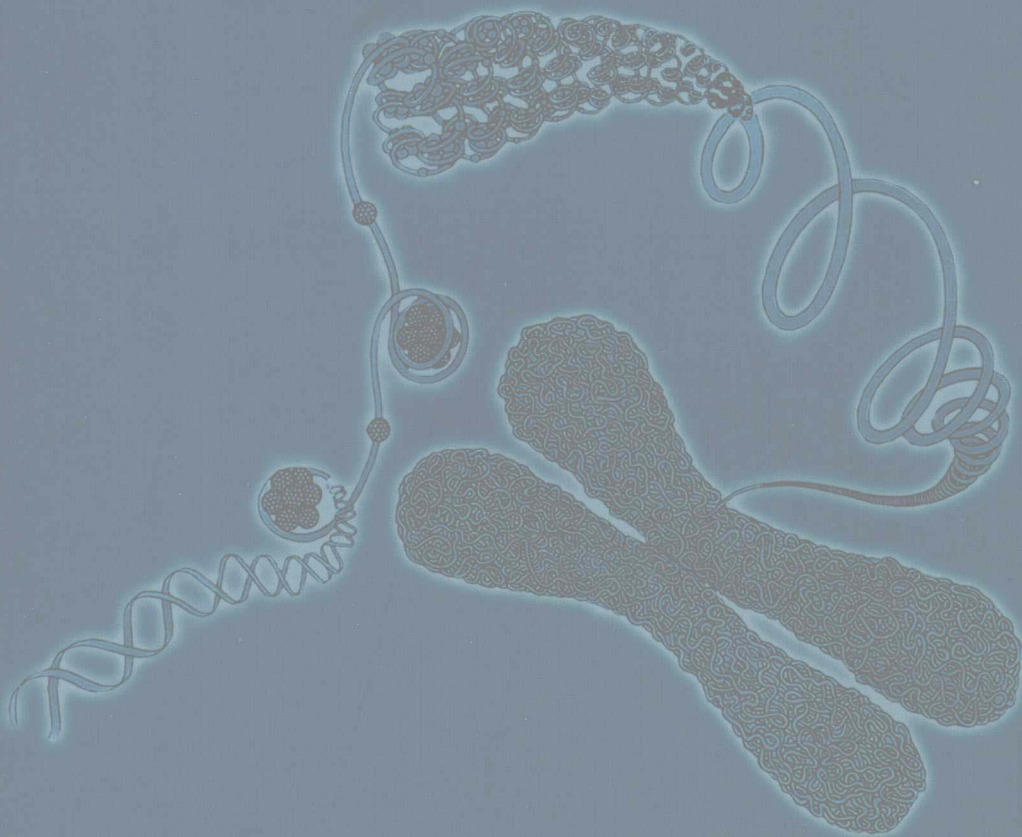
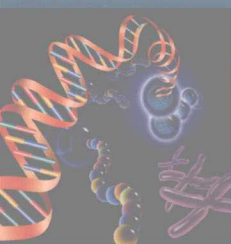


河南科技大学学术著作出版基金资助出版



程相朝 李银聚 张春杰 吴庭才◎编著



动物基因工程

Animal genetic engineering

 中国农业出版社

河南科技大学学术著作出版基金资助出版

动物基因工程

Animal genetic engineering

程相朝 李银聚 张春杰 吴庭才 编著

中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

动物基因工程/程相朝等编著. —北京: 中国农业出版社, 2008. 5

ISBN 978-7-109-12599-5

I. 动… II. 程… III. 动物—基因—遗传工程 IV. Q953

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 044788 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100125)

责任编辑 黄 宇

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行

2008 年 5 月第 1 版 2008 年 5 月北京第 1 次印刷

开本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 21.75

字数: 495 千字

定价: 55.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

内 容 简 介

本书全面系统地论述了动物基因工程的基本原理和应用。主要内容包括基因的分子生物学基础、技术基础、酶学基础和操作程序；介绍了动物细胞工程、转基因动物、基因治疗和基因免疫的基本原理及其在生命科学研究、医药、动物遗传育种、疾病诊断和治疗等方面的应用。

基因工程属当代科技的前沿技术，理论性和技术性强。动物基因工程则立足于在基因水平进行设计重组，在细胞、组织和动物个体水平表达。本书仅在动物基因结构和表达调控的原理与应用方面给以简明扼要的论述，既可作为高等院校生物技术、畜牧兽医、动物检疫、食品工程及医学等学科的教科书，又可供从事生物技术研究方面的科研人员参考。

前 言

生物技术是指对于有机体的操作技术。自从我们的祖先有意识地把第一粒种子埋在地下,便宣告了这一技术的诞生。1953年,Watson和Crick阐明了DNA的双螺旋结构,从而开辟了分子生物学的新纪元,也为古老的生物技术发展成为高新技术奠定了一方基石。基因工程被认为是20世纪生物技术一项伟大的成就,也是当今新技术革命的重要组成部分。目前,这项技术已渗透到生命科学的各个领域。鉴于此,我们在长期教学和科研积累的基础上,精心编写了《动物基因工程》一书,希望能为促进我国生物技术教育的普及和深入研究尽微薄之力。

生物技术被世界各国视为一种高新技术,在整个科学技术中占据了特殊的地位。大多数发达国家和许多较发达国家都非常重视生物技术的发展,包括从理论研究到生产出产品的长期转化阶段,都给予了足够的财政资助。许多国家专门设立了有关委员会研究生物技术的发展潜力,并在大学学科中普遍开设了生物技术课程,使这项既有古老的根基,又有巨大发展潜力的高科技能够普遍、持续、更深入地发展。

基因工程是在诸多学科的基础上发展起来的一门应用学科,理论研究方位广,应用领域面宽。本书以动物基因的分子生物学为基础,深入浅出地阐明了动物基因工程的基本原理和操作技术,并着重介绍了转基因动物、动物细胞工程、基因治疗和基因免疫的基本原理及应用;各工程技术应用于医药、动物遗传育种等生产实践;基因工程用于生物学与医学、医药等基础理论研究诸方面的现状,并对未来的发展方向进行了初步的探讨。

现代生物技术发展很快,技术手段日新月异。本书只能从基因工程的原理和技术方面加以阐述,不能涵盖这项技术的全部,加之作者的水平有限,书中错误和疏漏之处在所难免,恳请同仁、专家及读者指正。

编 者

2008年3月

目 录

前言

概述	1
一、基因工程	1
二、基因工程的发展历程	3
三、基因工程研究现状及发展趋势	3

上篇 动物基因工程的分子生物学基础

第一章 动物基因的结构与组合	7
第一节 动物基因的分子结构	7
一、DNA 的碱基组成	8
二、DNA 的一级结构	8
三、DNA 的二级结构	9
四、染色体	11
第二节 动物基因的重复序列	12
一、动物基因的重复序列	13
二、动物 DNA 重复序列的组织形式	14
第三节 动物基因的组织形式	16
一、动物基因的不连续性	17
二、基因家族和基因簇	22
三、串联重复基因	22
四、侧翼序列	22
第四节 基因及基因组的大小	29
一、动物基因的大小	29
二、动物基因组的大小	30
第五节 线粒体基因组	31
第二章 DNA 复制	34
第一节 DNA 复制机制	35
一、半保留复制	35
二、 θ 方式和滚环方式	37
第二节 DNA 的复制过程	39

一、复制的起始和方向	39
二、DNA 双螺旋的解开	39
三、RNA 引物的合成	40
四、半不连续复制	40
五、引发和引发体	41
六、链的延伸	44
七、链的终止	44
八、复制的忠实性	45
第三节 动物染色体 DNA 复制	46
一、动物 DNA 复制起始点与起始	46
二、延伸	47
三、复制终止	47
四、端粒的复制	47
第三章 动物基因的转录及转录水平的	
调控	49
第一节 转录的机制	49
一、转录起始	50
二、转录的延伸	53
三、转录终止	54
第二节 基因转录产物的后加工	57
一、rRNA 的转录后加工	57
二、tRNA 的转录后加工	58
三、mRNA 的转录与后加工	58
第三节 真核基因转录水平的调控	67
一、基因结构的活化	68
二、转录起始的调控	71
三、转录过程的调控	75
第四章 蛋白质的生物合成及翻译水平的	
调控	76
第一节 遗传密码	76
第二节 tRNA 及其功能	78
第三节 核糖体的结构和装配	80
第四节 真核生物蛋白质的合成	81
一、原核生物蛋白质生物合成机制	82
二、真核生物蛋白质的生物合成	87
第五节 蛋白质翻译初始产物的修饰	91
第六节 翻译水平的调控	93
一、翻译因子磷酸化调控	95
二、转铁蛋白 mRNA 翻译的调控模式	96

下篇 动物基因工程操作

第五章 基因工程中的常用技术	97
第一节 凝胶电泳技术	97
一、凝胶电泳的基本原理	97
二、琼脂糖凝胶电泳	98
三、聚丙烯酰胺凝胶电泳	104
第二节 核酸分子杂交技术	107
一、放射性同位素标记的 DNA 探针的制备	108
二、待测核酸的处理	109
三、杂交及杂交后漂洗	110
四、自显影	110
第三节 细菌转化	116
第四节 DNA 核苷酸序列分析技术	117
一、Sanger 双脱氧链终止法	117
二、Maxam - Gilbert DNA 化学降解法	118
第五节 PCR 扩增技术	119
一、基本原理	119
二、PCR 的设计和参数	120
三、PCR 技术的应用	126
第六章 基因工程常用的酶类	128
第一节 限制性核酸内切酶和 DNA 分子的体外切割	128
一、II 类限制性内切酶的基本特点	128
二、限制性内切酶的来源及命名	133
三、影响限制性内切酶活性的因素	133
四、限制性内切酶酶切图谱分析	134
第二节 DNA 连接酶与 DNA 分子的体外连接	135
一、DNA 连接酶	135
二、DNA 的连接方法	136
第三节 DNA 聚合酶及其在基因工程中的应用	136
一、大肠杆菌 DNA 聚合酶 I (全酶)	137
二、大肠杆菌 DNA 聚合酶 I 大片段 (Klenow 片段)	138
三、T4 噬菌体 DNA 聚合酶	138
四、T7 噬菌体 DNA 聚合酶	139
五、经修饰的 T7 噬菌体 DNA 聚合酶 (测序酶)	139
六、Taq DNA 聚合酶及 Ampli Taq™ DNA 聚合酶	139
七、反转录酶 (依赖于 RNA 的 DNA 聚合酶)	140

八、末端转移酶(末端脱氧核苷酸转移酶)	141
第四节 核酸外切酶及核酸内切酶	141
一、核酸外切酶	141
二、核酸内切酶	142
第五节 其他 DNA 和 RNA 的修饰酶及其应用	143
第七章 基因工程的载体和宿主表达系统	144
第一节 细菌质粒载体	144
一、质粒的基本特性	145
二、不同用途的细菌质粒载体	146
第二节 噬菌体载体	152
一、 λ 噬菌体	153
二、M13 噬菌体	154
第三节 酵母系统载体	155
一、酵母整合质粒	156
二、酵母复制子质粒	156
三、酵母游离基因载体	157
第四节 动物病毒载体	157
一、病毒颗粒载体	157
二、病毒 DNA 混合型载体	159
第五节 原核细胞表达系统	161
一、影响真核基因在大肠杆菌中表达的主要因素	162
二、外源基因在大肠杆菌细胞内表达重组蛋白	164
三、重组蛋白分泌到周质	166
四、重组蛋白分泌到胞外培养基中	168
第六节 真核细胞表达系统	169
一、酵母表达系统	169
二、哺乳动物细胞表达系统	173
第七节 个体表达系统	176
第八章 基因工程的基本操作程序	177
第一节 基因工程的基本程序	177
第二节 DNA 体外重组和扩增	178
一、目的基因的制备和载体基因的选择与改造	178
二、目的 DNA 片段与载体 DNA 体外重组	184
三、重组子的扩增	189
第三节 重组 DNA 分子的选择与鉴定	190
一、抗性选择	190
二、从转化菌落快速提取质粒鉴定大小选择重组质粒	191
三、快速提取质粒进行酶切鉴定	192

四、菌落杂交法挑选重组质粒	194
五、DNA 的序列分析	195
第四节 重组 DNA 的表达与表达产物的检测	195
一、磷酸钙和 DNA 共沉淀物的转染	197
二、改进的磷酸钙介导细胞转染法	199
三、DEAE-葡聚糖介导的转染	200
四、利用聚阳离子介导的 DNA 转染	202
五、利用原生质体融合进行 DNA 转染	203
六、电穿孔法 DNA 转染	204
七、重组 DNA 表达及表达产物的检测与分析	205
第九章 转基因动物	206
第一节 转基因的设计和制备	206
一、转基因及转基因的设计	206
二、转基因的制备	211
三、影响基因转移的因素	213
四、动物转基因的效率	214
五、动物转基因的表达特性	214
六、动物转基因的生物学效应	215
第二节 显微注射法制备转基因动物	216
一、转基因鼠的制备	216
二、转基因羊的制备	231
三、显微注射生产转基因牛	233
第三节 转基因动物的检测	237
一、DNA 整合水平的检测	239
二、RNA 转录水平的检测	245
三、蛋白质水平的表达检测	247
第四节 转基因动物品系的建立	252
一、纯合子转基因动物的鉴定	253
二、转基因拷贝数的测定	253
三、转基因表达产物或表型的定量	254
四、分裂间期核的原位杂交	254
五、试繁殖	254
六、应用侧翼序列探针的 Southern blot 检测	254
七、RT-PCR 检测	255
第五节 培育转基因动物的其他方法	255
一、胚胎干细胞介导的转基因	255
二、逆转录病毒介导的转基因	255
三、精子载体介导的转基因	256
第六节 动物乳腺生物反应器	257
一、动物乳腺是外源蛋白质合成的首选器官	257

二、乳腺定位表达载体的构建策略	258
三、目的基因的选择	259
第七节 转基因动物的应用及前景	260
第十章 动物细胞工程	264
第一节 动物细胞的培养	265
一、培养细胞的起源和特征	265
二、动物细胞培养的基本技术	266
第二节 细胞融合与重组	274
一、细胞融合的基本技术	275
二、融合后杂种细胞的筛选	276
三、融合细胞的特征及应用	277
第三节 单克隆抗体制备技术	281
一、制备单克隆抗体的基本原理与程序	281
二、单克隆抗体的应用	284
第四节 染色体转移	284
一、微细胞介导的基因转移法	285
二、染色体介导的基因转移法	286
第五节 DNA 介导的基因转移	289
一、基因导入细胞的途径	289
二、转化细胞的选择	290
三、外源基因在哺乳动物细胞中的表达	290
四、DNA 介导的基因转移的应用	291
第六节 核移植技术	292
一、低等动物的核移植	292
二、哺乳动物的核移植	293
第七节 胚胎干细胞简介	293
一、胚胎干细胞的基体特征	293
二、胚胎干细胞的分离和培养	294
三、胚胎干细胞的个体发育	294
第十一章 动物基因治疗与基因免疫	295
第一节 基因治疗及其基本程序	295
一、基因治疗的基本概念	295
二、基因治疗的分子机制	296
三、基因治疗的基本程序	296
第二节 基因治疗的载体构建	297
一、目的基因	297
二、基因治疗的载体构建	298
第三节 基因治疗的基因转移方式	302
一、直接注射法	302

二、外源基因体外转移后返回体内	303
三、呼吸道气溶胶法	304
四、基因枪粒子轰击基因转移技术	304
第四节 疾病的基因治疗	304
一、遗传病的基因治疗	305
二、肿瘤性疾病的基因治疗	305
三、病毒病的基因治疗	307
四、基因治疗的副反应及其对策	307
第五节 基因免疫	308
一、基因疫苗的概念	308
二、基因疫苗的特点	309
三、基因疫苗的免疫机制	310
四、基因疫苗的抗原呈递	310
五、基因疫苗的免疫途径	312
第六节 基因疫苗载体的构建与表达检测	313
一、基因疫苗抗原基因	313
二、用于构建基因疫苗的载体	315
三、重组质粒在体外真核细胞中的表达与检测	315
四、基因疫苗制备	316
第七节 基因疫苗免疫方法	316
一、肌肉注射法	317
二、皮内注射法	319
三、静脉注射法	320
四、黏膜免疫法	320
五、基因枪法	321
六、基因疫苗的免疫剂量和免疫次数	321
七、基因疫苗免疫效果检测	322
第八节 影响基因疫苗免疫效果的因素	323
一、载体构件对基因疫苗免疫效果的影响	323
二、接种方法对免疫效果的影响	325
三、免疫佐剂和辅佐分子的作用	325
四、个体差异对基因免疫效果的影响	327
第九节 基因疫苗的安全性	327
一、局部反应和全身毒性评定	328
二、遗传毒性评定	328
三、生殖毒性评定	329
四、肿瘤发生评定	329
英文缩写	330
主要参考文献	333

概 述

生物技术原是最古老的技术，其历史几乎同人类的文明史同时开始。似乎可以认为，人类农业活动的开始便是生物技术的开端。当我们的祖先有意识地把第一粒种子埋入土地时，生物技术即宣告诞生。这一时刻，少说也在五千多年之前。直到微生物的发现和微生物学的产生，经典遗传学的建立以及化学理论与技术的出现，古老的生物技术才逐步地吸收并运用了这些方面的知识和技术，使之纳入了科学技术的轨道。随着科学技术的发展，传统的生物技术虽影响到了社会经济的诸多方面，对其他科学技术的发展也有着一定的影响，但这些影响尚不具备划时代的意义和战略价值。基因工程的出现，实现了生物技术从传统技术到高新技术的转变。

一、基因工程

1. 基因工程的基本概念 生命科学的飞速发展孕育了现代分子生物学技术——基因工程。它的诞生使整个人类生活方式发生重大变革。基因工程（genetic engineering）是指利用工程设计的方法将一种或多种生物体的基因与载体在体外进行拼接重组，然后转入另一种生物体内，使之按照人们的意愿遗传并表达出新的性状。除了少数 RNA 病毒外，几乎所有生物的基因都存在于 DNA 结构中，而用于外源基因重组拼接的载体也都是 DNA 分子，因此从狭义的概念来看，基因工程亦称为重组 DNA 技术（DNA recombination）。

基因工程实质上包括上游技术和下游技术两大组成部分。上游技术指的是外源基因重组、克隆和表达的设计与构建，而下游技术则涉及到含有重组外源基因的生物细胞（基因工程菌或细胞）的大规模培养以及外源基因表达产物的分离纯化过程。上游 DNA 重组的设计以便于表达和简化下游操作工艺和装备为指导思想，而下游过程则是上游基因重组蓝图的体现与保证，这是基因工程产业化的基本原则。

2. 基因工程的基本过程 基因工程的基本过程包括：目的基因的获得；基因 DNA 的体外重组；重组子的转化和目的基因在宿主体内的表达等四个基本环节。具体体现在：

①从供体细胞中分离出基因组 DNA，用限制性核酸内切酶直接切出所需的目的基因，或以 PCR 及人工合成的方法获得目的基因。

②用 DNA 连接酶将目的基因的 DNA 片段连接到载体分子上，形成 DNA 重组分子。

③借助于细胞转化手段将 DNA 重组分子导入受体细胞中。

④筛选和鉴定转化细胞，获得使外源基因高效稳定表达的基因工程菌或细胞。

3. 基因工程设计的基本方略 基因工程的主体思想是使外源基因在宿主细胞中的稳定高效表达。因此，在设计方面主要从以下几个方面入手：

(1) 选择适宜的载体 利用载体 DNA 在受体细胞中独立于染色体 DNA 而自主复制的特性, 将外源基因与载体分子重组, 通过载体分子的扩增提高外源基因在受体细胞中的拷贝数, 借此提高其宏观表达水平。这里涉及 DNA 分子高拷贝复制以及稳定遗传的分子遗传学原理。

(2) 完善、优化转录调控元件 通过筛选、修饰和重组启动子、增强子、操作子和终止子等基因的转录调控元件, 并将这些元件与外源基因精细拼接, 以强化外源基因的转录, 提高其表达水平。

(3) 修饰和重组翻译调控元件 通过选择、修饰和重组核糖体结合位点及密码子等 mRNA 的翻译调控元件, 强化受体细胞中蛋白质的生物合成过程。

(4) 选择与载体相匹配的宿主细胞, 优化培养工艺 基因工程菌(细胞)是现代生物工程中常用的宿主, 在强化并维持其最佳生产效能的基础上, 从工程菌(细胞)大规模培养的工程和工艺角度切入, 合理控制微型生物反应器的增殖速度和最终数量, 也是提高外源基因表达产物产量的主要环节。这里涉及的是生物化学工程学的基本理论体系。

(5) 在动物体内实现合理的整合和定位表达 外源基因除在细菌及体外培养的细胞中表达之外, 还可在高等动物体内表达。理想的整合和合理的定位表达, 是获得具有优良性状的遗传个体及获得高水平表达产物的主要途径。

在基因工程设计过程中涉及许多学科, 其中生物化学、分子遗传学、分子生物学以及生化工程学是基因工程的基础。生命科学中的其他学科也为基因工程的发展提供了强大的理论支持。也可以说, 基因工程是在诸多学科的基础上发展起来的高新生物技术。

4. 动物基因工程 DNA 重组技术的出现, 人们不再满足于仅仅在微生物宿主中表达基因, 而是要把基因转移到高等动物中。现在已经找到了向动物转移外源基因的方法, 并证明了遗传物质的统一性, 即无论是微生物来源的基因还是动植物来源的基因, 它们在动物基因组中都可以有效地表达。

目前, 对于动物基因工程尚没有一个简单而明确的定义。多数情况下理解为转基因动物。所强调的是外源 DNA 导入动物的基因组而产生了可以遗传的改变, 这些可以遗传的改变包括: 外源 DNA 片段至少整合到一条染色体的一个位点上; 外源 DNA 的插入使基因组中某一个基因的结构发生改变; 外源 DNA 的插入使染色体发生重排; 导入可以持久存在的人工染色体或者可以自我复制并传递给子细胞的非染色体 DNA 元件。

诚然, 转基因动物是动物基因工程的主题。因为动物细胞不等同于自由生活的细菌和酵母菌, 它是复杂的动物体的基本单元。当动物细胞离体培养时, 它们的许多特性迅速消失。原因在于在动物体内细胞以有序的三维结构组成各种动物组织, 由动脉输送血液来维持它们需要的营养、氧和二氧化碳浓度以及激素环境; 同时它们还和周围其他类型细胞接触, 接受旁分泌的刺激。在离体状况下, 要维持细胞在体内相同甚至相近的环境条件是不可能的。肝细胞只要在体外培养 24h, 绝大多数组织特异性表达的基因都会停止活动。有些基因转入动物细胞系中后, 与把它们转入转基因动物中的行为有很大差别。研究发现, 当把基因转入细胞系中时, 有内含子的基因和去掉内含子的同一基因表达水平相近。但是, 相同的基因转入小鼠之后, 有内含子的基因的表达水平比去掉内含子的基因高数百

倍。这说明离体培养的细胞中缺少某些能够通过结合到内含子上而刺激基因表达的组织特异性因子。事实上,多数基因在细胞系中的表达水平与在动物中的表达水平相差很远。最为重要的是,利用转基因动物可以研究许多复杂的生物学过程,例如发育、分化、脑的功能、行为学和免疫反应等,这些过程不可能通过离体细胞来研究。

应用重组 DNA 技术和转基因技术,打破了自然界物种之间生殖隔离的障碍,使得动物物种之间、动物与人类之间、动物和植物及微生物之间的遗传物质可以相互转移。因此,有人认为,将动物基因工程定义为外源基因在动物体内或体外培养的动物细胞中进行表达,以赋予动物体特定的性状或生产特定的基因表达产物或许比较恰当。这样可以反映出动物系统的分子生物学研究在较高层次上与应用异常的结合能力。

二、基因工程的发展历程

基因工程诞生的标志是 1972 年美国的 Berg 和 Jackson 等人将猿猴病毒 SV40 基因组 DNA、 λ 噬菌体基因和大肠杆菌半乳糖操纵子在体外重组获得成功,以及 1973 年美国斯坦福大学的 Cohen 和 Boyer 等人在体外构建出含有四环素和链霉素两个抗性基因的重组质粒分子。重组质粒导入大肠杆菌后,能够稳定复制,并赋予受体细胞相应的抗生素抗性。在以后的 4 年里,人们又对 DNA 重组所涉及的载体和受体系统进行了有效的安全性改造,还建立了一套严格的 DNA 重组实验室设计与操作规范,终于使 DNA 重组技术迅速发展起来。

早在基因工程发展的初期,人们就已开始探讨将该技术应用于大规模生产与人类健康水平密切相关的生物大分子,这些物质在人体内含量极小,但却具有非常重要的生理功能。1978 年,美国 Genen-tech 公司开发出利用重组大肠杆菌合成人胰岛素的先进生产工艺,从而揭开了基因工程产业化的序幕。DNA 重组技术已逐渐取代经典的微生物诱变育种程序,大大推进了微生物种群的非自然有益进化的进程。

1982 年,美国科学家将大鼠的生长激素基因转入小鼠体内,培育出具有大鼠雄健体魄的转基因小鼠及其子代。1990 年,美国政府首次批准一项人体基因治疗临床研究计划,对一名因腺苷脱氨酶基因缺陷而患有重度联合免疫缺陷症的儿童进行基因治疗获得成功,从而开创了分子医学的新纪元。基因工程已开始朝着高等动物物种的遗传特征改良以及基因治疗等方向发展。

三、基因工程研究现状及发展趋势

(一) 基因工程研究的现状

1. 基因工程在医药工业中的应用研究 基因工程在医药研制中最基本的理论依据是基于机体内可用于医药目的的蛋白质或活性多肽都是由相应的基因编码的。利用基因工程技术可以在错综复杂的机体细胞内获得所需要的基因,并将目的基因在体外进行修饰、剪切、拼接和重新组合,生产出比自然水平多得多的相应的蛋白质。长期以来,困扰着医学界的重大课题是一些在疾病诊断、预防和治疗中有着重要价值的如激素、淋巴

因子、神经多肽、调节蛋白、酶类、凝血因子等人体活性多肽以及某些疫苗，或由于材料来源困难，或由于技术方法问题而无法研制成功；即使勉强沿用传统技术予以研制，亦因造价太高而使患者望而却步。即使用得起，也因药源有限而供不应求，而且这类制品往往因为副作用大而疗效不佳。1977年，美国首先应用化学方法合成了人生长激素抑制基因，经过DNA重组在大肠杆菌生产出大量的人生长激素抑制素。这一突破震撼了全世界。人们知道，运用传统的技术方法需要用10万只羊的下丘脑才能获得1mg人生长激素抑制素，所要耗费的资金大约等于经由人造卫星从月球上搬回1kg石头。而用基因工程方法生产这一激素只需10kg大肠杆菌培养液即可，其价格大约为每1mg 0.3美元。这就是基因工程这一技术的诱人之处，它预示着难以估量的社会效益和经济效益。

目前，正在开展基因工程研究的活性多肽药物和疫苗大约有60种，这些活性多肽和疫苗，多数可以用以防治诸如肿瘤、心脑血管疾病以及遗传性、免疫性、内分泌等严重威胁人类健康的疑难病症，而且在避免药物的毒副作用方面往往优于用传统方法生产的同类制品，因而更加引人瞩目。

2. 基因工程在疾病诊断中的应用研究 主要是PCR技术和DNA探针技术及DNA测序技术在疾病诊断中的应用。应用PCR和DNA探针方法来诊断疾病可以达到前所未有的特异性强、灵敏度高、简便、快速等目的。DNA探针技术也是分子生物学基础研究的一个重要手段。

3. 在环境监测和环境净化中的应用研究 环境监测和环境净化是预防医学中的一个领域。DNA体外重组技术在这一领域的研究与应用中也已经发挥了重大作用，并预示着十分光明的前景。

在环境监测方面，应用基因探针检测水中、特别是饮用水中病毒的含量，既快速又灵敏；利用基因跟踪技术能从环境中分离出的细菌中确定某种有危害性的细菌；基因跟踪法在鉴定带菌者及预防流行病学方面也具有重要的应用价值。

DNA重组技术也可以应用于被污染环境的净化。将嗜油酸单孢杆菌的耐汞基因转移入腐臭假单孢杆菌中，该菌株能把剧毒的汞化物吸收到细胞内，还原成金属汞，然后可通过气化的方法从菌体中回收金属汞，以用于净化汞污染。关于净化农药残留问题，从耐受农药的害虫中分离出抗性基因，并将之转移到细菌中去。如把这种细菌投放到土壤中，则可将农田中残留的农药降解掉。

4. 关于遗传性疾病和基因治疗研究 基因工程技术还被用于研究遗传性疾病和基因治疗。后者是指向机体导入正常基因以取代突变基因，补充所缺失的基因，关闭或降低异常表达的基因等，以达到治疗遗传性疾病或肿瘤等的新设想。用带有正常基因的无害病毒载体在体外导入病人的骨髓细胞，再把这种带有重组正常基因的骨髓细胞送回到病人体内，从而治疗某些酶缺陷的遗传性疾病。而且还可将携带胰岛素基因的脂质体注入体内，通过肝细胞分泌胰岛素而治疗糖尿病。

5. 家畜品种改良 主要涉及生长性状和抗病等特性的改良。最早用反转录病毒为载体将生长素基因导入动物，培育出快速生长的转基因动物。随着转基因手段的不断成熟，又相继培育出生长快、性能优良的转基因猪、羊、鸡、兔、牛等。美国培育的转基因鲤鱼

可增产 20%~40%。我国也培育出个体大的鲤鱼和快速生长的猪、羊、鸡等。澳大利亚培育出转基因山羊,可使羊毛增产 5%。利用抗病基因还可培育出对某种疾病具有抵抗性的家畜品种。

6. 乳腺生物反应器 转基因动物技术的成熟,使人们能够有效地将外源基因转移到动物体内并实现表达。外源基因在动物体内表达的特点是表达量高,可以规模化生产,并能在机体水平上研究所表达的生物活性物质的作用机制。由此人们首先想到的是哺乳动物的乳腺定位表达系统和禽类的输卵管定位表达系统,它们可以在不损伤机体的情况下源源不断地表达基因产物。Ebert 等首次利用 t-PA 基因在 WAP 启动子的调控下培育出转基因羊,并在乳腺中表达出了具有生物学活性的 t-PA。目前,人们已把转基因动物作为生物反应器生产各种有用蛋白,特别是用乳腺生物反应器生产医用活性多肽药物。1999 年英国 PPL 医疗公司培育出 100 只转基因羊,在乳中表达了用于医疗的人体蛋白,能够治疗严重呼吸疾病、血友病、囊性纤维变形和先天发声缺陷等。我国上海遗传所和复旦大学也合作培育出 5 头含人体血凝因子基因的转基因羊。荷兰培育出一批转基因牛,牛乳中表达了人乳铁蛋白基因。

事实上,在当代生命科学研究中,只要涉及遗传基因的课题几乎都离不开 DNA 重组技术。这是当代生命科学分析层次的反映,也是当代生命科学的一个特征。

(二) 基因工程研究的发展趋势和展望

1. 蛋白质工程 DNA 体外重组的出现,使人们能够在体外直接操作基因,并使基因信息的传递打破了种属界限,微生物和高等动物之间的基因可以有效地进行组合、拼接。这就预示着人类可以改变物种的基因构成和机能。蛋白质工程的产生从理论上和原则上实现了能够按照人们的愿望,创造性地生产出适合人类需要的不同功能和性能的蛋白质。许多基因工程产品正在进一步应用蛋白质工程的办法改进其性能。因此,从基因工程和蛋白质工程的技术方法入手,人们已有可能根据不同的需要设计并创造出世界上原来并不存在的新基因、新蛋白质,以及为数众多、用途不同的新产品。

2. 生物分子电子学 生物分子电子学(biomolecular electronics)主要是研究生物材料、生物系统和生命过程的电学特性,并用于研制各种电子仪器。目前,该学科集中研究的是生物芯片(biochip)和生物传感器(biosensor)。

生物芯片是利用生物高分子作为骨架,包裹后与稳定具有半导体功能的特殊有机物结合,从而制造成具有集成电路功能的电子元件。生物芯片可用于制造逻辑单元和记忆单元。利用电子计算机辅助设计蛋白质的结构,采用重组 DNA 技术来生产这类蛋白质,为生物芯片的制造开辟了新途径。人们利用生物芯片可以进一步制造电子计算机。这种生物电子计算机,将比用普通硅片制成的电子计算机体积更小,储存信息更多、运算速度更快、能量转化效率更高,因而也更加稳定可靠。

3. 海洋生物的开发 尚未利用的海洋与海岸有效面积比陆地大 5~10 倍,海水中含有生物生长和繁殖所必需的无机物。海洋不仅能充分利用太阳能进行光合作用,而且还有多种多样未利用的生物。

海洋微生物的研究重点是生理活性物质。已发现能够产生蛋白酶抑制剂和抗生素的海洋微生物,以及可在海水中产生能源的产甲烷菌和产氢光合菌,但产量很低,这些有用物