DOI:10.16262/j.cnki.1000-8217.2009.03.003

·科学论坛·

新方法新技术推动科技跨越发展的启示
——以Sanger、Mullis的基因技术推动人类基因组计划为例

周 锋[1] 蔡 晖[1] 钱万强[2] 周 辉[1]

(1 北京大学科学研究部，北京 100871；2 科技部基础研究管理中心，北京 100862)

[摘 要] 人类基因组计划的意义在于人类从分子水平认识自我，是治疗重大遗传或恶性疾病的基础性工作。诺贝尔化学奖获得者F. Sanger的DNA测序法(1980年)和K. B. Mullis的PCR技术(1993年)是人类基因组计划实施的基础。Sanger关于基因测序的文章被引用6.3万余次，Mullis的PCR文章被引用1.4万余次，足见其广泛的影响。纵观科学历史进程，技术方法类的突破能促进科技的跨越发展。中国应选择重大战略性领域，大力争取和培养人才，给予充足财力支持，坚持探索新技术和新方法，推动科技跨越发展。

[关键词] 新技术新方法，科技创新，人类基因组计划

1 人类基因组计划及其意义

随着人类探索生命本质的活动不断深入，对人类基因组的研究付诸实施。到20世纪80年代，人类基因组研究在许多国家已形成一定规模。美国能源部(DOE)、美国国立卫生研究院(NIH)等的一系列活动，为人类基因组计划这一庞大的科学研究计划的提出提供了学术和组织方面的准备。1984年，美国能源部委托犹他大学Witt教授主持讨论人类整个基因组的DNA序列的意义与可能性。同年5月，美国能源部提出“人类基因组计划”(Human genome project，以下简称HGP)草案；1986年，诺贝尔奖获得者(1975年)R. Dulbecco在*Science*上发表了《肿瘤研究的转折点：人类基因组测序》[1]，引起了全世界对于人类基因组测序的高度关注；1986年3月美国能源部宣布将推动实施“人类基因组计划”。

HGP由美国政府于1990年10月正式启动，以后又有德国、日本、英国、法国和中国等国家正式加入。此项计划的目标是通过以美国为主的全球性国际合作，获得人类全面认识自我的最重要的生物学信息。此外，丹麦、日本、韩国、俄罗斯和澳大利亚等国家也参与了这项计划。

2000年，整个人类基因组测序工作基本完成。此项工作对于生命本质、人类进化、生物遗传、个体差异、发病机制、疾病防治、新药开发、健康长寿等重要领域，乃至于对整个生物学的发展都具有深远影响和重大意义，标志着人类生命科学基因组时代的来临。

2 基因测序技术方法的创新对人类基因组计划的推动作用

在HGP的组织和实施过程中，有两项技术起着非常重要的作用：F. Sanger的DNA测序法和K. B. Mullis的PCR技术。

1977年，Sanger和他的同事们发明了一种快速测定DNA序列的方法(文章“DNA sequencing with chain-terminating inhibitors.”)[2]。1980年，Sanger因为该发明获诺贝尔化学奖。1985年，Mullis和他的同事首创聚合酶链式反应技术(PCR)，但当时技术尚不完善，成本也比较高；1988年，Mullis等关于PCR技术的文章“Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase.”[3]对PCR技术进行了改进，使之成为一个较为稳定的技术。随后PCR技术在生物科研和临床应用中得以广泛应用，成为分子生物学研究的重要技术。1993年，Mullis因PCR技术获得诺贝尔

本文于2009年2月9日收到.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

化学奖。

一般地，文章的引用情况从一个侧面能反映相应学科的活跃程度。通过分析 Sanger 和 Mullis 这两篇文章发表后的被引用情况，并将其与 HGP 的进程进行对比（图 1），发现二者具有密切的相关性：

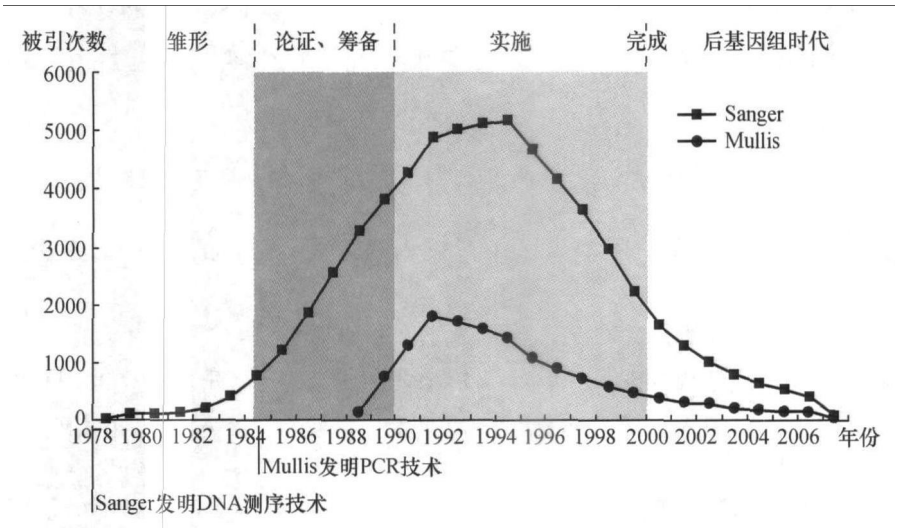

图 1 文章被引谱线与人类基因组计划进程对比

（1）增长期（1984—1990）：1985 年美国能源部在加州会议上提出了 HGP 的初步草案，正是这一年 Sanger 的文章开始被大量引用。1988 年 Mullis 关于 PCR 技术的文章正式发表，被引用次数直线增长。

（2）高峰期（1991—1994）：1990 年美国宣布正式启动 HGP，1991 年日本宣布实施水稻基因组测序计划。1991—1994 年两篇文章的引用次数达到高峰值，并同时处于平台期。

（3）下降期（1995— ）：1995 年以后两篇文章的被引次数开始回落。一般地，这两种技术成为大家广泛熟知并普遍应用的技术后，就不再作为参考文献专门列出。

这两篇文章的被引情况和 HGP 的筹备、开始和完成的进程同步，从一定程度上可以作为 HGP 科学活动的测度。Sanger 文章的引用次数能够达到惊人的 63 000 余次，而 Mullis 的文章在不到二十年的时间里引用次数达到 14 000 余次（相关的三篇文章合计超过 23 000 次），与他们开创的技术在 HGP 中的功绩密不可分。

基因测序和 PCR 技术两篇文章的半衰期分别为 16 年和 6 年，这个时间也和 HGP 的实施时间相关。从图 1 中可以看出，Mullis 的文章被引次数没有像 Sanger 文章那样经过前期的缓慢增加过程，而是直线快速上升。这一方面是因为这项技术极具实用价值，一经发表即引起人们的极大关注；另一方面，HGP 在世界范围内的全面开展，也对文章被大量引用起了重要的作用。另外，Sanger 和 Mullis 都在文章发表后相对较短的时间内（分别为 3 年和 8 年）获得诺贝尔奖，也说明了技术方法的重大突破对于科技发展的贡献能够较快得到科学界的认可。

3 从两篇文章的被引情况看世界各国及各研究单位参与人类基因组计划的程度

3.1 国别分析

两篇文章被引次数的国家来源（图 2）：前 6 位分别为美国（45%）、日本（13%）、德国（8%）、英国（8%）、法国（7%）、加拿大（4%）。美国所占比例接近一半，6 个国家所占比例之和已经超过了引用总数的 86%。这一方面与 6 个国家在 HGP 中所做贡献相当：参加 HGP 的主要成员有美国、英国、法国、德国、日本和中国（日本同时还进行了水稻基因组计划）；另一方面也体现了 6 个国家在生命科学领域尤其是分子生物学领域处于领先地位。值得注意的是，我国的引用情况只占到了 0.59%（Sanger）和 0.74%（Mullis），还远未达到实际承担 HGP 1% 任务的水平，与我国科研竞争力排名第 20 位[4] 明显不符。这从一个角度说明我国科学家群体对新技术方法的应用意识不强。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

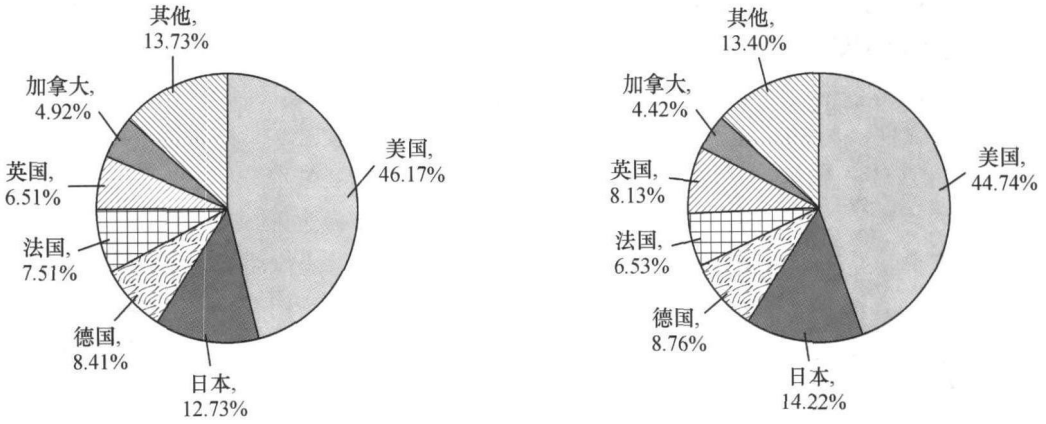

图 2　文章被引情况按国别的分析结果

3.2　科研机构分析

按照科研机构分类对这两篇文章被引情况进行分析(表 1)。从表中可以看出，在两篇文章引用次数排名前 10 位的科研机构中：美国大学体现绝对优势，有 7 所大学和 1 所研究机构；日本有 3 所大学；法国有 2 所研究机构；其他欧洲国家未见排名靠前的大学或研究机构。另外，两篇文章引用次数排名前 200 名的科研机构中未见中国的机构，只在前 300 名的机构中有 1 所，进入前 400 名的机构中有 2 所。由此可见，在全球基因组学研究领域最优秀的科研机构中，美国和日本占据绝对的优势地位，欧洲次之。中国与这些国家相比还有相当大的整体差距。

表 1　文章被引情况按科研机构的分析结果

Mullis 文章被引情况			Sanger 文章被引情况		
科研机构(国家)	引用次数	比例(%)	科研机构(国家)	引用次数	比例(%)
UNIV TEXAS(美国)	317	2.25	HARVARD UNIV(美国)	1597	2.53
HARVARD UNIV(美国)	287	2.03	UNIV TOKYO(日本)	1245	1.98
UNIV TOKYO(日本)	251	1.78	UNIV TEXAS(美国)	1076	1.71
UNIV CALIF SF(美国)	199	1.41	INST PASTEUR(法国)	925	1.47
WASHINGTON UNIV(美国)	196	1.39	NCI(美国)	803	1.27
UNIV WASHINGTON(美国)	175	1.24	CNRS(法国)	717	1.14
INST PASTEUR(法国)	171	1.21	UNIV WASHINGTON(美国)	710	1.13
STANFORD UNIV(美国)	143	1.01	WASHINGTON UNIV(美国)	701	1.11
JOHNS HOPKINS UNIV(美国)	141	1.00	KYOTO UNIV(日本)	699	1.11
OSAKA UNIV(日本)	137	0.97	UNIV CALIF SF(美国)	675	1.07

4　后基因组时代国际动向

在 HGP 里，世界各国分工协作，共同完成了目标。但仔细分析起来，各国在整个计划实施中所扮演的角色并不相同。

(1) 美国在主流科学方向占领制高点。2003 年 NIH 的路线图(Road Map)是当代健康科学研究的一个重要的具有指导意义的文件。它在三个主要领域确定了当前的重大机遇：探索新途径和新方法、打造未来的研究团队、重新设计临床研究。围绕 NIH 路线图的主题，美国各大相关研究机构相继制定了未来生命科学领域研究的重点并启动了一系列大科学研究计划。包括：以基因组学、蛋白质组学为代表的系统生物学；干细胞研究；癌症研究；解析蛋白质结构的结构生物学计划[5]。

(2) 日本将科技创新立为国策，1995 年明确提出“科学技术创新立国”战略，力图告别“模仿与改良时代”，由一个科技追赶型国家转变为科技领先的国家。在 HGP 实施期间，日本积极参与，极大地推动了本国科研机构和科研人员在生命科学领域科研竞争力的提升。日本政府于 2002 年提出了“生物产业立国”的口号，同年发布了《开创生物技术产业的基本方针》，还相继推出了“基因组网络研究”计划和“后基因组研究”计划——“蛋白质 3000”计划。

(3) 欧盟力图建成世界上最具竞争力的知识经济组织。各成员国认为，欧盟应该有统一的科学研究与技术开发政策，欧洲国家不仅要成为强大的经济板块，而且希望有统一的、自主的创新能力的科技板块，

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

来支持它的经济发展与安全。欧盟的很多成员国都参加了HGP,并且在该领域展现了各自科技强国的优势。2004年欧盟发表《科学与技术——欧洲未来发展的关键》的战略性文件。其中英国政府重要的资助与研究机构——英国研究理事会下属两大机构英国医学研究理事会和生物技术与生物科学研究理事会分别发表了《预见生物学发展——10年展望》和《未来展望》两份报告,就生物技术的未来发展方向进行阐述和展望。主要包括干细胞研究计划、后基因组学和蛋白质组学研究计划;脑科学(Brain scienc)、动物传染性疾病(Infectious diseases of animals)和电子信息技术在生命科学中的应用(e-science)。

(4) 中国的人类基因组研究起步较晚。1994年国家自然科学基金委员会和"863"高科技计划开始支持相关项目。大型的科研机构诸如中国南方基因中心、中国人类遗传资源保护中心、中国科学院北京人类基因组中心和北方人类基因组中心都是在1998—2000年才依次建立起来,各大学也在此之后陆续加入HGP。另外,我国只承担了百分之一的测序任务,在参与国家中承担的工作量最少。

5 讨论

5.1 创新思维是科学家取得科研突破的重要素质

Sanger是世界上少有的两次(1958年,1980年)获得诺贝尔奖的科学家之一。20世纪前期人们开始认识到蛋白质在生命活动中的重要作用,Sanger在1958年测定出胰岛素的氨基酸排列顺序,并因此首次荣获诺贝尔化学奖。随着1953年DNA双螺旋结构的解析,针对核酸的研究逐渐成为主流,Sanger也在50年代末将注意力转移到核酸结构的研究上。经过近20年的工作,发明了测定DNA核苷酸顺序的方法,因此再获诺贝尔奖。

Mullis兴趣广泛,思维活跃,这促成了他在工作之余突发奇想设计了PCR技术的原理。值得一提的是,1968年的诺贝尔医学奖得主H. G. Khorana早在1971年就甚至已经产生了PCR思想,但他只是在一篇文章的最后一段提了一下[6]。只有Mullis,不但能够捕捉思维热点,而且抓住思想火花坚持探索创新,最终促成PCR技术成熟[7]。

从分子生物学的发展进程看,这两项技术的出现存在必需性和必然性。即便不是Sanger和Mullis来完成这两项技术,以后也会有其他科学家完成。但无论是谁,创新的思维和意识都是取得科研突破的重要条件。

5.2 以我为主积极利用全球科技资源

当前人类面临的全球性问题日益突出,一些涉及全球、全人类问题的大的科研计划已经超越了单独一个国家的承受能力,必须全球科学家共同参与,协调管理。国际科技合作加快了科技资源在全球范围内的整合和有效配置,使得传统的科研组织结构和方式发生了重大变化。我们应当积极适应科技全球化趋势,有效利用全球科技研发资源,提升科技水平。

一方面,应当积极参与国际科技合作计划。科技全球化使各国之间技术能力和研发的相互依存关系日益加强,各国可利用的外部技术资源大大增加,尤其是发展中国家利用外部技术资源的空间进一步扩展。通过参与国际科技合作计划,有效利用全球科技资源为自主创新服务,增强自主创新的能力。另一方面:应当积极提出前沿科学计划,力争在国际合作计划中发挥主导作用。事实证明大多数发展中国家参与发达国家倡导的国际大型科技计划,往往处于配置科研的较低端,从事的多为低端的重复性劳动。例如在HGP中,我国只是承担了小部分测序任务。

我国科技发展水平已进入世界主要国家的中游水平,整体科技实力处于发展中国家的前列,部分领域接近或达到世界先进水平。以"自主创新,重点跨越,支撑发展,引领未来"为指导方针的《国家中长期技术发展规划纲要(2006—2020年)》确立了国家科技创新发展的道路和目标。在这个大力提倡创新的时代,我国的科研工作者要敢于提出志向高远的问题,瞄准科技前沿发展的方向,坚持探索新技术和新方法,推动我国实现科技跨越发展。

参考文献

[1] Dulbecco R. A turning point in cancer research: sequencing the human genome. Science, 1986,231: 1055—1056.

[2] Sanger F, Nicklen S, Coulson A R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. PANS, USA, 1977, 74(12): 5463—5467.

[3] Saiki R, Gelfand D H, Mullis K B et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science, 1988, 239(4839): 487—491.

[4] 武汉大学中国科学评价研究中心. 世界一流大学及学科竞争力评价的意义、理念与实践. http://rccse. whu. edu. cn/college/yylnysj. htm.

[5] 饶子和. 近期国外重要的生命科学研究计划和资助情况. 中国科学基金, 2006, 5: 272—277.

[6] Kleppe K, Ohtsuka E, Khorana H G et al. Studies on polynucleotides. 96. repair replication of short synthetic DNAs as catalyzed by DNA polymerases. Journal of Molecular Biology, 1971, 56(2):341—345.

[7] 吕祁峰, 夏家辉. 成功的创造需要什么——从Mullis的诺贝尔奖演讲谈起. 医学与哲学, 1997, 7:374—376.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

NEW TECHNIQUES AND METHODS PROMOTE THE LEAP-FORWARD DEVELOPMENT OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
—A Case Study of Genetic Engineering Technology Innovation Improving the Human Genome Project

Zhou Feng[1]　Cai Hui[1]　Qian Wanqiang[2]　Zhou Hui[1]
(1 *Office of Scientific Research*, *Peking University*, *Beijing* 100871;
2 *Basic Research Administrative Center*, *The Ministry of Science and Technology*, *Beijing* 100862)

Abstract The Human Genome Project (HGP) helps people's self-cognition in molecular level. Technology and resources promoted by HGP are starting to have profound impacts on biomedical research and promise to revolutionize the wider spectrum of biological research and clinical medicine. The DNA sequencing method invented by Frederick Sanger and Polymerase Chain Reaction (PCR) invented by K. B. Mullis are two basic methods applied in HGP. The related papers were widely cited around the world. In the long history of science and technology, most innovations of technology promote the leap-forward development of science. China should foster higher-level applicative talents and provide financial support in strongpoint of research field to promote the original innovations.

Key words new technique and method, the innovation of science and technology, the Human Genome Project (HGP)

·资料·信息·

我国学者揭示心肌梗死后自主神经重构现象

哈尔滨医科大学附属第一临床医院科研人员最新研究发现，心肌梗死后，其心肌内神经生长因子与睫状肌生长因子的表达具有动态过程，并与交感神经的再生、过度支配和迷走神经的失支配直接相关。这一研究成果日前获黑龙江省医药卫生科技进步奖一等奖。

心脏性猝死是一种严重威胁人类生命和健康的疾病。根据北京市的流行病学资料，本病男性平均发病率为 10.5/10 万，女性为 3.6/10 万。在对室速和室颤发生机理的研究中，心肌梗死后局部自主神经重构在心律失常中的作用越发引起专家学者们的重视。近年来，人们发现，心房颤动及快速心房起搏能引起心房电生理功能的改变，促使心房颤动的发生和维持，这种现象被称之为"心房电重构"。

哈医大教授曲秀芬带领的科研小组在国家自然科学基金"神经重构及其干预对心梗后心律失常的发生及其预后的影响"项目的支持下，综合应用电生理、免疫组化技术和超声造影、多普勒超声及半定量 RT-PCR 等方法，深入探讨了心肌梗死后心脏局部的自主神经重构现象，了解神经重构对局部心室运动功能的影响。结果显示，左心室心肌梗死发生后，其梗死区周围、室间隔和右室中出现神经重构现象，表现为交感神经的过度支配和迷走神经的失支配。交感神经的过度支配具有动态演进过程，其过程受心肌中神经生长因子蛋白表达的调节。而迷走神经的失支配与睫状肌营养因子表达的降低密切相关。动物实验结果证实，β 受体阻滞剂能改善心肌梗死的交感神经过度支配与迷走神经失支配。研究还发现，自主神经重构现象并非仅限于心肌梗死，在慢性房颤的动物模型和房颤病人的心房肌肉中均发现神经的大量萌出，分布紊乱的同时伴有交感神经的过度支配。基于这一现象，他们对动物模型房颤犬心房中肽能神经支配的重构作了初步研究，揭示了神经肽 Y 能神经过度支配和血管活性肠肽神经失支配的规律。

专家评价指出，这项研究从自主神经重构角度揭示了心肌梗死后恶性心律失常的发病机制，为临床应用阻断交感神经支配的药物及介入治疗提供了理论依据。

（衣晓峰 好诚 供稿）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net