

源源不断的胰岛

——转基因技术的奇迹

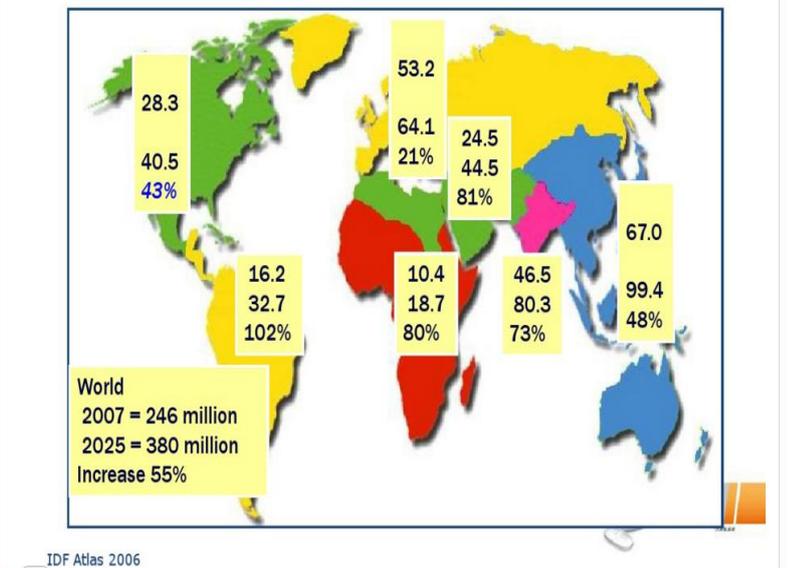
制作人：改变生活的生物技术周二 11,12 节 核科学系张誉戈 16300200038

专题：生物技术在病中的应用

1. 世界呼呼胰岛素

胰岛素是由胰脏内的胰岛β细胞受内源性或外源性物质如葡萄糖、乳糖、核糖、精氨酸、胰高血糖素等的刺激而分泌的一种蛋白质激素。胰岛素是机体内唯一降低血糖的激素，同时促进糖原、脂肪、蛋白质合成。**外源性胰岛素主要用来糖尿病治疗。**

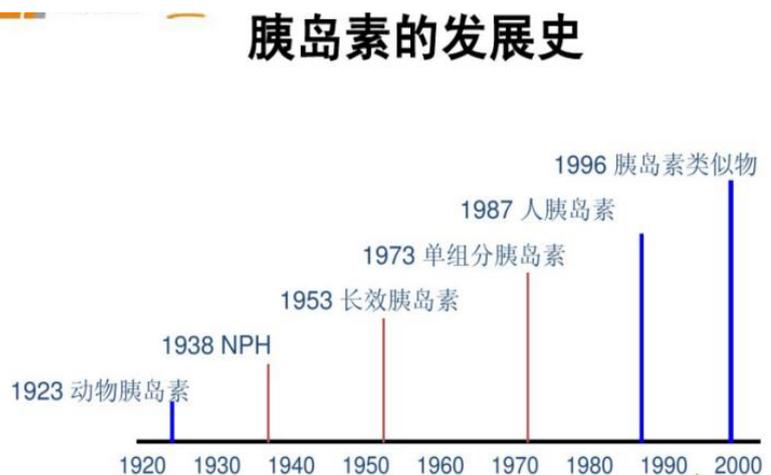
糖尿病流行的全球趋势：
2007-2025 (百万)



在胰岛素发现以前，糖尿病是一种**绝症**：生长发育停顿，在一次次酮症酸中毒中死亡。

随着糖尿病患者人数的增加，人类对胰岛素的需求越来越大。

2. 胰岛素的早期生产：



问题多多！

1. 数量不足，无法满足临床应用
2. 作用时间短，需要频繁注射
3. 酸性溶液，导致注射疼痛
4. 制剂不纯形成囊肿和免疫反应

3. 基因工程来了！

1. 提取目的基因

既从人的 DNA 中提取胰岛素基因,可使用限制性内切酶将目的基因从原 DNA 中分离。

- 1.鸟枪法：用一大堆限制性核酸内切酶对附近基因进行剪切，再提取所需要的。至于如何筛选，用 DNA 分子杂交，即 DNA 探针
- 2.人工合成法：根据转录蛋白或者 mRNA 推导出基因序列，然后人工合成，没有内含子
- 3.从基因文库中提取：也就是事先已经提取完毕的拿来用
- 4.PCR 扩增技术：用于大量生产该段基因片段，用于商业化运作



2.提取质粒

从大肠杆菌的细胞质中提取质粒,质粒为环状。

此质粒将作为胰岛素基因的载体。

1.碱裂解法 :此方法适用于少量质粒 DNA 的提取 ,提取的质粒 DNA 可直接用于酶切、PCR 扩增、银染序列分析。

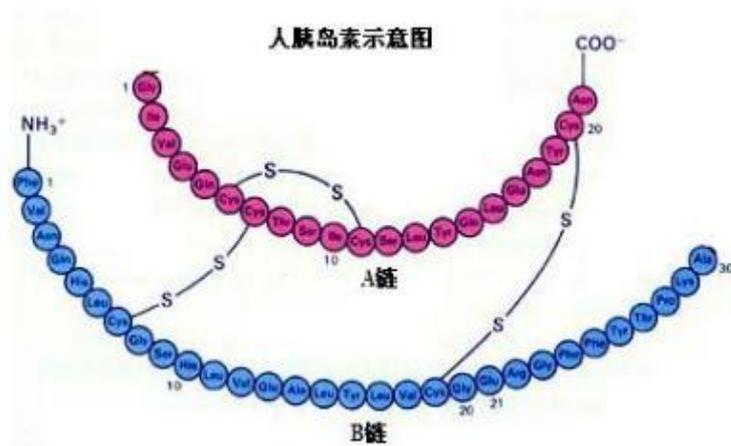
2.煮沸法

3.基因重组

取出目的基因与质粒,先利用同种限制性内切酶将质粒切开,再使用 DNA 连接酶将目的基因与质粒“缝合”,形成一个能表达出胰岛素的 DNA 质粒。

4. 将质粒送回大肠杆菌

在大肠杆菌的培养液中加入含有 Ca^+ 的物质,如 CaCl_2 ,这使细胞吸收外源基因.此时将重组的质粒也放入培养液中,大肠杆菌便会将重组质粒吸收.将大肠杆菌用氯化钙处理,以增大大肠杆菌细胞壁的通透性,使含有目的基因的重组质粒能够进入受体细胞,此时的细胞处于感受态(理化方法诱导细胞,使其处于最适摄取和容纳外来 DNA 的生理状态)。



5. 胰岛素的产生

在大肠杆菌内,质粒通过表达转录与翻译后,便产生出胰岛素蛋白质.通过大肠杆菌的大量繁衍,便可大量生产出胰岛素! 注意:大肠杆菌产出的是多肽链,因为原核生物没有内质网、高尔基体等,不能进行多肽的折叠、修饰等,还需人为进行菌体外加工。