊生境水样的浓缩及水病毒的宏基因组分析,建立藻类及藻病毒的数据库。

(2) 开展噬藻体分离鉴定、复制机制研究及资源保藏工作,包括重要水华蓝藻噬藻体的培养、分离、鉴定、基因组分析,噬藻体复制动力学及感染蓝藻的机理研究,噬藻体杀藻效率比较及毒力基因分析,水华蓝藻及噬藻体的资源收集与保藏。

(3) 人造噬藻体设计与合成研究,包括



中国科学院

人造噬藻体基因组的设计与合成,其全基因组的拼接,人造噬藻体的感染性拯救与功能改良。

(4)进行噬藻体科学评价研究,包括人造噬藻体溶藻功能(侵染效率、专一性和广谱性),其释放的可能性评价、生存力分析以及生态环境危害的风险评估等。

5 展望

近 5 年主要开展人造噬藻体攻关研究,在人工合成拼接长片段 DNA 技术、病毒拯救技术等方面取得突破性进展,获得有自我复制功能、具有裂解水华藻类功能的人造噬藻体;规划再用 10 年左右时间,实现人造单细胞生命的飞跃,重点突破单细胞生命的人工合成技术,获得有生命功能人工细菌或蓝藻,同时合成高等生命的细胞器,完成细胞器的组装;畅想到 2050 年,在复杂高等人造生命领域取得进展,完成多细胞生命的人造技术集成,解决人造生命中有性繁殖与发育难题,实现神经系统、免疫系统等复杂体系的人工合成,最终实现构建人造高等生命有机体。

主要参考文献

- 1 Cello J, Paul AV, Wimmer E. Chemical synthesis of poliovirus cDNA: generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science*, 2002, 297(5583): 1016-1018.
- 2 Smith H O, Hutchison C A 3rd, Pfannkoch C et al.

Generating a synthetic genome by whole genome assembly: phiX174 bacteriophage from synthetic oligonucleotides. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 2003, 100(26):15440-15445.

- 3 Tumpey T M, Basler C F, Aguilar P V et al. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science*, 2005, 310(5745):77-80.
- 4 Gibson D G, Benders G A, Axelrod K C et al. One-step assembly in yeast of 25 overlapping DNA fragments to form a complete synthetic *Mycoplasma genitalium* genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 2008, 105(51):20404-20409.
- 5 Gibson D G, Benders G A, Andrews-Pfannkoch C et al. Complete chemical synthesis, assembly, and cloning of a *Mycoplasma genitalium* genome. *Science*, 2008, 319(5867):1215-1220.
- 6 Itaya M, Fujita K, Kuroki A et al. Bottom-up genome assembly using the *Bacillus subtilis* genome vector. *Nat Methods*, 2008, 5(1):41-43.
- 7 Gibson D G, Glass J I, Lartigue C et al. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science*, 2010, 329(5987):52-56.
- 8 Benders G A, Noskov V N, Denisova EA et al. Cloning whole bacterial genomes in yeast. *Nucleic Acids Res.*, 2010, 38(8):2558-2569.

Artificial Cyanophage——A Trail Leading to Artificial Life

Hu Zhihong¹ Chen Xinwen¹ Lou Zhiping² Zhao Jingdong³

(1 Wuhan Institute of Virology, CAS 430071 Wuhan

2 Bureau of Life Sciences and Biotechnology, CAS 100864 Beijing

3 Institute of Hydrobiology, CAS 430072 Wuhan)

Abstract Artificial life has been a dream of mankind and could come to fruition with the aid of collaborative and cohesive interactions of different disciplines including systematic engineering. The development of de novo synthesis techniques, it is no longer a dream but a practical reality and it is expected to bring evolution to

bio-technology.

Cyanophage is a kind of phage that infects cyanobacteria, which are causative agents of water bloom. Synthesis of a cyanophage genome has the potential to create a cyanophage that can lyse cyanobacteria and therefore provide a new strategy to control water bloom. The research of artificial cyanophage is a trail leading to large genome synthesis and the results will help to understand many basic questions in life sciences.

Keywords artificial life, synthesized cyanophage, water blooms

胡志红 中国科学院武汉病毒研究所研究员。1986 年获武汉大学病毒学专业学士学位, 1989 年获中科院武汉病毒所理学硕士学位, 1998 年获荷兰 Wageningen Agriculture University(现 Wageningen University)病毒学专业博士学位。2000—2008 年间曾任中科院武汉病毒所所长。中科院“百人计划”入选者, 国家杰出青年基金获得者。长期从事病毒学特别是杆状病毒的基础研究及应用基础研究。发表研究论文 120 篇, 其中, *SCI* 源论文 70 篇, 出版专著 13 部(章), 获授权专利 6 项。E-mail: huzh@wh.iov.cn



中国科学院

《中国科学院院刊》参与 2010 年度“中国科学十大进展”推荐评选活动

本刊讯 为进一步扩大中国基础研究工作的影响, 让全社会了解、支持和参与我国基础研究工作, 科学技术部基础研究管理中心会同《科技导报》杂志社、《中国科学院院刊》编辑部、《中国科学基金》编辑部和《中国基础科学》编辑部在总结往年工作经验的基础上, 共同开展了 2010 年度“中国科学十大进展”(原“中国基础研究十大新闻”, 自 2010 年度起更名为“中国科学十大进展”)评选活动。

依据《中国科学十大进展评选办法》的要求, 评选的重点是研究成果的原创性、新闻性以及社会影响力。首先, 通过初评, 从 218 项推荐进展中遴选出 30 项候选进展。随后, 以问卷形式将候选进展送中国科学院院士、中国工程院院士、“973 计划”顾问组和咨询组专家、“973 计划”项目首席科学家、国家重点实验室主任等专家进行无记名投票。《中国科学院院刊》负责中科院相关研究进展的组织、推荐工作。

根据投票结果, 最终评选出的 2010 年度“中国科学十大进展”是: (1) 拓扑绝缘体研究取得重要进展; (2) 相对论重离子对撞机上发现首个反超核粒子——反超氘核; (3) 揭示三氧化二砷和全反式维甲酸联合治疗急性早幼粒白血病的分子机制; (4) 中国发现 10 万年前的早期现代人化石; (5) 全基因组关联研究发现银屑病、白癜风和麻风易感基因; (6) 揭示水稻理想株型形成的分子调控机制; (7) 大地电磁测量揭示青藏高原东部有两条地壳物质流; (8) 揭示蛋白质赖氨酸乙酰化在细胞代谢中的调控作用; (9) 基于超材料实现微波段三维隐身和电磁黑洞; (10) 实验实现最远距离自由空间量子隐形传态。

以上 10 项进展中, 由中科院科学家牵头承担的研究有 7 项, 由此也从一个侧面反映了中科院在我国基础研究领域的地位和作用。