

《关于禁止发展、生产和储存细菌(生物)
及毒素武器和销毁此种武器的公约》
缔约国第六次审查会议

BWC/CONF.VI/INF.4
28 September 2006

CHINESE
Original: ENGLISH

2006 年 11 月 20 日至 12 月 28 日，日内瓦

临时议程项目 10

按照第十二条的规定审查《公约》的实施情况

介绍与《公约》相关的新的科学和
技术发展的背景资料文件

秘书处编写

导 言

1. 第六次审查会议筹备委员会在其报告(BWC/CONF.VI/PC/2)第 22 段中决定请秘书处编写一份介绍与《公约》相关的新的科学和技术发展的背景资料文件，该文件应根据缔约国提交的资料和有关国际组织提供的资料加以汇编。秘书处现在按照这一要求编写了本文件。

2. 第二次、第三次和第四次审查会议¹“意识到微生物学、遗传工程和生物技术等领域有关科学和技术发展引起的担忧，以及将其用于违背公约目标和规定的用途的可能性，重申各缔约国在第一条内所作的承诺适用于所有此类发展。”除以上所列领域的科学和技术发展外，第四次审查会议还增列了“分子生物学。……以及基因组研究成果的任何应用”。

3. 本文件论述了自第五次审查会议以来这些领域出现的重大进展以及新出现的各个学科，其中包括：生物技术；基因组学；蛋白质组学；生物信息学和计算生物学；系统生物学；药物的发现、设计和释放；合成生物学和生物工程；以及若干相关的其他发展。本文件还附有值得关注的实验概览(附件一)和经常被指出与《公约》特别相关的实际实验概述(附件二)。

¹ BWC/CONF.II/13、BWC/CONF.III/23、BWC/CONF.IV/9。

4. 下列缔约国为本文件的编写向秘书处提供了资料：澳大利亚、捷克共和国、荷兰、葡萄牙、瑞典、联合王国和美利坚合众国。这些缔约国提供的资料的全文以及后来提交的任何来不及纳入本文件的资料全文可上网查阅：<http://www.unog.ch/bwc>，“第六次审查会议”一节内。本文件的编写还参考了一些政府间组织、国际组织和专业科学组织提供的文件。

5. 在判定哪些发展也许同《公约》相关时，本文件采取的是包容的方针。尽管本文件论述的进展显然可应用于预防、保护或其他和平目的，这些进展也有可能被用来违反《公约》的目标和规定。将一项进展纳入本文件，不表示秘书处对其是否为《公约》所允许作出任何评断。

生物技术

6. 生物技术为公共卫生、农业和经济带来了好处，又反过来促进了生命科学，推动了发展。生物技术的商业应用很广，对生物技术的依赖程度在这几年有了很大提高。发展中国家也越来越受益于生物技术。2005年3月在奥地利举办的联合国工业发展组织全球伙伴研讨会上发表的一篇论文指出，1991年至2002年期间，一些发展中国家在卫生生物技术的发展方面发表的论文数量和申请到的专利数量都大为增加。²

7. 小的生物技术公司，尤其是与学术机构有挂靠关系的小公司，其人员流动率很高，这加快了新进展在各机构之间的传播速度。这些公司往往只依赖少数几样可能的产品。如果研制成功，这些公司(及其知识产权)通常会被较大的公司买下。如果不成功，通常即停业。这种流动性高的就业环境有利于知识(无形生物技术)的传播。

8. 有明确的迹象显示，有形和无形的生物技术确实正在传播。一次性生物反应器就是一种有助于传播的手段。它们是自给式生产装置，配套齐全，随时可使用。其大小从1到500公升不等，使用后可丢弃，无需清洗、消毒和核证。

² “发展中国家在卫生生物技术领域的创新”，工发组织全球伙伴研讨会，2005年3月3日至4日，奥地利维也纳。详见：http://www.unido.org/file-storage/download/?file_id=35240。

生物勘探

9. 生物勘探是指寻找那些可能成为药物、农业和工业原料来源的存在于大自然但先前未被发现可作为原料来源的生物多样性。生物勘探工作所收集的材料可包括基因序列、蛋白质、复杂的生物化合物或整个生物体。生物勘探工作还可发现许多新物种，特别是不同的微生物。近几年来，通过生物勘探，还产生了也许可用作新的抗生素、抗病毒化合物、抗癌剂、抗氧化剂、抗糖尿病剂、免疫抑制化合物、杀昆虫剂的材料，以及高低温度稳定性、高低氢离子指数(pH)耐受性和高低盐耐受性的遗传密码序列。此外，还调查了有哪些微生物剂将来有可能用作病原体。对于原先不为人知的病原体或与已知病原体有关的微生物，调查了是否存在媒介和天然贮主。这使风险管理方案得到了改进，为将来的疾病突发提供一定程度的预警，并增进了对微生物多样性及推论出来的微生物功能的了解。

10. 若干进展为生物勘探的发展提供了基础。如果没有在微生物培养、血清学观测、提纯技术、遗传物质扩增能力、基因组技术及药物的发现、设计和释放等方面取得了进展，是不可能发展出目前的生物勘探的。

高通量筛选

11. 自第五次审查会议以来，在生物活性化合物特定性质的重复性实验室分析工作的自动化和微型化方面，取得了很大进展。这些进展投入应用后，大大提高了样品处理效率和速度。采用高通量筛选技术，可以针对特定活性筛选大量的化合物(文库——见组合生物化学)，诸如搜寻可与特定受体结合的化合物或可使特定的酶失去活性的化合物。采用这种技术，还可测试单一化合物是否具有种种可能的活性。已研制出具有此一能力的 DNA 芯片(寡核微阵列)，通常用于基础和应用研究，以监测基因表达程度，从而确定基因的功能、评估基因变异范围和阐明治疗用药的新靶点。因此，这种技术对其他许多科技领域的工作极有帮助。

12. 高通量技术的进展要归功于许多不同领域的一些发展，包括筛选形式微型化、液体处理、信号检测、机器人技术、生物信息学和生物鉴定等领域。由于有了这些进展，用户每天可以针对特定活性筛选 100,000 多种化合物。因此，一个研究

项目现在经常能筛选超过 100 万种的化合物，如果以人工方式进行筛选，将需要数以百万计的实验室人工时。

生物微处理

13. 微型化和自动化方面的进展也被用来生产能进行整个生物学试验的功能分立器件，而过去需要一个实验室来进行这种试验。它们被称为“芯片上的实验室”。微流体和微加工技术的进展被用来生产出从显微镜切片大小到光盘大小不等的器件。现在已不再有必要进行宏观尺度的工作了，例如在放置了各种烧瓶的实验室工作台上工作。使用微微公升(10^{-12} 公升)的原始样品和同样小量的试剂即可重复同样的工序。这些器件一般只用来进行一种特定的活动，诸如 DNA 分析、免疫测定、细胞分析或酶活性测量。它们可以完全自动化，为完成规定活动而进行许多步骤，诸如分离样品、稀释样品、添加试剂、混合和检测反应。

14. 高级的“芯片上的实验室”可以是充分整合的器件，能够从事所有阶段的工作，从置入样品一直到判读结果。它们更通常与标准的实验室设备(诸如外部探测器)连接。由于进行试验不再需要那么多的专门设备和培训，可以研制出能够在新环境中使用的器件。这种器件在流行病学应用方面有很大的潜力，可用来检测和诊断流行病、为流行病定性和采取应对措施(见检测技术)。

基因组学

15. 如果基因是 DNA 的具有某种功用的亚单位，携带某种物质(例如蛋白质)的密码，那么基因组就是生物体内全部基因的集合。技术进步大大加快了对基因进行鉴定、定性和操纵的速度。与《公约》相关的许多科技发展就是立足于基因测序方面的进展的。由于目前已经产生了大量的基因信息，现在可以分析基因组而不仅仅是分析个别基因了。在确保可以公开获得基因组信息方面所作的一致努力，有助于基因组学(研究基因组的学问)取得进展。

DNA 测序

16. 测序就是测定构成遗传信息的核苷酸排列顺序。换言之，它是将物质转化为抽象的信息。基因测序并非新技术。一段时间以来，有经验的科学家已经在从事测序了。在第五次审查会议召开之前，自动化程度和效率有了很大提高，从而能够对整个基因组进行测序：最早是真核生物基因组(一种酵母菌)，1997 年；第一个动物基因组，1998；和人类基因组，2001 年。人类基因组测序的进展可以说明自动化程度不断提高的趋势所产生的影响。“人类基因组计划”(国际合作测序计划)本来打算使用相当多的高度专业性设施和经验丰富的科学家在 15 年内完成这项工作。随着技术的进步，有关的工作人员费用成为限制性因素。由于不断的自动化和微型化，硕士生替代了博士后研究员，本科生随后替代了硕士生，而没受过什么高等教育的技术员又替代了本科生。由于测序技术的进步，一个商业部门的竞争者尽管晚了将近 10 年才着手进行这项工作，却能够与国际合作测序计划同时发表人类基因组草图。

17. 自上次审查会议以来，DNA 测序技术继续在发展，提高了对先前不为人知的生物体进行鉴定和定性的能力。过去这四年来，效率和自动化程度一直在提高。有关费用每 12 至 18 个月就会减半。利用当前的一些进展，诸如毛细管测序机和 DNA 芯片，能够同时对大量菌株(包括病原体)进行测序，以研究同一物种内部的顺序差异。目前正在研制能够读出单拷贝顺序的机器。这可以大大减少测序错误(与目前的多拷贝扩增做法相比)，能够更准确地读出个别细胞的基因组，并促进功能基因组学和蛋白质组学的发展。

DNA 合成

18. DNA 合成是与 DNA 测序相反的过程。它是将序列数据转化回物质。生成与某一信息序列相对应的 DNA 物质，也并非新技术。但是，生成过程的效率和自动化程度有了很大提高。1970 年代，能够以人工方式生成 DNA 序列。1980 年代，发展出先进的方法，能够非常容易地合成出短串 DNA。1990 年代，自动化机器开始出现，技术员能够一手将原始序列数据输入，另一手则接收短的 DNA 片段。由于技术的进步，产生的 DNA 链长可达大约 40,000 个碱基对，缩短了生产时间，减

小了所合成的 DNA 链中的误差,而且能够将 DNA 链组合在一起,形成整个基因组。2002 年和 2003 年进行的实验表明,能够从无到有地合成出病毒的整个基因组,而这些病毒的功能与天然病毒完全一样(例如参看附件二所列的脊髓灰质炎病毒实验)。

19. 目前,半自动的 DNA 合成机可生产长串的 DNA 序列,误差率小至 10,000 个碱基对中有一个错误。老式的合成机已在互联网的拍卖网站上出售,单价在 5000 美元至 10,000 美元间。使用很容易获得的部件,按照互联网上可查到的规程,能够从无到有地制造出简单的 DNA 测序机,费用约为 10,000 美元。就 DNA 合成而言,目前的限制性因素是生产 DNA 链的费用和时间。最近对费用/时间趋势进行的统计分析表明,这两个因素每 12 至 18 个月就会减半。现在, DNA 片段的生产费用约为每个碱基对 0.10 美元。例如,如果要生产出天花病毒的整个结构(分成许多区段来生产),费用约为 18,600 美元。这方面的进步,部分得益于技术的商业化。全世界都有基因测序公司,可以上网向其购买 DNA 片段,以快递方式交货。第二次审查会议之时需要一间专用实验室以人工方式化许多人工年完成的生产工作,现在几乎可以立即完成,而且费用不高。

DNA 沉默

20. 植物、真菌和动物(包括人类)对某类病毒都具有一种古老的防御机制。某类病毒遗传信息(称为 dsRNA)一旦在细胞中出现,就会启动一种机制(称为 RNA 干扰,或 RNAi),对阅读遗传物质并将遗传信息转化为物质的过程进行干扰,从而中断 dsRNA 的复制。这个过程是 2001 年才被阐明的,研究人员很快就认识到,它可以被当作一种实验室工具来使用。如果合成出与特定 DNA 序列相对应的 dsRNA,就可以启动防御机制,中断基因序列转化为物质的过程。换言之,可以有选择地关闭特定序列复制活动。这种能力正越来越重要,因为 DNA 测序的发展使得功能不明的基因序列信息的数量大为增加。若能随意地关闭特定的序列或基因,科学家就可以观察该序列或基因的不存在会对生物系统造成何种影响,从而确定其功能。可以举例来说明这个工具的功用:到 2003 年 5 月,研究人员使用这个工具确定了某种蠕虫的 1722 个基因的功能,其中有许多功能是过去所不知道的。目前正在实施一个项目,要利用这种技术来确定人类基因组中每个基因的功能。

21. DNA 沉默还可用于治疗。某些基因也许与某种疾病有关联。使用 DNA 沉默技术，可以关闭这些基因，从而减轻症状、防止疾病恶化或治愈疾病。目前正在研究如何使用 DNA 沉默技术来防治艾滋病毒、肝炎和癌症。2004 年的一个实验还使用这种技术降低了小鼠的胆固醇。临床应用仍然是一个问题。最近的研究结果显示，科学家在克服这一障碍上有了很大进展。一个办法是使用病毒来启动 DNA。

DNA 重排(或改组)

22. 若要生成某些特性得到强化的序列，传统的遗传工程方法主要是从一个地方切下一段 DNA 序列，然后插入另一个地方。这是一种方向确定的工作：将两个分开的序列的特性组合起来，产生出第三个序列，而其特性比前两个序列中的任一序列的特性都更为有效。这个过程称为“定向进化”。要使用这种遗传工程方法，必须逐一产生每个新的序列，以人工方式予以组合，然后进行筛选，以确定何种组合具有理想的特性。这个过程要重复若干次，使用一代又一代的子序列，以优化这个过程。与此不同的是，DNA 重排(或改组)是使用同一序列的各种有关版本的文库(诸如有关物种的基因)，将它们断开，然后重组，从而产生基本序列的新版本。这个方法实际上可同时对多个物种进行配对。具有特定功能的子序列的产生率要高于老的方法。DNA 重排技术提高了产生各种各样的基因序列的效率。

23. 2002 年，DNA 重排技术被用来组合了四种微生物的基因序列，所产生的新序列的活性比最优的母序列高于 270 至 540 倍。DNA 重排的结果还表明，母序列的最佳组合不一定是把与子序列最为相近的母序列组合在一起。(与人们的直觉相反的是，如果希望子序列有一个良好的 A 部分和一个良好的 B 部分，则一开始就把一个有良好 A 部分的母序列与另一个有良好 B 部分的母序列组合在一起，并不一定是最佳的。)这一点，使得采用“定向进化”的方法进行重排变得很复杂。即使能够用老方法得到最优化的序列，DNA 重排技术产生同一结果的时间也要快得多。

24. DNA 重排技术已经进步到能够重排整个基因组的地步。使用有关的细菌进行的这种实验已经完成。一次重排的结果相当于进行 20 代的定向进化。也有人进行了改进人分子的工作。2003 年，研究人员成功地生成了人细胞活素(与信号和免疫系统相关的一组分子)，其活性是天然人细胞活素的 10 倍。这些技术还被用来

改进基因疗法中使用的病毒。DNA 重排技术的限制性因素仍然是筛选和分离出具有最理想强化特性的子序列的能力。高通量筛选方面的进展正慢慢地克服这些弱点。

基因组医学

25. 在了解基因组方面取得的进展表明,基因序列对于疾病的发生有重要的作用,包括对病原体和对被感染者而言。病原体的基因组提供了关于其感染性、毒性及其他疾病决定因素的信息。这有助于发展出新的检测技术、诊断机制、预防手段的疗法。被感染者的基因序列使其容易患上某种疾病,也可解释为什么某些疗法对特定的人不大有效以及为什么某些病人有异常或极严重的副作用。这样就有可能发展出与病人的特定基因组成相适应的预防手段或疗法。目前正在开展所需的研究工作。基因组医学要做到有效,必须先对人类基因多样性进行编目。“HapMap”项目正在从事这项工作³。这项国际努力所产生的信息可公开自由查阅。基因组医学的发展已经表明,某些药物在某些地理区域更为有效,可能具有种族或地域特异性。

26. 除非基因组测序的费用和时间大幅减少,否则基因组医学将难以充分发挥其效用。根据种族或地域共性来观测,也许能在较短期间内得到一些益处。这样,就可以针对亚人口进行药物的优化。基因组医学已经被发现可具体应用于疾病的检测、诊断、预防和治疗。

蛋白质组学

27. 如果基因组学是研究生物体中的所有基因,那么蛋白质组学就是研究所有基因编码蛋白质。它包括研究其结构和功能以及相互之间如何作用以调节生物系统。蛋白质组学与功能基因组学相关,后者研究基因特别是蛋白质的编码基因的功能。蛋白质构成了大多数生物功能的基础。它们与疾病密切相关——要么引起疾病(例如,炭疽毒素由三个蛋白质构成),要么是宿主中的目标(炭疽毒素在人细胞上的结合受体同样是一个蛋白质)。还有人推测,某些蛋白质可作为具有感染能力的自复

³ 见 www.hapmap.org。

制病原体，一般称为“朊粒”(感染性蛋白粒子)。朊粒被认为引起了动物和人的种种神经退行性病变。

28. 蛋白质组学一个发展迅速的领域是比较研究。可以标记和检测不同生长条件、菌株或物种的蛋白质。这种方法可以鉴定出哪些蛋白质同毒性、与宿主或环境发生作用和耐抗生素性相关。蛋白质组学提供的信息还可用来改进探测系统、诊断、疫苗和疗法。通过这方面的研究，已经找到了新的药物和疫苗靶点，包括对付疟原虫的药物和疫苗靶点。蛋白质组学还有助于了解致病性、研究宿主与病原体之间的作用(包括体液免疫反应)和评估抗微生物药的作用机制。

29. 传统上，蛋白质组学使用凝胶电泳和质谱联用技术。这两个领域及包括核苷酸测序、复杂混合物分析、芯片技术和算法在内的其他一些领域的进展加强了蛋白质组学的研究能力。已经可利用新的手段来研究蛋白质的功能和作用了，特别是高亲和性结合试剂。在从复杂的环境中分离出小分子方面，也取得了很大进展，连极少量的小分子也可以分离出来。危险生物蛋白质处理技术也有所改进。现在可以化学合成出有关的基因并使用宿主细胞进行表达和纯化，而无需使用生物体本身，从而可降低相关工作所需要的安全保障级别。在使用非凝胶技术产生、分离和分析蛋白质混合物方面也有进展，尽管其中一些蛋白质混合物先前难以表达。现在，蛋白质上的标记可以很小，产生后无需除去，而且可以直接从原料回收分泌的蛋白质，无需进行离心分离。

高亲和性结合试剂

30. 由于最近的一些进展，现在能够抑制或调节特定蛋白质靶点的表达。目前使用的是两类高亲和性结合试剂：aptamer (“短核酸”或“核酸配体”)和 tadpole (“蝌蚪状物质”)。前者是短的单链核酸或肽配体，用于靶点确认和检测试剂以及作为蛋白质组学的一种功能手段。也正在探讨用于治疗的可能性。此外，还在动物中试验过能否用来抑制血栓的形成和治疗与年龄相关的眼睛退行性变化。蝌蚪状物质的头部是蛋白质，尾部是 **DNA** (寡核苷酸)。它们能够与特定靶点(诸如炭疽毒素的三个蛋白质中的一个)结合，而且容易量化(由于其尾部是 **DNA**)，因而可用于疾病诊断、监测和环境检测(见检测技术)。

生物信息学和计算生物学

31. 基因组学和蛋白质组学的发展产生了大量的信息。例如，2005 年 8 月，三个最大的基因序列数据库存储了 165,000 种生物的 1,000 亿条序列数据。其中的 Genbank 数据库的存储量每 18 个月翻一番。知识的增加与想法和信息的公开交流相互促进，加速了医学、工业和农业的发展。

32. 数据量之大以及生物作用之复杂，意味着已不再能够以人工方式来加以处理。计算机的费用越来越低，计算能力越来越高，而且为分析和数据管理建立了特定的一些平台，这些都有助于信息的处理。将分析大量数据的技术应用于这个领域，被称为“生物信息学”。生物信息学正在创造新的科研和商业可能性。如果能够把生物信息学与高通量筛选技术结合起来，就有可能减少进行研究的时间以及将科学发现转化为现实商业产品的时间。

33. 计算生物学比数据分析更进一步，探讨的是计算与生物学之间更广泛的界面。已经知道有四个主要的交界点。首先，生物学家可以利用一些计算手段(软件或硬件)来获取、存储、管理、查询和分析生物数据，以解决非常具体和明确界定的问题。其次，可以利用一些计算模型来测试想法、作出定量预测和帮助解释实验数据。第三，计算原理或抽象化过程可以提供容易被理解的理论，用来说明所研究的生物学作用。第四，科学家越来越依靠：高端的总计算中心；管理良好、易于访问的数据库；数字图书馆；高速网络；和数据获取技术，例如基因组测序机。

34. 可获得的信息有各种各样的类型和格式，包括：序列；曲线图；几何信息；标量场和向量场；组织型态；约束条件；图象；和文字叙述。生物信息学和计算生物学的进展为处理这些信息提供了手段，包括：

- (一) 加大了在低费用平台上存储和分析大量信息的能力；
- (二) 提高了数据分发和通信技术的效率，从而能够共用和管理地域分布很广的大型复杂数据源；
- (三) 有各种以互联网为基础的手段，能够在全世界范围内容易地查看生物信息；
- (四) 有统一的数据格式，能够将多个数据流综合在一起；
- (五) 加强了搜索方法，能够搜索存储在不同地点的各种不同类型的信息。

系统生物学

35. 系统生物学被认为将生理学带入了前所未有的复杂程度。它不只是研究可见尺度的生物体作用机制，而且还深入到分子尺度。它的基本前提是，可观测到的生物行为是由动态地相互作用的一组复杂的分子活动所造成的。这种相互作用使生物系统又增加了一层复杂性。例如，人(例如参加审查会议的代表)的基因数目比简单生物(例如蠕虫)的基因数目多不了多少。会议代表和蠕虫的基因数目差不多，因而元件的数目也差不多，那么又如何解释二者在复杂程度上的明显差异呢？答案在于调控机制的复杂性，而不在于结构的复杂性。人的不同元件之间的相互作用比蠕虫复杂。系统生物学研究的就是一个离散生物系统中的分子网络之间的复杂的相互作用。

36. 在过去，科学家可能只研究生物通道的单一方面，例如控制细胞对感染的反应。系统生物学则可以更广泛地研究特定的刺激对多个不同通道的影响，例如细胞对感染的反应所引发的一连串其他反应，而这些反应又反过来对最先的反应产生反调节影响。研究表明，许多的分子相互作用先前未被发现，事实上存在着利用新的信号通道进行调节的全新机制。

37. 系统生物学研究工作分成四步。第一步，利用各种手段收集有关系统的信息，这些手段包括：高通量筛选技术、基因组学进展、蛋白质组学工具和生物信息学各数据库的数据挖掘。第二步，由于信息量太大，无法以人工处理，须使用计算生物学技术来处理这些信息，以便对该系统的所有组成分子进行定量分析，然后纳入一个图形网络模型。第三步，可使用该模型来探讨对该系统进行操纵会如何影响其功能。最后，对计算出来的预测值与实验得到的经验值进行比对，然后使用所产生的数据来改进该模型。最终的目标是让系统模型准确地再现整个系统，并且能够进行准确的模拟实验。

38. 因此，系统生物学有助于对分子与系统相互作用所产生的影响进行模拟，从而促进药物的发现、设计和释放，特别是通过合理的药物设计。系统生物学还具有更广泛的医学影响，因为几乎所有疾病都可以被视为基因、分子或环境因素对生物系统进行的操纵。研究一个患病的系统与一个健康的系统有何差异，可以了解与疾病有关的过程是如何相互作用和控制的。这就为新的诊断和治疗方法提供了可能性，而且为改进基因组医学开启了大门。

39. 全面综合的系统生物学仍处于婴儿期。计算工具的能力仍有不足，无法高效率地处理种类繁多、数量巨大的现有数据。但是，在研究生物调控特别是神经生物学和免疫学领域各种复杂的调控机制的相互作用方面，取得了相当大的进展。

生物调控(神经生物学和免疫学)

40. 科学文献表明，具有生物活性的生化物质和具有生物调控作用的肽能够以十分明确的方式调节生理系统和过程，诸如脑和免疫系统。这类生物调控化合物有很大的商机，因为它们为减轻痛苦、抑郁和多种精神障碍提供了新的可能性。有迹象表明，它们有可能用来操控知觉、感觉、认知、情绪、心境、意志、机体控制和警惕性。生物调控剂的用途在过去被认为很有限，因为有关化合物在环境中容易不稳定。微囊化的进展使得生物调控剂的商业开发成为可能。

41. 人们研究了哪些分子线路和控制系统对机体功能进行调控，还研究了何种微扰会造成各种变化和疾病状态，从而发现了许多生物调控剂的靶点。人们还化了许多工夫研究不同疾病状态下产生了哪些物质(转录谱分析)。研究的对象还包括病原体是如何克服种种免疫反应或治疗手段(例如抗生素)的。人们正越来越了解生物活性化合物的结构对其与特定分子靶点的亲和性和反应性有何影响，这样就可以对研制工作进行优化。例如，日益明显的是，生物活性化合物的三维折叠对其功能具有关键的作用。这些分子的生产技术有了进步，就可以生产出更复杂的结构。生物活性化合物大型文库的存在，有利于进行高通量筛选。因此，越来越有可能查明哪一种化合物可以干扰特定的生物过程。目前，大部分相关信息是工业界产生的，被其视为商业所有权信息。现在，正努力让更多的这类信息能够供公众查阅，以协助全世界的研究人员开展工作和找到新的药物靶点。

药物的发现、设计和释放

42. 过去五年来，在确定、产生和利用生物活性物质(药物)方面，出现了许多发展。这导致了新的预防手段，例如疫苗，也导致了新的治疗手段，例如抗微生物剂。巨额的资金注入了生物防御领域的工作。最近，在亚单位和 DNA 疫苗方面也有所进展。

组合生物化学

43. 借助高通量筛选技术,能够在短时间内评估出为数众多的生化结构用作药物的可能性。因此,最好也有能力生产出为数众多的不同生化物质以供筛选。传统的生物化学能够通过一种称为固相合成的过程而一个氨基酸又一个氨基酸地构建蛋白质。新技术则可在“网眼袋”中进行个别构建,每一步完成后均可加以组合,从而大大提高氨基酸序列的多样性(液相平行合成)。还可以标记每次构建出来的序列,从而能容易地读出氨基酸的顺序和了解其结构。液相平行合成还扩大了可进行的化学反应的范围,这使得所生成的结构的多样性大为增加。最近的进展使得产品的纯度有了提高。由于上述种种进展,加上自动化、微型化和生物信息学的应用,已经很快地产生了大量的合成化合物(文库)。

44. 药物设计的早期发展表明,对够大的文库进行筛选,最后总会找到具有理想特性的生化结构。组合生物化学的进展现在产生了空前庞大的文库。但是,循这个方向努力,看来收益不大。最近的趋势是,对使用大型的一般文库不大感兴趣,转而使用更具有针对性的、化合物种类不那么繁多的文库,围绕一个主题进行变化和筛选,以便针对具体的特性实现优化。这对于药物发现过程中的希望很大的(或“先导”)化合物的进一步开发特别有用。这样做,可以评估先导化合物的某些改变是否可提高效率 and 具有其他的理想特性。从组合生物化学中产生的信息可有效说明化合物的化学调节对生物活性有何影响。因此,所提供的数据也也系统生物学和合理的药物设计相关。

合理的药物设计

45. 人们对生物系统特别是不同元件之间的相互作用有了进一步了解,发现若干分子对于保持健康十分重要或者在疾病的发生上起了一定作用(见生物调控)。X射线晶体学和核磁共振成像等领域的发展,使人们能够得到靶点分子的结构图和与它们发生作用的分子的结构图。知道了这些相互作用是如何发生的,就有助于设计出能够与特定靶点发生作用的分子,从而产生所希望产生的影响。在查明了靶点分子的结构后,可以根据已知的相互作用来预测与靶点分子发生相互作用的药物应具有何种结构。可利用的数据越多,所作的预测就可能越准确。

46. 生物信息学和计算生物学的进展促使人们开发出计算机硬件和软件来制作各种相互作用模型。使用这类计算机对大型文库进行虚拟筛选，其速率比使用最先进的生化技术进行筛选还要快得多。结果产生的合理设计分子一旦被设计出来，又可纳入传统的药物开发方案。实际上，这种计算机化的合理药物设计方法是与组合生物化学方法和高通量筛选技术平行使用的。可以用传统的方法来确定先导化合物，然后用合理药物设计技术对其进行优化。

药物寻靶

47. 药物的效用取决于其到达所需发生作用的机体部位的能力。如果能确保药物只与理想靶点发生作用，就可进一步提高其效用。这意味着该药物有较大的部分发生作用，没有被浪费在与非靶点的分子发生作用上。这样，还可将不良反应或副作用的风险减至最低。

48. 尽管目前还未找到真正有效的、针对选定靶点的药物释放系统，但已取得相当大的进展了。针对不同靶点的寻靶系统的文库越来越丰富。目前，主要使用三种方法来改进药物寻靶。第一种方法是，封装药物的胶囊的结构有助于寻靶(见微囊化)。第二种方法是，对种种病毒和细菌进行操纵后，用作释放工具，利用其天生的能力来有选择地感染特定的细胞(例如，见基因疗法)。第三种方法是，将药物与设计成能够识别特定靶点的载体分子结合起来。上述所有方法都依赖分子识别系统。识别系统有选择地识别出靶点并与靶点结合，然后才释放药物。这些药物释放系统还可进一步加强，以加大靶点接纳药物的可能性。

微囊化

49. 将生物活性物剂予以包囊，可以保护这些物剂不受蒸发、氧化和污染等环境因素的影响，还可提高靶点识别能力，从而提高其特异性。包囊材料可以有各种各样，其中包括有机聚合物、水胶体、糖、蜡、脂肪、金属或无机氧化物。包囊的设计目的是保持所封装物剂的功能，直到抵达需要这些物剂之处。这就需要有各种释放机制，以确保在到达目的地后能发生作用。到目前为止，所开发的释放机制包括：控制释放、延迟释放、靶向释放(见药物寻靶)、生物降解释放和盐诱导释放。通用的微囊化方法有两种：物理方法和化学方法。物理微囊化技术可包括喷干、流

化床涂装、共挤和转盘式喷雾，而化学微囊化通常使用聚合、相分离、溶剂蒸发和凝聚等技术。

50. 微囊化并非新技术，但在第五次审查会议之后有了许多新用途。因此，越来越容易在市场上获取这种技术。它目前用于水处理、食品生产、农业和化妆品工业以及生物修复和有害废物管理。它也正在成为癌治疗技术和皮肤缺损治疗技术的一部分。

生物制约和生物生产

51. 生物制药是使用可大规模种植的基因改造植物来生产复杂的生物活性分子，而无需使用工业设施。它为生物化合物的低技术、低成本、高效益、大规模生产提供了可能性。将希望得到的物质的基因加到植物中，然后让植物自然生长，要么植物本身被用作载体(在食用植物的情况下)，要么收获和处理有关的分子。对植物作这样的利用，可降低生产成本和生产技术要求(在以遗传工程方法处理过植物之后)，并可构建无法以传统方法生产出来的或者生产成本极高的复杂的生物活性结构，例如疫苗或抗体。

52. 转基因(以遗传工程方法处理过的)植物——包括米、土豆、玉米、水果、蔬菜和烟草——已被用来生产： β -胡萝卜素；人乳蛋白质；霍乱抗原；腹泻病原体抗原；乙型肝炎疫苗；艾滋病毒抗原；狂犬病亚单位疫苗；人糖蛋白；人血红蛋白；和乙型肝炎抗原。还正在开发能够生产抗体来防备生物武器的植物。由于从设计到投产的时间较长以及监管费用较高，生物制药的特许应用并不普遍，近期内不会成为一种标准方法。此外，还在细菌、酵母菌、丝状真菌、昆虫和哺乳动物组织中培养出人工基因序列的蛋白质表达系统。

药物释放(给药)

53. 药物进入生物体通常有三种途径：吸入、口服和透皮。吸入给药有其优点，包括：开始起作用的速度快；分布较平均；和涵盖范围可能较广。吸入给药依赖空气生物学和气雾化技术，被用来对人、动物和植物进行预防给药和治疗给药。在以下两个重要领域取得了进展：制备生物结构，使其适于喷雾给药；提高给药器具的效率。粉末技术和微粒工程的重大发展改进了微粒弥散能力、微粒形态控制及物理

和化学稳定性。例如，超临界流体的开发使化合物兼具液体和气体的性质，克服了活性物剂的纯化所遇到的复杂问题。同样，由于多孔大微粒制造技术的进步，过去被认为不适于有效吸入的较大物质也可通过优化喷雾给药方式吸入了。目前使用三种不同的喷雾给药系统：含推进剂的剂量吸入器、干粉吸入器和雾化器。其中每一种系统的应用都有其问题。第五次审查会议之后的进展解决了其中许多问题。

54. 气雾化技术日益应用于疾病的治疗。它们被广泛用于治疗哮喘和慢性肺部阻塞疾病。正在开发类似的喷雾器具，将用于治疗糖尿病、人生长激素缺乏、前列腺癌和子宫内膜异位症。应用范围并不限于人的给药。这个领域的进展还使杀虫剂等物剂的大面积散播成为可能，例如在空中散播苏云金芽孢杆菌气雾剂，以保护森林不受云杉芽虫之害(见生物虫害控制)。还进行了动物研究，以评估吸入有毒微粒的生物影响。进行的气雾化研究还包括在大面积水域上散播细菌，作为水处理工作的一部分。空气生物学也被用来评估耕种和农业用生物气雾剂的特性。因此，这些技术比举行第五次审查会议之时更为普遍。

55. 口服给药技术也有进步。口服给药或食入的问题在于胃肠分解生物结构的能力。生物活性物质在被吸收和传递至其应发生作用的区域之前，通常已经变性乃至已被消化。微囊化技术的进步在很大程度上克服了这些问题。最近的研究表明，能够将蛋白分子予以包囊，使它们能够不受影响地通过胃，与肠粘膜结合，进入血流。

56. 不久以前，经皮透入还不是一种可行的给药机制。它需要一种载体(例如昆虫)来弄破皮肤，将生物活性化合物送入血流。由于研制出转基因(经过基因操纵的)昆虫和更加了解某些载体(例如传播疟疾和西尼罗病毒的蚊子)是如何抵御住杀虫剂的，透皮给药技术已经更为进步。能越过皮肤障碍的化学溶液也有了很大改进。某些技术已经证实有用，而且有了商业应用，例如尼古丁贴片可用来帮助戒烟。加强化学穿透方面的工作成果使得较大蛋白质经皮透入的效率增加了 100 倍。

合成生物学和生物工程

57. 本文件所论及的许多进展都是发展出可以提高能力的新技术以及将工程原则应用于生物学，诸如可以提高自动化程度及减少从事经常重复的活动所需要的时间和费用。生物学与工程学重叠的范围日益扩大，促成了生命科学新方法即合成

生物学的诞生，这种方法主要是利用对生物系统的了解而开始从无到有地构建出生物系统。合成生物学的关键要求是，就像用预先包装的电子元件组装成线路版一样，生物元件也能组装成生物系统。

58. 合成生物学对生物学家和工程师都具有吸引力，但两者对待这种新方法的角度十分不同。工程师认为，通过合成生物学可以制造出生物器具来做现有技术无法做到的事。生物学家则认为，通过这种功效很大的新方法，可以了解生物功能的基本原则。两者合力制作具有理想性质的生物系统模型，实际产生出这种系统，对其功能进行测试并加以调整，直到这些系统能够适当运行。目前，还需根据经验作相当大的改进，但随着经验的积累，需作的改进有可能越来越少。在整个过程中，获得的知识又反过来用于改进设计和构建工作。因此，对生物系统运行和设计原则的认识进步得很快。

59. 合成生物学吸收了工程学的一些概念，例如标准化和抽象化。这些概念是进行以功能为主的设计所不可或缺的，对于生物元件的开发也很重要。在其他工程领域，可以从架上取下一个部件，并知道它与器具中已经使用的部件是兼容的。至于合成生物学，目前正努力确保世界各地构建出来的不同生物元件组合在一起可以运行，而且它们都使用一致的、标准化的参数⁴。抽象化对于开发基于元件的生物系统也很重要。一个人无须了解一个过程的每一步，也可对这个过程作出贡献。一项复杂的工作可以分解成不同的层面，有可能成为任何一个层面的专家而无须对其他层面有深入了解。例如，不熟悉每一个元件是如何生产出来的，也可以设计出电气线路版。这就使得整个过程更容易掌握，有助于实现商业化。

60. 合成生物学的概念是在第五次审查会议之后发展出来的。它十分成功地被用于设计生物系统。例如，2003 年，一种细菌经过基因再造后，在爆炸物旁边繁殖会改变颜色。这种细菌被用来查明未爆炸弹药或地雷的位置。可以把经过基因再造的细菌撒布在一个区域内，如果在 TNT 旁边繁殖，它就会发绿色荧光。同样，2004 年，研究人员开发了一种 DNA 计算机，可用来搜寻前列腺癌和肺癌的早期征兆以及控制生物活性药物的释放。

⁴ 例如：“标准生物部件登记册”，麻省理工学院恩迪实验室，见：<http://parts.mit.edu>。

其他相关发展

纳米技术

61. 纳米技术被称为“一种制造极微小物质的聪明手段”。尽管许多进展只涉及无机物质的操纵，因而与生命科学无关，但生物系统的结构元素很小，确实属于纳米技术的范围。所以，操纵生物系统以产生具有特定目的的器具，也许可被认为是一种纳米技术。

62. 在生物系统的所有特性中，最受纳米技术人员注意的就是“自组装”特性。DNA 及合成 DNA 已被用来制造物件、品格和器具。在构建复杂结构时，它们可用作元件，也可用作接合剂。生物系统目前的纳米技术应用包括：分子成像和检测；疗法效率测定报告；多功能治疗手段；疾病预防和控制；及各种提高能力的技术。正在研发中的有：结构体控制和台架搭建；纳米机械装置；和自复制纳米系统。目前已制造出来的器件包括：一个能截断 RNA 分子的合成 DNA 结构；能释放精确剂量的药物以治疗青光眼的隐形眼镜。

基因疗法

63. 基因功能与疾病之间存在着联系。作用异常的不良基因会引发许多疾病。基因疗法就是用健康的复制基因来替代不良基因。这是因为某些病毒能够将 DNA 复制回宿主的基因组中。基因疗法使用载体将健康基因运载到靶细胞。研发中的载体包括多种经过基因改造的病毒，其中有逆转录病毒、腺病毒、腺伴随病毒和单纯疱疹病毒，这些病毒的致病基因已被去除，腾出的空间可植入健康的基因。通常选择病毒作为载体，因为病毒能够针对某些细胞寻靶(见药物寻靶)。现在已经有了相当大的载体文库，其中的载体可针对不同的组织。此外，还研发出许多非病毒给药机制。它们需要直接下药，还需要大量的 DNA，而且只适用于某些类型的组织。

64. 尽管基因疗法自第五次审查会议以来取得了很大进展，尤其是在靶向载体的研发方面，但它仍不是一种已证明有效的技术。在动物模型试验中，这种疗法取得了不错的效果，包括使耳聋的天竺鼠恢复了听觉。对人进行的几次临床试验却不如预期。释放系统和基因表达率仍有很大的问题要解决。

病毒基因工程

65. 基因疗法中使用的许多病毒所含的遗传物质与包括人在内的其他生物所含的遗传物质相似(DNA)。但是, 其他病毒用的是另一种形式的遗传物质(RNA)。对 DNA 进行操纵和基因工程, 已经是一项行之有效和普遍使用的技术, 而对 RNA 病毒进行操纵, 其挑战性较高。RNA 较不稳定, 应用基因重组技术比较困难。目前已研发出另外的处理 RNA 病毒的方法。通过逆向基因工程, 可以把 RNA 复制成互补 DNA(有时需要利用某种病毒蛋白质或辅助病毒), 然后把互补 DNA 植入细菌, 就能够用传统的技术进行操纵了。自第五次审查会议以来, 可按此法操纵的序列长度大为增加。现在已能够对最大的 RNA 病毒(例如引起严重急性呼吸道综合症(非典型性肺炎)的冠状病毒)进行逆向基因工程了。DNA 经修饰后, 即可取出并植入一个系统, 再转化回 RNA。然后可将 RNA 相植入一个允许细胞(有时又需要利用某种病毒蛋白质或辅助病毒), 该 RNA 将被阅读, 从而构建出最后的病毒。这个机制增进了对病毒如何复制的了解, 为开发新的疫苗和载体提供了可能性。

66. 最近, 有人使用类似的技术重新生成了引起 1918-1919 年流感大流行的病毒。生成的经过基因操纵的病毒具有以人工重新引入的原病毒的表面结构。原先不具有致病性的病毒在加入了这样的表面结构之后, 在动物模型中就变成具有致病性的毒株。而且, 被这一病毒感染, 会表现出 1918-1919 年大流感的特定症状(见附件二所列的 1918 年流感实验)。

抗病毒药物

67. 目前仍未研制出具有类似于抗生素的特性的安全、有效抗病毒药物。尽管自第五次审查会议以来取得了进展, 诸如研制出一些据说对痘病毒感染有效的药物, 但副作用很大, 极有可能使这些药物无法用于预防。使用单克隆或多克隆抗体等其他手段对付病毒, 也取得了进展, 据说可有效对付痘病毒和委内瑞拉马脑脊髓炎病毒。在研发非特异性免疫兴奋剂方面也有进展, 这种物剂通过免疫调节作用或细胞活素, 可引起全身防御反应。这方面的一个成功实例是使用 X 干扰素治疗艾滋病/艾滋病。

检测技术

68. 由于若干领域取得了进展和产生了提高能力的技术,检测和鉴定技术也大有进步。相关的发展包括:荧光检测分子种类增多;聚合酶链式反应扩增速度加快;基因探针系统得到改进和特异性得到加强;微阵列技术有了进步;试剂冻干技术;抗体作用增强;短核酸(核酸配体)的出现和抗原识别;纳米技术,包括量子点和金纳米粒子的应用;渐逝波检测技术;光散射表面细胞质基因组共振;金属包覆漏波导技术;使用超声波、电泳和介电泳改进检测限度;生物发光技术;和自发荧光检测技术。

69. 自第五次审查会议以来,生物检测设备已更为灵敏、易用和价廉。微型化和自动化程度越来越高。适用于实地环境而且可在市场上买到的技术越来越多。手持式快速诊断设备和近实时环境取样设备也已研制出来。目前正在研发各种检测方法,包括通过使用:抗体;高亲和性结合试剂;光学检测;生物发光;纤维素试纸;和纳米技术。

生物虫害控制

70. 一些领域的进展带动了生物虫害控制系统(生物杀虫剂)的研究。这种系统近期内还不大可能取代化学杀虫方法,因为在配制、作用速度和效率方面仍有问题。最常提到的正在研发中的生物虫害控制系统是使用苏云金芽孢杆菌来控制植物虫害。正在研发的用作生物虫害控制剂的其他毒素包括发光杆菌、虫媒假单胞菌和噬线虫杆菌。有人在研究如何生产出含有苏云金芽孢杆菌中的杀虫毒素的转基因作物。目前的工作重点是寻找作用更强的毒素和扩大目标范围。苏云金芽孢杆菌中的毒素也被植入其他微生物,诸如杆状病毒或其他细菌,用作生物控制剂。

附件 一

值得关注的实验

1. 各方，包括专业科研机构和缔约国，为了确定何种实验值得关注而作了种种努力。其中一些实验已经进行过，发表于同行评审的科学期刊；另一些实验被认为理论上有可能。所有实验都具有技术挑战性，只有经费充足、协调良好的研究项目才有条件进行。

2. 美国国家科学院 2004 年发表的“恐怖主义时代的生物技术研究”报告列出了七种值得关注的实验，它们是：

- (一) 证明如何使疫苗失效；
- (二) 对有疗效的抗生素或抗病毒剂产生耐药性；
- (三) 加强病原体的毒性或使非病原体产生毒性；
- (四) 提高病原体的传染能力；
- (五) 改变病原体的宿主范围；
- (六) 能够规避诊断和检测手段；
- (七) 能够使生物剂或毒素武器化。

3. 为了协助编写本文件，澳大利亚提供了以下的值得关注的实验清单：

- (一) 使疫苗失效；
- (二) 使病原生物对有疗效的抗生素或抗病毒剂产生耐药性；
- (三) 加强病原体的毒性或使非病原体产生毒性；
- (四) 提高病原体的传染能力；
- (五) 改变病原体的宿主范围；
- (六) 能够规避以通用方法进行的诊断和/或检测；
- (七) 进行病原体基因测序；
- (八) 合成病原微生物；
- (九) 使用异源表达系统(及相关生产技术)大规模生产蛋白质；
- (十) 对生命衰减疫苗生产过程进行优化；
- (十一) 能够使生物剂或毒素武器化；
- (十二) 用天花病毒进行的任何实验。

附 件 二

经常被指出与《公约》特别相关的实际实验

1. 在探讨与《公约》相关的科学和技术发展时经常提到下列四个实验：
 - (一) *Expression of Mouse Interleukin-4 by a Recombinant Ectromelia Virus Suppresses Cytolytic Lymphocyte Responses and Overcomes Genetic Resistance to Mousepox* (“重组缺肢病毒中的鼠白介素 4 表达抑制了淋巴细胞溶解反应并克服了对鼠痘的基因抵抗”)作者为 Ronald J.Jackson、Alistair J. Ramsay、Carina D. Christensen、Sandra Beaton、Diana F. Hall 和 Ian A. Ramshaw。发表于 *Journal of Virology*, 第 75 卷第 3 期, 2001 年 2 月, 第 1205-1210 页;
 - (二) *Chemical Synthesis of Poliovirus cDNA: Generation of Infectious Virus in the Absence of Natural Template*(“脊髓灰质炎病毒互补 DNA 的化学合成: 在没有天然模板的情况下产生感染性病毒”), 作者为 Jeronimo Cello、Aniko V. Paul 和 Eckard Wimmer。发表于 *Science*, 第 297 卷第 5583 期, 2002 年 8 月 9 日, 第 1016-1018 页。
 - (三) *Characterization of the Reconstructed 1918 Spanish Influenza Pandemic Virus*(“重造 1918 年西班牙大流感病毒特性分析”), 作者为 Terrence M. Tumpey、Christopher F. Basler、Patricia V. Aguilar、Hui Zeng、Alicia Solórzano、David E. Swayne、Nancy J. Cox、Jacqueline M. Katz、Jeffery K. Taubenberger、Peter Palese 和 Adolfo García-Sastre。发表于 *Science*, 第 310 期, 2005 年 10 月 7 日, 第 77-80 页; 和
 - (四) *Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes*(“1918 年流感病毒聚合酶基因特性分析”), 作者为 Jeffery K. Taubenberger、Ann H. Reid、Raina M. Lourens、Ruixue Wang、Guozhong Jin 和 Thomas G. Fanning。发表于 *Nature*, 第 437 卷, 2005 年 10 月 6 日, 第 889-893 页。

此外, 正在进行与禽流感有关的实验工作。

鼠痘实验

2. 研究人员试图产生一种可用来控制鼠群繁殖的病毒，因为鼠繁殖得太多，对谷物生产造成很大损害。研究人员将母鼠卵中的一种蛋白质植入鼠痘病毒，以图改变这种鼠病原体。目的是刺激鼠的免疫系统，使其自行绝育。为了加强鼠体内的抗体反应，他们还植入了另一种基因，即白介素 4 编码基因。产生的病毒对受感染的鼠的致死率是 100%，这些鼠中有的是对天然鼠痘遗传免疫，有的曾接种过鼠痘疫苗。该实验让人关注的是，包括天花病毒在内的有关病毒可能也会产生类似的作用。

脊髓灰质炎病毒实验

3. 2002 年，一组研究人员从脊髓灰质炎病毒的基因序列成功地人工生成了具有致病性的活的脊髓灰质炎病毒。序列信息是从互联网上的一个公开文库获取的。该序列被分解成若干较小的区段。各区段的序列信息通过互联网传送给合成 DNA 的商业公司，公司则把实体 DNA 邮寄回研究人员，由他们将这些区段结合起来，产生病原体的基因组。然后，使用该基因组产生实际的病原体。一些后续实验已开始使用这一程序重新生成较大的病毒，也有人表示打算合成一种细菌。尽管过去四年来技术有进步，现在还不可能使用这一技术重新产生所有病毒。

1918 年流感实验

4. 2005 年期刊中报告的研究结果表明，两个研究组成功地重新生成了引起 1918-1919 年流感大流行的病毒株系。他们从被感染者的组织样本中得到流感病毒的基因序列，然后用该序列重新组成已灭绝的这种病原体。对其序列和不同结构元素的分析表明，它有可能是一种发生突变后的禽流感病毒。有人还开展了研究，以查明何种结构特性使其能够如此有效地感染人类并使人致命。

禽流感实验

5. 随着对流感病毒的认识日益加深，有人已开始设法让造成目前禽类大批死亡的病毒株系也能感染人并且能在人与人之间传染。其目的是进一步了解这种宿主

物种的改变是如何在大自然中发生的，又如何才会引起人流感的超大流行。若干实验室报告说，它们正试图将禽流感病毒的基因与人流感病毒混合。

-- -- -- -- --