

DOI: 10.13376/j.cbls/2015096

文章编号: 1004-0374(2015)06-0681-05



赵国屏(1948—), 分子微生物学家。中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所研究员, 中国科学院合成生物学重点实验室主任。现任国家人类基因组南方研究中心执行主任、生物芯片上海国家工程研究中心主任, 兼任中国微生物学会名誉理事长。2005年当选中国科学院院士。早期从事微生物生理生化、代谢调控及酶作用机理的研究。1998年之后, 领导建立基因组学研究平台及体系, 参与人类疾病基因组研究工作, 克隆若干人类遗传病致病基因。启动生物芯片、生物信息学、蛋白质组学的研究工作; 参与建立人类HapMap研究技术平台。启动中国微生物基因组测序工作并主持若干重要微生物的基因组、功能基因组、比较和进化基因组研究工作。曾在SARS分子流行病学、SARS冠状病毒的分子进化研究方面作出重要贡献; 在微生物代谢调控, 包括代谢酶翻译后乙酰化修饰研究方面, 做出开创性工作。

## 从生命分子的人工合成到合成生命 ——人工合成胰岛素事业在新时代的继承及超越

赵国屏

(中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所, 合成生物学重点实验室, 上海 200032)

1965年, 当人工全合成结晶牛胰岛素成果向世人发布的时候, 我刚从初中升入高中。虽然不可能有深刻的认识, 但是, 它确实再一次坚定了我学习生物的决心, 当时特别感觉要学生化, 而且是北京大学的生化! 然而, 一年之后, “文化大革命”开始, 读大学是不可能了。于是, 研究生物学的理想, 转化成了“广阔天地, 大有作为”的插队落户实践; 而大学教科书, 也就转换成了马列经典。当读到恩格斯《自然辩证法》中“生命是蛋白体的存在形式, ……”这一著名的论断时, 似乎突然理解了人工合成胰岛素的意义, 却又陷入了与“核酸是基本遗传物质”的“中心法则”认识的矛盾之中。

我还是有幸赶上了上大学的“末班车”。在复旦, 盛祖嘉先生教授的“微生物遗传学”和沈仁权先生教授的“生物化学”两门课, 为我奠定了全面的生物学基础。经过在Purdue大学的严格的生物化学与分子生物学基本训练于20世纪90年代初回国之后, 我曾经主持“863”蛋白质工程和中科院的人类基因组项目; 进入新世纪, 又主持了合成生物学的“973”项目。亲身参与我国生命科学研究从基因组走向系统生物学, 又进入合成生物学的新研究领域; 深感我们这一代人, 历史性地承担了认真总

结从人工合成胰岛素以来, 我国生命科学与生物技术发展及与之相关的战略与政策的历史经验的责任; 从而更加理智与积极地去开拓新天地、培养新人才、撰写新篇章, 为实现中国的复兴之梦而奋斗!

在19世纪初叶, 所有当时的有机化合物都是生物的组成成分或生命活动过程中所产生的物质, 再不然就是生物体死后所变化衍生出的物质。1828年, 德国化学家Friedrich Wöhler把腈酸铵溶液加热获得了尿素, 首次实现了从无机物合成有机物, 改变了有机物只有生命体或是通过“生命力”才能产生, 而人工是无法合成的观点。这是在认识生命怎样从无机自然界中发生的探索中的第一个飞跃, 也是合成化学与生命科学第一次被联系在一起, 宣告了合成化学(合成科学)的诞生。

然而, 要真正克服“生命力”观点, 就要合成比尿素复杂得多, 而且具有生理活性的生命分子(譬如蛋白质)。Emil Fischer在20世纪初首先提出氨基酸通过肽键结合形成多肽的观点, 确定了蛋白质分子的氨基酸基本骨架。1953年, Vincent du Vigneaud从氨基酸出发合成了第一个具有生理活性的多肽激素——催产素。当然, 多肽(譬如九肽的

催产素)终究还不是真正意义上的蛋白质;人工胰岛素的合成,是用化学方法合成的第一个蛋白质,而且具有很好的生理活性。因此,这不仅是合成化学的重大进步,而且促进了科学家对生命的理解,在合成科学的概念上往前突破了一大步,是第二个飞跃。

重要生命分子的人工合成中另一个重要的方向,就是以核苷或单核苷酸为原料并且不依靠任何天然模板或引物,采用有机合成反应进行寡核苷酸或核酸大分子的合成。1957—1965年, H. G. Khorana 等人设计并合成了由一种、两种或三种脱氧核苷酸组成的重复顺序的脱氧寡核苷酸片段,并以此为模板用 DNA 聚合酶和 RNA 聚合酶进一步复制和转录,得到了具有对应的互补顺序的长链人工信使核糖核酸(mRNA),再用这种人工 mRNA 在无细胞体系中进行蛋白质合成,由此证明了人工合成的脱氧寡核苷酸片段具有生物学活性。

由于组成 RNA 的核苷酸在作为人工合成原料的时候,要比脱氧核苷酸多一个需要保护及脱保护的基团,因此,其人工合成,比寡聚 DNA 的合成要困难许多。由中科院上海生化所、细胞所、有机所、生物物理所和北京大学、上海试剂二厂等单位联合攻关,王德宝等我国研究人员自1968年开始人工合成 tRNA 的研究工作,利用化学和酶促相结合的方法,通过13年努力,于1981年,首次人工合成化学结构与天然分子完全相同(包括天然分子中的全部修饰成分)具有生物活性的核酸大分子——76核苷酸整分子酵母丙氨酸 tRNA,标志着中国在该领域进入世界先进行列。

至此,在中心法则中发挥核心作用的三大生命分子:蛋白质、DNA 和 RNA 都实现了人工合成,并且都具有生物活性,人类终于克服了“生命力”学说。到本世纪的2010年,以 Craig Venter 为首的美国科学家,又通过人工合成大约100万碱基的支原体基因组,并转入另一种支原体细胞中,取代原细胞基因组,获得了在人工合成基因组指导下正常生长(代谢)和分裂(繁殖)的“人造生命体(Synthia)”,证明了人工合成生命的可能。2012年,英国合成生物学家 Philipp Holliger 等研究人员在实验室中人工合成 XNA,这一物质在许多关键功能上可以替代 DNA;而到了2014年,他们又在 XNA 的基础上,设计合成了具有类似 Ribozyme 功能的 XNAzyme。历经近200年的历史,这些合成科学的重大成果,不仅在非生命的无机世界与有生命的有机世界之间建立起了直接的桥梁,奠定了生命的分子基础;而且将合成科学从合成“生命分子”发

展到了合成“生命体”的新高度,完成了人类对生命本质认识的思想飞跃。

合成科学的这一系列成果及其蕴含的研究思想,对生命科学还有更深层次的贡献,即以此为工具,进一步深刻地认识生物体生命运动的规律。譬如,通过胰岛素人工合成的实践,人们对蛋白质化学结构与立体结构之间的关系有了进一步的了解,为蛋白质结构与功能关系的研究开辟了新的途径。曹天钦先生曾经很有远见地指出:可以预期,人工合成胰岛素对于蛋白质活力中心所必需的结构和作用机制等问题的阐明,一定会有其特殊的贡献;在酶的模拟研究中,也会起其重要的作用。<sup>[1]</sup>有趣的是,合成科学在生命科学研究这一方向上发展的可能性,也是在尿素合成之后不久,由一位法国的化学家 Stéphane Leduc 于1910年提出。当然,那是一个科学蓬勃发展的时代,各门基础学科都焕发出初创阶段的激情,收获着知识更新与技术创新的硕果。同时,那也是一个充满科学幻想与陷阱的时代,由于知识的局限和观察能力的局限,许多新颖的假说仅建筑于表面现象的相似之上,并没有触及事物的本质。在他1911年3月出版的《生命的机理》(The Mechanism of Life)一书中, Stéphane Leduc 热情地用物理的理论,去解释生命现象;认为“构成生物体的是其形态”,而生物学则是液态物理化学的一种分支。由此,他认为所谓“人工细胞”和膜等可以由液体扩散、化学反应等形成。在书的一个章节,作者专门讨论了合成生物学(synthetic biology)。他认为,合成生物学包括三部分,其中形态发生(morphogeny)是形状和结构的合成,机能发育(physiogeny)是功能的合成,而有机合成化学(synthetic organic chemistry)是合成生物学的重要分支,涉及活的有机体的组成成分。他还希望,通过所谓的“渗透压生长—形态建成”的物理化学现象,启发人们最终揭示地球上生物的起源和进化规律。然而,生物体和生命运动是高度复杂的,其规律的本质,是在基因组编码的遗传信息指导下的生命分子结构与功能的时空定量关系的建成(发育、生长和繁殖)。Stéphane Leduc 虽然天才地提出了生物学要走一条“描述、分析、合成”的认识道路,但在这些关系尚未被真正全面认识之前,当时的“合成生物学”,只能流连于生命表型与液体物理化学表型相关的“合成”描述,离真正认识生命、改造生命的生命科学,相去甚远!

这里的关键,就在于生命分子在生命过程中所起的功能层次是不同的,更重要的是,在各层次之

间，既有密切的联系，又有质的飞跃。当DNA双螺旋结构被解析(analysis approach)之后，结合对一系列生命分子结构功能认识的深入，人们开始认识到，尿素一类生物小有机分子，一般是代谢的中间或最终产物；而蛋白质大分子，则是构成生物体架构(结构蛋白)和实施生命运动的工具(如胰岛素等活性蛋白)或机器(如酶蛋白)。然而指导这一切，并能将这种指导功能一代一代遗传下去的信息，则是由结构看似简单(仅有ACGT/U四类碱基组成)的DNA和RNA等核酸信息大分子所承载。通过上述解析形成的分子遗传假说，经由以人工合成的DNA为模板，酶催化合成的mRNA及进一步合成的多肽产物的氨基酸顺序与模板中脱氧核苷酸顺序的对应(synthesis approach)，人们成功地破译了遗传密码，为中心法则的建立，为分子生物学的建立，奠定了基础。

分子生物学为合成生命分子带来了一条更为简便有效的途径，那就是利用自然的工具，进行DNA的酶催化合成，又在DNA模板的指导下，有序的进行多层的生命分子的合成(蛋白质乃至代谢小分子)——生物合成。在这个方向上，DNA的生物合成又成为核心。这一方面是因为其一级结构简单又基本涵盖最核心的遗传信息，另一方面，又因为自然界通过亿万年进化，为我们提供了一系列在不同条件下、以不同专一性作用于DNA的工具酶。半个多世纪以来，DNA重组技术(克隆技术与染色体重组技术)、DNA扩增技术(PCR技术)以及一系列DNA编辑技术(从定向突变到今天的CRISPR/Cas技术)可以说是这个方向上的几个里程碑式的突破。当然，我们必须认识到，是以DNA测序与注释技术为代表的分子生物技术的工程化、信息化革命，为所有这些合成技术奠定了最关键的、海量的信息基础——完整的基因组序列及编码。

回顾历史，我们可以清晰地看到，人工合成胰岛素产生在20世纪中叶，并非是一个孤立的事件，而是生物化学走向分子生物学的必然和关键的一步，惟其如此，它也成为生命科学第一次革命的重要标志之一。而随之于20世纪末出现的基因组学，则是科学界的第二次大革命。它不仅催生了一系列生命“组学”，还结合系统学思想，形成了以“自上而下”认识生命复杂系统为使命的系统生物学。本世纪初以来，生命科学、自然科学、工程学和其他学科之间更加深度融合，正在兴起第三次革命。汇聚了系统生物学和定量生物学，引入计算机工程学的概念，以“自下而上”合成人造生命为使命的

合成生物学的崛起，为生命科学提供了崭新的研究思想，正在促使生命科学从以观测、描述及经验总结为主的“发现(discovery)”科学，跃升为可定量、计算、预测及工程化合成的“创新(innovation)”科学，由此正在催生一次科学、文化、技术和工程与产业的革命。合成生物学采用在人工设计指导下的生物元件表征、模块构建、途径系统组合、器件与底盘适配等一系列正向工程学策略，达到按照人类预先设定的功能目标，创建或改建生命系统的目标。为此，合成生物学必须学会从自然抽象生物学元素，或在不同层次上对生物元件的结构与功能进行解耦，或人工构建正交稳定的基因线路，以实现目标导向的鲁棒性设计；还必须发展一系列使能技术，并建立相应的工程平台，在标准化、通用化基础上实现简捷和低成本构建的目的。

合成生物学不仅以崭新的思维方式和强大的创造力开启了生命与非生命的对话，而且将生物学向工程科学转化，全面革新生物技术，并迅速向社会生活和经济生产的各个层面渗透。从现今的发展趋势看，合成生物学有可能为改善人类健康，为解决资源、能源、环境等重大问题提供全新解决方案，为现代工业、农业、医药等产业带来跨越性乃至颠覆性发展的机遇。

人工合成胰岛素是我国生命科学“大科学”研究模式的第一次尝试。我至今清晰地记得，上海生命科学研究院于1999年成立之后，我们曾努力学习人工合成胰岛素的经验，在院层面组织几个“大项目”以带动学科向人口健康的重大科学问题的方向凝聚，提升全院的创新能力。然而，在组织过程中，困难重重。一天，我与一位老先生谈心，他语重心长地说，现在与那时是不能比的，“那时是有党委领导的”！是的，人工合成胰岛素项目，起始于“大跃进”的鼓动，面对着基础薄弱的现实，经历了“反右倾”的折腾，最后是如何在“党的领导下”成功的呢？我努力从本期刊登的回忆文章中，去寻找答案。

首先，就是选题和立题。虽然那是在“解放思想，大干快上，向科学进军，攀登世界高峰”等“大跃进”精神激励下产生的思想火花；但是，终究是科学家们思考讨论和文献查阅之后做出的选择。因此，正如龚岳亭先生所述，“选题思想明确，既有重大的科学意义，要攻克世界上尚未突破的难题，又切实可行，奋力跳跃一下能摘下果实。”从科学意义看，“蛋白质与核酸两类生物大分子体现生命的物质基础，蛋白质是生命活动的主要承担者，它

调节生长、发育、繁殖代谢和行为等生命过程。人们如能解决人工合成的问题，乃至创造出存在于自然界的蛋白质‘变种’，不仅对深入了解生命现象与活动规律有重大意义，还可以为人类的生产实践开辟出新的天地，在生命科学研究的漫长道路上树立一块重要的里程碑。”<sup>[2]</sup> **从研究可行性基础看**，一方面，从催产素到促黑激素的合成，已有了一套可行的多肽合成方法，也就是说，**有了技术基础**。另一方面，F. Sanger 已经于 1955 年完成了胰岛素的一级结构测定工作，也就是说，**有了合成的信息基础**。

然而，在具体研究路线的选择上面，的确还有大量的科学问题和基础材料问题（譬如试剂级的氨基酸提供等）必须**实事求是地以科学的态度去解决**。在研究开始的时候，生化所经过科学论证，按照“全面准备，多路探索，上下并举，重点突破”的精神，制定出以天然胰岛素的硫硫键拆合和氨基酸生产为先行，多肽化学合成成为主力，同时建立与改善肽的分离、纯化与分析技术，并探索肽的激活（磷酸化）与酶促转肽等生化途径等五路进军的具体措施<sup>[2]</sup>。以后，又**按照实际进展情况，突出重点，进行调整**。杜雨苍先生指出，“中国为何能超前？俗话说‘秧苗落地三分收’，定题及时和先攻克‘拆合难关’是两项重要的原因。”“将‘拆合’定为‘探路先锋’本身就是科学决策，包含了成功的因素。”<sup>[3]</sup>

当时，被越烧越热的“大跃进”冲昏了头脑，加上“反右倾”的政治压力，试图在几个月几周内合成胰岛素的“大兵团作战”方略的结果必然是失败。所幸，这样“大跃进”的“成果”，在科学检测面前是站不住的。在总结了大量经验教训的基础上，中科院党的领导者与战略科学家王应睐先生等形成了共识，“**科学研究必须按科学规律办事，必须坚持由少数精兵作不断的探索和积累经验**”。在具体工作中，又**特别加强了质控，特别是统一的质控标准**。徐杰诚回忆说：“为了检定每步缩合产物的纯度，每一个中间体都要通过分析、层析、电泳、旋光测定、酶解及氨基酸组成分析，其中任何一项分析指标达不到，都要进一步提纯后再进行分析，力求全部通过。当时我们戏称这叫‘过五关、斩六将’。”<sup>[4]</sup> 这样，一步一个脚印地工作，才真正调动了科研工作者的积极性，将积极性引导到了科学的基础上，从而出现了迅速发展的局面。

人工合成胰岛素的研究方案中包括了“氨基酸生产先行”<sup>[2]</sup>。在当时的形势下，“国内只能生产纯度不高的甘、精、谷 3 种氨基酸，其余 14 种需要进口。由于帝国主义对新中国的封锁禁运，生化试

剂需从香港转口进入中国，除要花昂贵的外汇外，且时间长，开展工作有远水不解近渴之感。合成胰岛素必需有源源不断的氨基酸供应，因此，只能走自力更生、奋发图强的道路。”<sup>[5]</sup> 意味深长的是，为了完成氨基酸生产的任务，生化所并不简单地成立一个“攻关小组”，而是于 1958 年底，由陈远聪“和谭佩幸一道负责东风厂的组建工作。主要为人工合成胰岛素生产氨基酸。”<sup>[5]</sup> **历史已经证明，为“大科学工程”建立“大技术平台”不仅绝对必要，而且这个平台的创新能力与服务水平，在很大程度上决定了大科学项目成败与否**。在 20 世纪 80~90 年代，为了顺利实施人类基因组计划，各参与国无不建立了与基因组测序任务相适应的大规模平行化测序平台以及与之相配套的生物信息平台（甚至成立国家级的生物信息中心）。此后，大量生命“组学”工作的开展，也往往伴随着相关技术平台的建设；而**这些由国家（即所谓的公共版块，public domain）建立的平台中心，也始终承担着不断更新技术，输出技术，提升整个国家的科研水平的任务**。除此之外，更有教育意义的是，当时的东风厂除了为人工合成胰岛素提供原料，还“以面向全国，为发展中国生化事业服务为宗旨，增加生产除氨基酸外的其它生化试剂，到 1966 年文革开始前，已有上百种产品。”东风厂的创办者们“曾经有个想法，可以把东风厂办得更大，办成一个像样的生化试剂厂，与英国的 BDH、美国的 Sigma 相似。”<sup>[5]</sup> 可惜，由于种种原因，这个理想没有实现；而到了“文革”之后，我们的生化分子生物学研究又出现缺乏工具酶问题的时候，还仅仅依靠各研究所“协作生产”解决，而没有以东风厂这样的企业为基地来进行商业化的生产，以至于至今大量关键的工具酶，依然依赖进口。这段历史给予我们的教训是明白的，**我们做“大科学”不仅需要公共的“大技术平台”，而且，这些技术平台形成的稳定的，有大规模推广价值的试剂和技术服务，一定要走向产业化，让商业化的机制，保证其长远地、稳定地向全社会科研界，提供最好、最便捷，也是最经济的商业服务**。

**大科学、大项目，必然需要大协作**。但是，即便是处于 60 年代的环境中，处理好协作单位之间的合作与竞争的关系，依然是一个难题。胰岛素项目，在经过了一系列的教训之后，中科院有机所与北大终于“约法三章”：不搞“上海”的胰岛素，不搞“北京”的胰岛素，不搞这个单位的胰岛素，不搞那个单位的胰岛素，不搞“你的”胰岛素，不搞“我的”胰岛素，**联合起来，一心一意搞出“中**

国的”胰岛素<sup>[6]</sup>。希望这个伟大的思想飞跃，永远成为我们中国科学工作者的座右铭！

最后，我深深为当时领导这一大科学项目的党组织的领导干部的素质所感动。我不想再去重复他们敢于担当的责任感，博采众长、认真学习的进取精神，关心群众、尊重科学的民主作风……；我只想再引用丁公量同志关于基础研究的一些话<sup>[7]</sup>：

“我逐渐理解了基础理论研究的重要性，没有基础科学的研究就没有科学技术的真正发展，权威性的科学理论也就难以出现，国家、社会、人类就失去了不断进步、不断创新、不断改进自己生活的动力。”

“基础理论研究往往要有几代人的研究积累，所以它是科技创新的后盾，也是经济发展的后盾，否则只能繁荣或热闹于一时，而没有后劲了。如果没有长期的基础研究的聚存积累，不可能在这么短的时间里做出多项成果。”

“作为高级的科研单位还必须考虑从国家的长远发展、从战略上依据世界科技发展的趋势和前景，在国际前沿科学方面选择课题，进行竞争，由此能做出推动世界科技发展的发明和发现，出色的人才也就出来了。”

丁公量同志对于基础理论研究重要性的认识，对于基础理论研究是科技创新后盾的认识，以及他对于高级科研单位在科技创新中定位的认识，应该是“胰岛素人工合成”这个基础理论“大科学研究”项目的思想核心，也是我们特别应该要继承和发扬的“胰岛素精神”的核心。对于我们今天这些还处于科研领导岗位上的科学战略规划者和领导者，特别应该深思自省、努力践行。

胰岛素事业对于中国的生命科学研究，划分了一个时代。在它完成之后，“文化大革命”的浩劫随之而来，断送了科学上的一个世代，也断送了科学人才的一个世代。我作为一个后来者，有幸在文革后得以补课，也有幸在回国后接触到多位当年曾经参加人工合成胰岛素的前辈，向他们学到了很多做人的道理，做事的原则和做学问的智慧。最先，我在上海普洛麦格公司担任生产经理，因而曾经与东风厂的元老戎积圻和季钟煜有接触。特别是戎积圻先生，他在公司负责dNTP产品开发，让我真正领教了一位王应睐先生培养出来的生化高级工程师的水平。至今，我一直将他视为老师，在有机合成方面有困难，还去向他老人家请教。此后，我在负责“863”蛋白质工程的时候，有幸得到龚岳

亭先生的教诲，也结识了戚正武先生。他们在蛋白质化学方面渊博的学识，以及严谨的科学态度，都给我深刻的教益，至今受用匪浅。到生物工程中心，陈常庆先生更是我们中心最为重要的学术带头人之一，在三年共事中，给我很多指导、帮助和支持。从他们身上，我看到了当年参与胰岛素合成的一大批中青年科学家和技术人员的优秀品质。他们真正做到了当时中科院党组书记张劲夫号召的青年要“安、钻、迷”，虚心向老科学家学习的精神。他们心系国家、敢于创新、工作积极、踏实负责、学习刻苦、认真钻研、在科研攻关中发挥聪明才智。他们淡泊名利、无私奉献、艰苦奋斗、团结互助，在科研大协作中锻炼人品才干。也正是他们，最终成长为中国生化科学事业的领军人才与技术骨干，又在“文革”之后，培养了新一代科学工作者，形成了新的科研队伍，实现了中国生命科学在世纪之交的迅速崛起。

在结束这篇短文的时候，我要向当年为胰岛素事业努力奋斗的一代前辈致敬！我眼前仿佛又看到了1965年9月17日清晨的那一幕：“杜雨苍从实验室走了出来，从他举着的细管中，人们逆光细看，看到了结晶的闪光！把它拿到显微镜下，出现的果然是和天然牛胰岛素一模一样、立方体形、闪闪发光、晶莹透明的全合成牛胰岛素结晶。”<sup>[5]</sup>

（由于成文仓促，本文仅标注了引文直接来自关于人工合成胰岛素的回忆文章的部分。其他相关科研论文一概不予专门引用。一部分观点与本专辑的相关文章雷同，但非直接引用，也就不作引证标注或注释，读者如果需要，不难溯源，特此声明，并向原文作者致歉。）

#### [参 考 文 献]

- [1] 曹天钦. 胰岛素人工合成的科学意义. 自然辩证法研究通讯, 1966, 1: 1-7
- [2] 龚岳亭. 关于人工合成结晶牛胰岛素研究的回忆. 院史资料与研究, 2000, (5): 3-20
- [3] 杜雨苍. 有关胰岛素工作的一些回忆和探讨. 院史资料与研究, 2000, (5): 21-4
- [4] 徐杰诚. 关于“结晶牛胰岛素合成”研究工作的几点体会. 院史资料与研究, 2000, (5): 29-34
- [5] 陈远聪. 筹建东风生化试剂厂的回顾. 院史资料与研究, 2000, (5): 35-9
- [6] 熊卫民. 人工全合成结晶牛胰岛素的历程. 生命科学, 2015, 27(6): 692-708
- [7] 丁公量. 我在胰岛素合成工作的前后. 院史资料与研究, 2000, (5): 47-61