



分子生學

你微笑著而不對我說什麼
我覺得這就是我已經久候的

泰戈爾·漂鳥集·第四二

；有時候一個 Plasmid 能從自己細胞內的染色體上抽取一小截 DNA，進而導入另一相關菌種的細胞內，甚至能與此細胞的染色體合而為一。這種靠染色體外的因素來達成不同種的基因交換，無可否認地在細菌演化上占有些許地位，但于自然界中並不普遍。否則，經過現代細菌學無數代的轉遞，菌種的共同特質必定不能維持如此的完整。

出來，注入人體受精卵中之染色體；經過十月懷胎，終于生出可長成巨牙的幼兒。有沒有可能成為事實呢？雖然距離答案的路程還很遠，但是目前似乎有了重大的突破。

在討論正題以前，讓我們先了解一些遺傳學上的基礎概念及有關作為遺傳研究的細菌基因的大略構造：物體是生物的基本單位，同一物種間各個體可以互相交配而繁衍後裔；每一物種都帶有它自己特別的基因，使其有別於其他物種，同時也使其不能與其他物種自由地作有意義的交換遺傳物質——即 DNA 去氧核糖核酸。

這種維持基因遺傳的單一性之特質，最明顯者莫過於單細胞生物，例如細菌。即使它們同樣寄生于同一寄主身上，大多數的細菌亦不交換基因訊息；就是極為類似的同系細菌通常也不交換它們染色體上的基因。然而還是有些例外：Plasmid 是 DNA 的片段，在某些細菌中獨立於染色體外

神話故事中常常出現一些似人似獸的主角，例如：人面獅身的史芬克斯，牛頭人身的麥諾托，獅頭羊身蛇尾能吐火的齊味拉；然而現實世界並不如此。因為不同物種間的個體存在著自然差異，使他們不能作基因訊息的互換；雖然這些自然差異迄今仍不十分明瞭其機轉，但在生物學上具有重要性則無庸置疑。因此，史芬克斯不能單由人和獅子交配而得，更不能只由人或獅子經由累代的突變而來。至於動物園內時有所聞的父獅母虎或父虎母獅雜交所生之獅虎或虎獅，只是極少數的特殊例外罷了！

十九世紀的科學幻想小說作家們，頗愛構想一些新奇古怪而在當時視為不可能的事物，諸如：太空列車、原子礮、機器人以及互牙守門人……等；時至今日，太空列車及機器人已經不成幻想；而互牙守門人呢？只要設法將象中控制巨牙生長的基因分離

1973 年，安妮·C·Y·江和史坦利·N·柯罕在史坦福大學醫學院以及舊金山加州大學醫學院的哈伯·W·伯益和羅伯特·B·赫林皆報導從不同物種來源合成的試管 DNA，分別帶著原來的 DNA 的成功實驗。其中前兩位遺傳學家，先將大腸桿菌內不同性質的兩個 Plasmid 分解，然後將此注入另一大腸桿菌，成功地使此大腸桿菌具有此兩個 Plasmid 所帶的特質，並能繁衍複製仍具特質的後裔。稍後，他們更能導入不同種系的細菌：葡萄球菌的 Plasmid 轉遞至大腸桿菌細胞內；甚至將動物的某些基因轉遞於大腸桿菌內，如：蟾蜍 *Xenopus laevis*。

所有這些實驗可概略區分為四步驟：一、將不同來源的 DNA 分子支解及重組；二、尋求一適當的基因攜帶者，能複製其本身與連結于其上的外來 DNA 片段；三、將此複合 DNA

生物學家是造物主嗎？

吳俊昇

A 分子導入一生活著的細菌細胞內；四、最後從一大族群細胞中，挑選出此已接受複合 DNA 的菌落來。

首先述及支解及重組 DNA 分子的方法：早在 1967 年就有五所實驗室幾乎同時發現能修復斷鍵的 DNA 分子的 DNA ligase；到了 1970 年，威斯康辛大學更發現 T 4 噬菌體所產生的 ligase 能將各自獨立的雙股 DNA，以尾對尾的方式聯結成一。但是，這種經由 ligase 催化的尾對尾聯結，必須此兩個雙股 DNA 分子的尾端接近到足夠使 T 4 Plasmid 作用才行。如何不靠機遇而克服這困難呢？史坦福大學的兩組研究人員分別解決了這問題，他們利用一種酵素 terminal transferase 能催化加成反應的步驟，特別是在單股 DNA 的 3' 端能附加上一串相同的 nucleotides。如果 terminal transferase 和雙股 DNA 作用，則一群相同的 nucleotides 會附加在某一族系的 DNA 分子上；而另一群與上述 nucleotides 互補的 nucleotides 則附加于另一族系的 DNA 分子上。如此一來，這兩族系的 DNA 分子便能以氫鍵互相配對，同時經由 DNA ligase 催化而聯結成一。當然不同物種的任意兩個 DNA 分子也可由上述的方法，將之合成在一起而為複合 DNA 分子。

羅班和克則是以噬菌體 P 22 的

DNA 為材料而成功；另一組研究人員傑克森、西門和柏格是以動物濾過性病毒 SV 40 及噬菌體的 DNA 為探討對象。後者三人所研究的 SV 40 和噬菌體的 DNA 與羅班、克則二人之噬菌體 P 22 的 DNA 有點不同，是一種封閉圓環式的 DNA，因此必須先行打開成為直鏈狀的 DNA 分子方可再進一步處理。打開封閉圓環式的 DNA 成為直鏈式的 DNA，倒有一種酵素 Eco RI endonuclease 可觸發此反應。

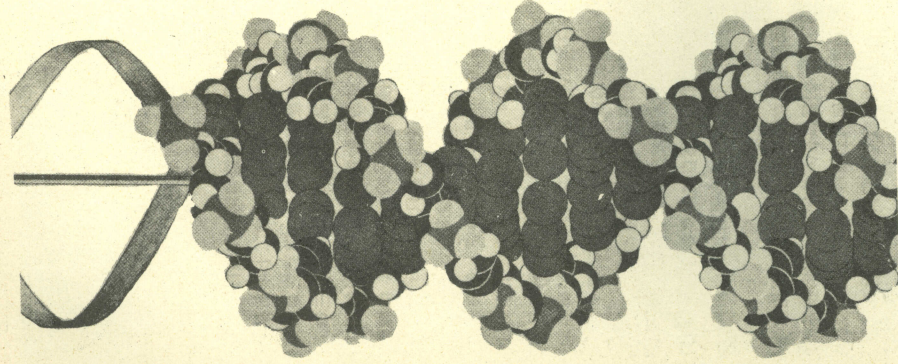
直鏈式 DNA 分子必須經過一種由噬菌體 lambda 所產生的 exonuclease 作用，使 DNA 分子的 5 端縮退，3' 端伸出。如此方能經由 terminal transferase 之助，附加一群 adenonucleotides 于兩不同族系中之某一族系的 DNA 分子上，而另一族系的 DNA 分子則附加一群 thymonucleotides。然後將此二族系的 DNA 分子混合在一起，讓它們彼此尾對尾聯結，再由研究人員供應 exonuclease III 和 DNA Polymerase 及 DNA ligase 完成兩物系的 DNA 分子合而為一的實驗。

如果不由 terminal transferase 而直接在欲聯結的 DNA 分子尾端造成 cohesive termini，那麼所行的程序更為簡易：只要有一種能在支解 DNA 分子時，于其斷鍵處形成互補狀

態所需的酵素即可。為了找到這種酵素，研究人員不歇地進行各式各樣的實驗，發現生長在某些系的大腸桿菌的濾過性病毒，在其他不同系的大腸桿菌中，僅能有限度地成長。進一步探討的結果：發現之所以有限度地成長，肇因於大腸桿菌內有一種酵素，能識別外來的濾過性病毒 DNA 且能支解其 DNA；而支解的地方，幾乎都在或相當靠近旋轉性對稱的主軸上，造成互補形式。因此，這種 restriction endonuclease(如：Eco RI)再次地解決了研究上的難題。

論到前述所稱的四步驟中之第二步驟：尋求一適當的基因攜帶者，能複製其本身與連結于其上的外來 DNA 片段。在 1972 年末，雖然前一步驟獲得圓滿的成就，但是在第二步驟依然進展不大：即使一小段能在原來環境繁衍複製的 DNA 分子，換個不同的環境就不能如此。由於多年來分子生物學家皆集中焦點在濾過性病毒及其與細菌的關係，自然而然地，噬菌體乃成為最有可能性的適當基因攜帶者。其中一種稱為 lambda 噬菌體，常常藉著自然方式的重组機轉，將大腸桿菌的部份染色體併入于其中。事實上，最先作為基因攜帶者的並不是噬菌體，而是 Plasmid。

一些細菌的 Plasmid 具有對抗抗生素的特質，這些性質十多年來已為



衆多研究人員戮力探討並熟悉。舉個例來說，對抗生素有抗藥性的大腸桿菌分別在世界各地分離出來，發現它們都含有 Plasmid，姑且定名為 R 因子；而且 R 因子已可利用生化和物理方面的技術來偵測，並以比重的差異離析出來。

1970 年，夏威夷大學醫學院的莫頓·孟得耳和 A·細格實驗到：大腸桿菌用鈣鹽處理後，可使其吸收濾過性病毒 DNA。史坦福大學的史坦利·N·柯罕意識到：如果利用氯化鈣來處理大腸桿菌，使其細胞膜變得富有通透性，也許純化的 R 因子可以因之而進入大腸桿菌內。結果他的想法真的實現了，只不過依這種處理方式所得到的細菌細胞的概率約為百萬分之一；雖然可能率如此低，但是可以在培養基上加上抗生素，使其他無抗藥性的細菌無法生存，讓具 R 因子的細菌繁衍成一菌落，且菌落中的每一細菌皆帶抗藥性。因此，Plasmid 確實可擔當基因傳遞者的角色。

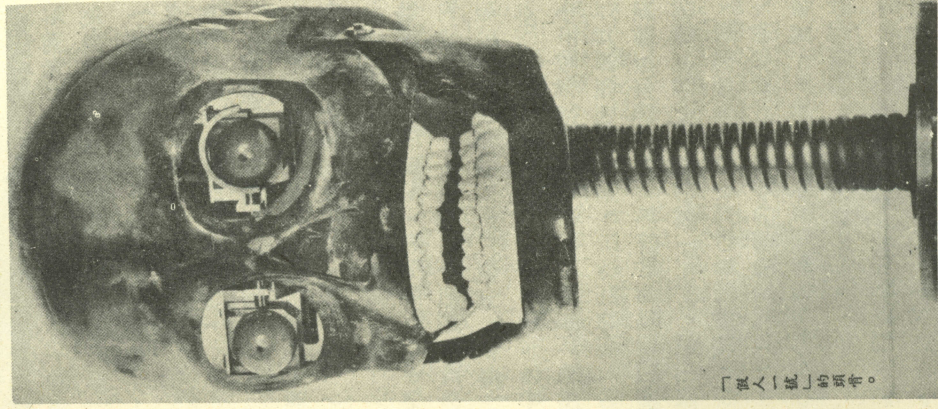
至此我們又想到一個問題：如何將我們所想要的帶某種性質的基因導入 Plasmid 內？該記得前面講過的 E.co. RI restriction endonuclease 吧！

此種酵素可把 Plasmid 切成許多特定的片段。於是史坦福大學的史坦利·N·柯罕又幻想著：是否有一種 Plasmid，經過 E.co. RI 支解而不影響其複製與抗藥性的能力，且可在其支解處導入外來的 DNA 片段呢？幸運得很，這種 Plasmid 又找到了，那就是 pSC101。pSC101 長度為原來的 Plasmid 的十二分之一略少，仍舊持有能複製的基因，且具有對抗四環黴素的抗藥性基因。根據 gel electrophoresis 發現：E.co. RI 支解 pSC101 有一定的位置，並且可以再次地用 DNA Ligase 及其本身氫鍵重新連合。重新連合的 pSC101 導入大腸桿菌內，仍然可以複製及對四環黴素產生抗藥性。

下一步驟就是試著將一小段外來 DNA 分子穿插在受 E.co. RI 支解的 pSC101 斷鍵處，利用 DNA ligase 使其補合而不影響複製能力及對四環黴素的抗藥性，更不會破壞其做為基因攜帶者的角色。於是史坦利·N·柯罕就把 pSC101 與含抗 Kanamycin 的 Plasmid 的大腸桿菌混合，結果得到既能對四環黴素產生抗藥性又可對 Kanamycin 產生抗藥性的新品種，惜乎不能自我複製；或許是肇於外來 DNA 分子阻止了在大腸桿菌內的複製之故。於是史坦利·N·柯罕試著把原本的大腸桿菌 Plasmid 與來自葡萄球菌的 Plasmid p1258 混合，經由 E.co. RI restriction endonuclease 與 DNA ligase 的作用，再以氯化鈣處理大腸桿菌，使其易入此複合 Plasmid。因為葡萄球菌的 p1258 能對青黴素產生抗藥性，所以只須在培養基上，用青黴素處理過，就能分離出可對青黴素又可對四環黴素產生抗藥性的菌種；這種新品系的細菌，經過物理、生化的測定，證實含有 p1258 與 pSC101 的特質。

對於如此產生的新品系細菌，雖然仍然命名為大腸桿菌，但其中已含有由葡萄球菌而來的可複製的 DNA 分子。由於此新品系大腸桿菌能大量繁殖後裔，使我們思及：確實有可能性將欲研究的合成或代謝功能（如：光合作用或產生抗藥性的機轉，屬於其他不同的物種的生化功能）的酵素的管制基因注入易於繁衍的大腸桿菌，使我們更便於研究高級生物的基因。

至於把動物基因導入細菌且因之複製，在實際學理上有困難嗎？史坦利·N·柯罕及海寧·固特曼等諸人又開始企圖解答這問題，必須選擇一種熟悉其特性且在數量上亦易準備及純化的基因：他們找到了蟾蜍 *Xenopus laevis* 控制形成核糖體前身的基因來作為研究的材料。到底蟾蜍 *Xenopus*



「假人」的頭骨。

laevis的基因有甚麼優點呢？不僅它可以在細菌內複製，而且不致於因復合基因而產生難以預料的生物新品種，此外，蟾蜍 *Xenopus laevis* 的核醣體DNA不像pSC101帶有產生對四環黴素具抗藥性的基因，而能在培養基上以四環黴素處理後分離出來；所以惟有利用前述之endonuclease，支解從複合基因繁衍的新品種的DNA，與做為對照組受endonuclease支解的原本蟾蜍 *Xenopus laevis* 核醣體DNA比較，探測其nucleotides的順序是否相同。如果一致，那麼導入動物基因于細菌細胞內，確能累代隨細菌分裂繁殖而遺傳。事實上，史坦利·N·柯罕的實驗證明了這一點。因此，開頭所提及的第三步驟：將此複合DNA分子導入一生活著的細菌細胞內；及第四步驟：最後從一大族群細胞中，挑選出此已接受複合DNA的菌落來；都圓滿地實現了。

當然囉！作為基因攜帶者的Plasmid，不限於pSC101；至少有兩種其它的Plasmid，接受E. coli的催化作用而僅支解在一定的旋轉性對稱軸點上，且不影响其複製功能。再者，大腸桿菌也不是惟一的材料，現更利用一種濾過性病毒 lambda 的突變品系作為更有效的材料。其次談到restriction endonuclease，使染色體具有各形各式的支解及重組。

寫到這裡，我們不禁想到：這種遺傳生物學上的研究，究竟帶給我們甚麼益處抑或未能預料的空前大災難呢？一位參議院委員會的秘書約瑟夫·卡力凡諾力主聯邦政府立法限制此項研究：他稱重新組合的DNA“是一種具有莫大潛力的科學工具”，並警告那可能的——雖然是未知的——災厄且結論道：在法律上沒有一個權威的控制辦法。麻省州長米契爾·杜卡契士則謂：「處理基因以創造新種使生物學家與當時物理學家剛分裂第一顆原子時一樣；我認為可以這麼說

：怪魔已走出了瓶子啦！」問題是：走出瓶子外的怪魔是好的呢？還是邪惡的呢？

贊成繼續探討DNA——生命的主角——的生物學家們覺得：它能幫助我們、引領我們踏上新領域——明瞭和可能治療癌症及一些遺傳上的疾病（例如：糖尿病和血友病）；價昂的疫苗；植物直接從大氣中吸收氮素，而不再由所施的肥料內攝取；大大地增進對植物、動物乃至於人類的遺傳學上的知識。反對繼續研究的科學家們則宣稱：這種探討所帶來的利益遠不及其所附的弊害；萬一重新組成的大腸桿菌逸出實驗室控制之外而進入人體腸子器官內，必會引起撲朔迷離的疾病。除了立即產生的危險外，反對者又說大量未知且離經叛道的副作用也會隨之而來。再者他們警告：不要干涉演化，因為「要變大自然是不應當的」，卡耳地克的生物學家羅拔·西歇摩總結道：「生物學家已經變成具有偉大且恐怖的力量怪物，雖然他們不希望成為如此！」退休的哥倫比亞生物學家爾金·恰卡夫也提出詰難：「難道我們有權利，也有必要來對抗數百萬年建立的演化過程以滿足那些少許科學家的野心及好奇心嗎？」

雖然反對者的聲浪如此高昂，堅持者仍然不歇止地進行研究。勃萊·戴維斯，一位哈佛大學醫學院的微生物學家保證研究所施行的新技術完全無所可虞，他就會當眾喝下一瓶重新組合的DNA以證明其安全性。他強調那些憂慮傳染的人們，全然忽視長久以來醫學研究有關具高度傳染性的細菌及濾過性病毒而不發生危險的事實。此外，他也強調一般大眾不了解。要使微生物變成具病原性，是一件多困難的工作。比較保守的化學家約翰·亞伯耳森曾于1977年4月份的科學雜誌中撰文指出：關於重新組合的DNA分子研究，經過五年而無一個

感染的病例；顯示了要造成一具病原性的基因是多麼困難啊！至少亞伯耳森認為像1950年代的電影所預料的某種品系的新物種，從實驗室蔓延到城鎮的恐怖情形，似乎不太可能發生。

不過，從事遺傳研究的科學家們，還是不敢掉以輕心：於1975年2月在近加尼福利亞洲太平洋岸的亞西羅瑪會議中心，召開會議；計有八十位美國生物學家，五十三位來自其他十六國的分子生物專家，一些法律學者、聯邦政府供給此項研究的基金會代表以及十八位深感興趣的新聞廣播記者。會中縱使意見紛陳，但至少完成了三項定論：第一：愈來愈進步的方法，促使研究項目的推陳出新，也造成了對科學、道德、食物、能源諸方面產生種種難題；第二：某些奇異的生物雜種的意外散佈，會造成莫大的隱憂；第三：即使用最保險的容器，一些實驗目前仍然具有太大的危險性而不能施行。

根據上述的三項原則，分子生物學家們擬定了一些類似我們所俗稱的「行規」來範疇他們的研究目標；事實上，有一位基因遺傳專家羅伊·柯蒂斯三世更空前地限制大腸桿菌的生存，使其一離開工作人員的培養基即無法活命。當然談起這項成果，必然又是一篇長文；因此，編者只好簡單地說：與colanic acid及thymine的供給與否有關。這種大腸桿菌，柯蒂斯三世為了紀念美國開國兩百週年國慶，特別定名為E. coli x1776。毫無疑問地，E. coli x1776使對重新組合的DNA分子研究，提供了更形安全，更為璀璨的前程；讓我們拭目以待吧！