

• 主编导读 •

本期主编导读主题：纳米生物技术、基因工程制药、肿瘤基因治疗、中药现代化与生物工程、基因修饰猪、密码子偏倚和病毒易感基因等技术与方法。

纳米科学与技术生物工程领域中得到广泛应用。近期广为称道并取得巨大成功的新冠病毒 mRNA 疫苗，其中一项核心技术就是利用脂质纳米颗粒包封并送递 mRNA 进入细胞。如果这项技术不过关或者不过硬，mRNA 疫苗不可能成功。除此之外，其他几种得到成功运用的新冠病毒疫苗，包括灭活疫苗、腺病毒载体疫苗和蛋白质亚单位疫苗，也可以归入纳米生物技术的范畴。下一步，依靠纳米生物技术制备吸入式新冠疫苗是重要的研发方向。纳米生物技术在新药研发以及药物和抗体的送递方面也有一定的应用前景。魏亚敏等<sup>[1]</sup>利用不同长度的乙型肝炎病毒核心蛋白 HBc 的 C 末端结构域，插入可与整合蛋白结合的 RGD 肽，制成纳米颗粒以包封近红外成像试剂吲哚菁绿用于肿瘤诊疗，正是利用纳米生物技术研发新型诊疗制剂的有益探索。HBcAg 可以自组装形成纳米颗粒，可供插入其他的疫苗抗原，也可作为送递药物和抗体的载体，过往已有多种不同的尝试。HBc 在乙肝病毒生命周期中负责包封病毒核酸，将其送入细胞内再释放出来。HBc 自组装形成的纳米颗粒具有较好的免疫原性，也是良好的药物载体。从某种意义上说，利用 HBc 研发疫苗或药物送递也属于仿生学，或者说是纳米生物技术与仿生学的交叉学科。在 HBc 中除插入 RGD 肽加强肿瘤靶向功能之外，还可以

结合运用其他的制剂和偶联技术，进一步增强送递效果及靶向性。近年批准使用的 siRNA 药物都通过接头与连串的 N-乙酰半乳糖胺 (GalNAc) 偶联，可作为肝细胞上无唾液酸糖蛋白受体的配体实现特异性结合。类似的设计是否适用于 HBc 纳米颗粒，值得考虑。孙山等<sup>[2]</sup>有关纳米抗体技术的最新进展的综述，较好地结合我国学者的贡献对纳米抗体技术进行了概括。纳米抗体是骆驼科动物血液中发现的只有重链而没有轻链的同源二聚体抗体，是依赖单个结构域与抗原结合的功能性抗体。这些抗体既是重要的研究工具，在疾病诊疗中又得到广泛应用。纳米抗体又称为单结构域抗体或重链可变区抗体 (heavy chain variable domain, VHH)，其名称中纳米二字是指其大小在纳米范围内，分子量约 15 kDa，参照物是哺乳动物的各种多结构域的免疫球蛋白。从这个意义上说，纳米抗体技术可归入纳米生物技术。当然，纳米抗体也可以通过其他的纳米生物技术来送递，例如用纳米抗体包被脂质纳米颗粒，使之进入靶细胞等。

分子生物学和基因工程的每一个突破都为生物制药提供了新工具、新手段。以 CRISPR 为基础的基因组编辑技术的发现和应用被授予 2020 年诺贝尔化学奖，CRISPR 技术为生物工程各个领域都带来革命性的变化。狄玉昌等<sup>[3]</sup>

利用 CRISPRi 技术敲低耻垢分枝杆菌翻译延伸因子 EF-G 的表达,从而有效提高分枝杆菌对于主要通过抑制细菌核糖体功能而发挥作用的利福平、异烟肼、红霉素、夫西地酸、卷曲霉素等抗菌物质的敏感性。与此同时,单婵等<sup>[4]</sup>同样以 CRISPR 技术在耻垢分枝杆菌中敲除新发现的两个 hett 蛋白的编码基因,也发现菌株对卷曲霉素、卡那霉素、阿米卡星、链霉素、庆大霉素、巴龙霉素和潮霉素 B 的敏感性有所提高。这两项工作异曲同工,都为成功利用 CRISPR 技术推进新一代抗生素的研发提供了新例证。类似的方案可能适用于许多不同的药物筛选系统,也可用于新药及新药靶点的发现和验证。周知音等<sup>[5]</sup>采用 CRISPR 技术敲除人结肠癌细胞系 HCT-116 的 *TrxR1* 基因,以便研究 TrxR1 小分子抑制剂的细胞内靶点,就是另一个很好的例子。在药物靶点不清的情况下,还可以通过 CRISPR、CRISPRa 及 CRISPRi 等筛选方法在全基因组范围内进行无偏筛选,先找出靶点,再用敲除敲低等方法构建基因工程生产菌株或生产细胞株。在张鑫等<sup>[6]</sup>有关四氢嘧啶生产菌株及技术优化的综述中,也对采用多种基因工程及系统代谢工程的思路和方法创制高效积聚目标产物的生产菌株进行了比较系统地介绍。这些导致细胞内大量积聚四氢嘧啶的方法包括基因簇重组、异源表达、基因删除、表达调控的重构、系统代谢工程及代谢通路重构等。基因工程为传统制药的创新和换代提供了无限的契机,以上有关抗生素测试菌株及四氢嘧啶生产菌株的创制方案,对其他重要医药产品的研发和生产也有参考价值,值得认真思考。

近年肿瘤的免疫治疗有多方面的突破,包括免疫检查点抗体、双特异性抗体及 CAR-T 细胞治疗等,都走出了实验室,进入临床应用的新阶段。相比之下,肿瘤基因治疗虽经多年探索,尚待突破。谢雨琼等<sup>[7]</sup>利用腺病毒载体表达 Ad-ER $\alpha$ -36-Fc-GFP 诱饵受体,试图通过抑制其中一种重要的雌激素受体的功能在体外细胞培养的水平上实现三阴性乳腺癌的基因治疗,是一项有一定创意的研究工作,希望日后在合适的动物模型上得到验证。他们的基本思路是用 Ig  $\kappa$  的信号肽指导 ER $\alpha$ -36-Fc-GFP 的分泌型表达,其中 ER $\alpha$ -36 已知在三阴性乳腺癌中高表达。分泌型受体与 Fc 融合后可望有效延长半衰期,而 GFP 主要是为实验提供一个标记。诱饵受体可望抑制在肿瘤细胞上过表达的 ER $\alpha$ -36 受体的功能。虽然这一设计思路有新意,但有关的功能性研究仍有待加强。目前只在一种细胞中观察到磷酸化 EGFR 和磷酸化 ERK 的轻微下降,仍然十分简单初步。除前述动物试验之外,在细胞水平也有很多实验需要补充,包括在加入雌激素及三苯氧胺的条件下重复有关测试等。

从传统中药青蒿和五味子中提取的青蒿素和联苯双酯为中药现代化走出了新路,而现代生物工程技术的发展也为此创造了更充分的条件。杨黄是《东医宝鉴》中记载的传统中药。和生等<sup>[8]</sup>制备栽培杨黄子实体的水提取物、乙醇提取物、石油醚提取物及粗多糖,在 H<sub>22</sub> 荷瘤小鼠中进行抗肿瘤作用及机理的研究,发现其石油醚提取物的抗肿瘤效果最明显,并可能通过线粒体凋亡途径发挥作用。这项工作为后续进一步研究奠定了基础。双子叶植物的三萜皂苷是许多中草药的主要有效成分,周宸等<sup>[9]</sup>

对三萜皂苷生物合成的关键性糖基转移酶所作的综述,介绍了真核及原核生物中有关糖基转移酶的结构与功能的基本特点,从而为进一步的应用研究提供了重要参考。通过蛋白质工程对相关的糖基转移酶进行结构改造及优化,可望提高三萜皂苷的产量,实现有关天然产物的定向生物转化,甚至取得具有生物活性的非天然产物。可以说,他们的综述对于在中药现代化中如何应用蛋白质工程、系统代谢工程以及合成生物学的新思路和新方法,具有一定的启发意义。

2022年1月7日,美国马里兰大学医学院的外科医师将一个经过基因修饰的猪心首次移植到一位57岁的末期心脏衰竭的病人体内。直至2月13日,病人仍然存活并从电视上观看了美式足球比赛。植入的猪心共有10项基因修饰,其中3个与器官排斥有关的猪基因被删除,而6个可帮助身体接纳猪心的人类基因则被加入,再有1个负责生长的猪基因也被敲除,以防止猪心过大<sup>[10]</sup>。这是心脏异种移植的一项重大进展,可以从中学习很多过去无从了解的知识。周小青等<sup>[11]</sup>有关基因修饰猪的论文,利用TALEN技术敲除猪基因*GGTA 1*并引入人*HLA-5G*基因,希望降低免疫排斥的机会,并增强猪器官的免疫耐受。虽然前述进入人体试验的基因修饰猪必须含有更多的基因修饰,这项工作的设计与已展开的猪心移植试验的思路还是相近的,也可作为重要的研究模型。

李易聪等<sup>[12]</sup>的综述对密码子偏倚影响mRNA降解及翻译调控的基本原理进行了比较系统的介绍,也简略地概括了基因工程中根据密码子偏倚特性选用特定生物偏爱或罕用的密

码子进行基因表达调控的方法。在实际应用中,除通过基因突变改变密码子,以便采用使用频率高的密码子提高基因表达水平以外,近年来也有一些通过选用罕用密码子以降低基因表达水平的例子。例如设计病毒减毒活疫苗时,选用罕用密码子降低病毒蛋白的表达,从而实现减毒的目标。利用新冠病毒的减毒活疫苗,就有人提出采用罕用密码子的方法。综述中虽然没有提供类似的实例,但其基本原理还是相通的。希望读者能够注意相关的一些有创意有特色的研究新思路。

郑克溪等<sup>[13]</sup>的综述对 $\lambda$ 干扰素家族基因遗传多态性与乙肝病毒的感染、复制及清除的关系进行了比较全面地分析,也对通过其遗传多态性预测疾病进程及治疗效果作出简单介绍。病毒感染的易感基因的研究位于分子病毒学与分子遗传学的交叉领域,也是备受关注的热点。这方面比较经典的例子就是趋化因子受体CCR5的 $\Delta 32$ 显性失活突变体与艾滋病毒感染易感性的关系。CCR5- $\Delta 32$ 也可应用于艾滋病的细胞及基因治疗。对于H5N1和H7N9禽流感的人类感染,一种主流学说就是病毒在个别带有遗传易感基因的个体中感染和复制特别活跃,从而造成高致病性。与此相类似,对于新冠病毒感染造成的重症病例,也有学者试图以遗传易感基因来解释。在乙肝病毒的感染与转归方面,相信遗传易感基因也有一定作用。通过深入了解 $\lambda$ 干扰素家族基因遗传多态性与乙肝病毒易感性及疾病进程和治疗效果的关系,我们可以从一个侧面更好地认识如何将人类分子遗传学的原理和方法应用于医学病毒学研究。

## REFERENCES

- [1] 魏亚敏, 李玉林, 张恒, 等. 乙型肝炎病毒核心蛋白 CTD 结构域与吖啶菁绿包封效应的相关性. 生物工程学报, 2022, 38(3): 1039-1049.  
Wei YM, Li YL, Zhang H, et al. Correlation of the CTD structural domain of hepatitis B virus core protein with the encapsulation effect of indocyanine green. Chin J Biotech, 2022, 38(3): 1039-1049.
- [2] 孙山, 谭星, 庞晓燕, 等. 纳米抗体技术应用的最新进展. 生物工程学报, 2022, 38(3): 855-867.  
Sun S, Tan X, Pang XY, et al. Recent advances in the application of nanobody technology: a review. Chin J Biotech, 2022, 38(3): 855-867.
- [3] 狄玉昌, 白嘉诚, 迟明哲, 等. 耻垢分枝杆菌 EF-G 敲低菌株的构建和耐药分析. 生物工程学报, 2022, 38(3): 1050-1060.  
Di YC, Bai JC, Chi MZ, et al. Construction of EF-G knockdown strain of *Mycobacterium smegmatis* and drug resistance analysis. Chin J Biotech, 2022, 38(3): 1050-1060.
- [4] 单婵, 岳倩文, 丁晓明. 核糖体 *bS22*、*bL37* 基因的敲除增强分枝杆菌对抗生素的敏感性. 生物工程学报, 2022, 38(3): 1061-1073.  
Shan C, Yue QW, Ding XM. Knockout of ribosomal genes *bS22* and *bL37* increases the sensitivity of mycobacteria to antibiotics. Chin J Biotech, 2022, 38(3): 1061-1073.
- [5] 周知音, 吕晓梅, 朱丽, 等. 利用 CRISPR/Cas9 系统构建稳定敲除 *TrxRI* 基因的 HCT-116 细胞株. 生物工程学报, 2022, 38(3): 1074-1085.  
Zhou ZY, Lü XM, Zhu L, et al. Construction of a stable *TrxRI* knockout HCT-116 cell line using CRISPR/Cas9 gene editing system. Chin J Biotech, 2022, 38(3): 1074-1085.
- [6] 张鑫, 舒志万, 李永臻, 等. 相容溶质四氢嘧啶的微生物合成研究进展. 生物工程学报, 2022, 38(3): 868-881.  
Zhang X, Shu WZ, Li YZ, et al. Advances in the microbial production of the compatible solute ectoine: a review. Chin J Biotech, 2022, 38(3): 868-881.
- [7] 谢雨琼, 李春春, 李晓焯, 等. Ad-ER $\alpha$ -36-Fc-GFP 的制备及鉴定. 生物工程学报, 2022, 38(3): 1086-1095.  
Xie YQ, Li CC, Li XY, et al. Preparation and characterization of Ad-ER $\alpha$ -36-Fc-GFP. Chin J Biotech, 2022, 38(3): 1086-1095.
- [8] 和生, 包海鹰, 魏颖, 等. 栽培杨黄不同提取物对 H<sub>22</sub> 荷瘤小鼠的抗肿瘤作用及机理. 生物工程学报, 2022, 38(3): 1025-1038.  
He S, Bao HY, Wei Y, et al. Antitumor effect and mechanism of different extracts of cultivated *Phellinus vaninii* on H<sub>22</sub> tumor bearing mice. Chin J Biotech, 2022, 38(3): 1025-1038.
- [9] 周宸, 巩婷, 陈晶晶, 等. 三萜皂苷生物合成相关糖基转移酶研究进展. 生物工程学报, 2022, 38(4): 1004-1024.  
Zhou C, Gong T, Chen JJ, et al. The glycosyltransferases involved in triterpenoid saponin biosynthesis: a review. Chin J Biotech, 2022, 38(4): 1004-1024.
- [10] Shah AM, Han JJ. First successful porcine to human heart transplantation performed in the United States. Artif Organs, 2022. DOI: 10.1111/aor.14203.
- [11] 周小青, 刘玉, 唐成程, 等. 敲除 GGTA1 同时表达人白细胞抗原 G5 的基因修饰猪的构建. 生物工程学报, 2022, 38(3): 1096-1111.  
Zhou XQ, Liu Y, Tang CC, et al. Generation of genetic modified pigs devoid of GGTA1 and expressing the human leukocyte antigen-G5. Chin J Biotech, 2022, 38(3): 1096-1111.
- [12] 李易聪, 蒲飞洋, 王慧慧, 等. 同义密码子使用偏嗜性对 mRNA 半衰期及翻译调控的影响. 生物工程学报, 2022, 38(3): 882-892.  
Li YC, Pu FY, Wang HH, et al. Effects of synonymous codon usage bias on mRNA half-life and translational regulation. Chin J Biotech, 2022, 38(3): 882-892.
- [13] 郑克溪, 张阿梅. IFN- $\lambda$  家族基因遗传多态性与 HBV 感染、病毒复制及清除的关系. 生物工程学报, 2022, 38(3): 893-902.  
Zheng KX, Zhang AM. Correlations between genetic polymorphism of IFN- $\lambda$  family gene and HBV infection, virus replication and clearance. Chin J Biotech, 2022, 38(3): 893-902.

(本文责编 陈宏宇)