



生物技术提高 4

Biotechnology:
Applying the Genetic Revolution

环境生物技术，代谢工程，
转基因动植物

· 导读版 ·

David P. Clark, Nanette J. Pazdernik



原版引进



科学出版社

www.sciencep.com

Biotechnology

Applying the Genetic Revolution

生物技术提高④

环境生物技术，代谢工程，
转基因动植物

Authors

David P. Clark

Department of Microbiology
Southern Illinois University
Carbondale, Illinois

Nanette J. Pazdernik

Math and Science Division
Southwestern Illinois College
Belleville, Illinois

科学出版社

北京

图字: 01-2009-2604

This is an annotated version of
Biotechnology: Applying the Genetic Revolution
By David P. Clark, Nanette J. Pazdernik
ISBN 13: 978-0-12-175552-2
Copyright © 2009, Elsevier Inc. All rights reserved.

Authorized English language reprint edition published by the Proprietor.
ISBN 13: 978-9-81-272358-1

Copyright © 2009 by Elsevier (Singapore) Pte Ltd. All rights reserved.

Elsevier (Singapore) Pte Ltd.

3 Killiney Road

08-01 Winsland House 1

Singapore 2139519

Tel: (65) 6349-0200

Fax: (65) 6733-1817

First Published 2009

<2009>年初版

Printed in China by Science Press under special arrangement with Elsevier (Singapore) Pte Ltd.
This edition is authorized for sale in China only, excluding Hong Kong SAR, Macao SAR and Taiwan.
Unauthorized export of this edition is a violation of the Copyright Act. Violation of this Law is subject to Civil and Criminal Penalties.

本书英文影印版由Elsevier (Singapore) Pte Ltd. 授权科学出版社在中国大陆境内独家发行。本版权在中国境内（不包括香港和澳门特别行政区以及台湾）出版及标价销售。未经许可之出口，视为违反著作权法，将受法律之制裁。

图书在版编目 (CIP) 数据

环境生物技术, 代谢工程, 转基因动植物: 英文/(美) 克拉克
(Clark, D. P.) 主编. —影印本. —北京: 科学出版社, 2009
(生物技术提高; 4)
ISBN 978-7-03-024502-1

I. 环… II. 克… III. ①环境生物学-英文 ②代谢-生物工程-英文
③植物-外源-基因工程-英文 ④动物-外源-基因工程-英文 IV. X17
Q493 Q943.2 Q953

中国版本图书馆CIP数据核字 (2009) 第065276号

责任编辑: 孙红梅 李小汀 / 责任印制: 钱玉芬 / 封面设计: 耕者

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

天竺彩色印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2009年5月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2009年5月第一次印刷 印张: 9 1/4

印数: 1—2 000 字数: 290 000

定价: 70.00元

(如有印装质量问题, 我社负责调换〈环伟〉)

生物技术——遗传革命的应用

生物技术的迅速发展,无论在基础研究领域还是在应用开发方面,都取得了令人瞩目的成就。生物技术的创新成果已经渗透到农业、医药、工业、能源及环境保护等多个领域,并随着基础研究的深入,生物技术在许多新兴产业中成为核心技术之一,对人类的生存、生活及伦理等各个方面必将产生全面而深刻的影响。大力发展生物技术及其产业已成为世界许多国家的重要战略。

《生物技术提高》导读版编委会

张义正 教授 四川大学

袁 生 教授 南京师范大学

黄 鹰 教授 南京师范大学

高 福 研究员 中国科学院微生物研究所

景新明 研究员 中国科学院植物研究所

正是因为生物技术的迅猛发展,催生了“生物技术:遗传革命的应用”一书的出版。该书是由美国南伊利诺斯大学的Clark教授和西蒙伊利诺斯大学的Pazdernik博士共同撰写的,它是Clark教授所著的“分子生物学:遗传革命的挑战”(Molecular Biology: Understanding the Genetic Revolution,此书的中译版已于2007年由科学出版社出版)的后续技术篇。本书描述了来自遗传革命的信息如何使用来开发出新的生物技术,告诉读者有关生物技术已经拓展的研究领域和途径,及其最新进展。

本书共有25章,涵盖了生物技术的基础知识、遗传技术、最新技术以及它们的应用领域各个方面。为了使不同领域的读者找到自己感兴趣的领域从事的特定领域有较深入的了解,我们将本书相关的内容(章节)进行了重新编辑,共划分成6个分册,每个分册的篇幅大致相当,内容相近,读者可以根据自己的需求进行选择阅读。

第1分册(原书的第1、2、7、25章)的主要内容有分子生物学基础知识、纳米生物技术和生物化学等。第1、2章为读者提供了解生物技术所必需的分子生物学基础知识,包括DNA结构、基因表达、蛋白质合成以及用于生物技术研究的各种模式生物。第7章纳米生物技术包括了科学家怎样利用新的纳米结构释放药物、定位鉴定生物分子和制造抗菌材料,同时也展示了纳米生物技术如何将DNA的自组装能力开发成纳米装置,如何用DNA控制蛋白的形状。对于这个新领域的研究才刚刚开始,有可能会引起新一轮的生物技术革命。最后生物技术的进展引发了许多生物伦理学问题(第25章),如我们是否应该利用现代生物

生物技术：遗传革命的应用

生物技术的迅速发展，无论在基础研究领域还是在应用开发方面，都取得了令人瞩目的成就，生物技术的研究成果也越来越广泛地应用于农业、医药、食品、能源及环境保护等多个领域。毋庸置疑，生物技术和生物技术产业将是21世纪的主导技术和产业之一，对人类的生产和生活及伦理等各个方面必将产生全面而深刻的影响。大力发展生物技术及其产业已成为世界各国经济发展的战略重点。

目前，生物技术不仅仅是对单个基因进行遗传操作，而是可以在实验室进行人工进化，获得具有新功能的蛋白质编码基因。现代分子生物学和遗传学的快速发展使我们获得了多种生物的基因组序列及其结构，包括从病毒、细菌到植物、动物和人，这些知识的应用已导致了生命科学和生物技术的革命，我们现在甚至还可以根据基因组数据提供的信息，改造原有的生化途径，建立起能够生产不同产物的新生化途径，从而为人类提供更多的新产品，如药物、疫苗和食物。对于衰老和癌症发展过程中的分子机理的深入研究，使我们在不久的将来，就有可能找到延缓衰老和治疗癌症的方法。对于细菌和病毒致病机理和进化规律的研究，不仅可以治疗和预防由它们所引起的传染病，而且还能找到对付生物武器和生物恐怖的办法。生物技术与其他学科和技术的交叉融合亦有可能带来新的革命，比如纳米颗粒的更小尺寸和特殊结构，可以使治疗癌症更具有靶向性和对癌细胞具有更大的杀伤力，而DNA和某些蛋白质的特殊结构，又可以用于制造许多新的纳米材料和纳米装置。

正是因为生物技术的迅猛发展，催生了“生物技术：遗传革命的应用”一书的出版。该书是由美国南伊利诺斯大学的Clark教授和西南伊利诺斯大学的Pazdernik博士共同撰写的，它是Clark教授所著的“分子生物学：遗传革命的领悟”（Molecular Biology: Understanding the Genetic Revolution，此书的注解版已于2007年由科学出版社出版）的后续技术篇。本书描述了来自遗传革命的信息如何被用来开发出新的生物技术，告诉读者有关生物技术已经拓展的研究领域和途径，及其最新进展。

本书共有25章，涉及到生物技术的基础知识，基本技术，最新技术以及它们的应用领域等各个方面。为了便于不同领域的读者对自己感兴趣的或所从事的研究领域有较深入的了解，我们将本书相关的内容（章节）进行了重新编排，共划分成6个分册，每个分册的篇幅大致相当，内容相近，读者可以根据自己的需求进行选择阅读。

第1分册（原书的第1、2、7、25章）的主要内容有分子生物学基础知识，纳米生物技术和生物伦理学。第1、2章为读者提供了解生物技术所必需的分子生物学基础知识，包括DNA结构、基因表达、蛋白质合成以及用于生物技术研究的各种模式生物。第7章纳米生物技术包括了科学家怎样利用新的纳米结构释放药物，原位鉴定生物分子和制造抗菌材料。同时也展示了纳米生物技术如何将DNA的自组装能力开发成纳米装置，如何用DNA控制蛋白质的形状。对于这个新领域的研究才刚刚开始，有可能会引起新一轮的生物技术革命。现代生物技术的进展引发了许多生物伦理学问题（第25章），如我们是否应该利用现代生物



技术去克隆人类，创制转基因作物，研究人类干细胞？我们的遗传学信息应该向公众公开吗？

第2分册（原书第3、4、5章）的主要内容有重组DNA技术，DNA的合成技术和RNA技术。最基础的DNA重组技术包括核酸的分离，电泳、酶切和重组到分子克隆载体，最后导入模式生物中作深入分析；核酸的检测技术不论用于筛选基因，还是分析基因功能都是非常有用的，它包括利用不同的核酸标记方法所进行的DNA、RNA和差减杂交以及原位荧光杂交等。DNA的体内复制和修复错误对基因生物、原核生物和真核生物都是十分重要的，它们都遵循同样的复制过程；DNA的体外合成技术则包括化学合成和聚合酶链式反应（PCR技术）。RNA技术包括反义技术、RNA干扰技术和核酶技术，除RNA核酶外，也可以通过人工进化的方法获得DNA核酶。这些RNA技术不仅可用于基因功能的研究，而且在不同的应用领域具有广泛的用途。

对第1、2分册内容的熟悉是了解本书其他内容的基础和关键。从第3分册开始，就进入了不同的研究或应用领域。

第3分册（原书第8~11章）的主要内容有基因组学和蛋白质组学技术，重组蛋白质技术和蛋白质工程。在基因组水平上的研究技术包括各种作图法，基因组测序和生物信息学分析，以及利用DNA芯片技术分析基因的表达。在蛋白质组水平上的研究技术包括了不同的分析方法，如蛋白质凝胶电泳，Western印迹，高效液相色谱法，质谱法，蛋白质标识系统，噬菌体展示技术，酵母双杂交技术，免疫共沉淀，蛋白质芯片技术等。重组蛋白质技术就是通过DNA重组技术，使感兴趣的基因能在高效的表达系统中大量表达出有生物学活性的蛋白质。目前所使用的主要表达系统有细菌、酵母、昆虫细胞和哺乳动物细胞，不同的基因需要不同的表达系统。此外，还需要注意基因的密码子偏爱性，表达蛋白质的稳定性和分泌以及糖基化等问题。蛋白质工程是为了使酶获得新的特性，可以采用基因直接进化，DNA重组装等不同分子进化方法改变蛋白质的氨基酸序列，使酶更加稳定，抗逆能力更强，酶的底物范围更宽等。

第4分册（原书第12~15章）的主要内容涉及到环境生物技术，代谢途径工程和转基因动植物。由于环境中的绝大多数微生物至今还难于分离纯化，但它们在净化环境的过程中起着非常重要的作用，因此发展了新兴的元基因组学技术，它不必像传统方法那样每次在实验室里从模式生物中鉴定出一个新基因，而是直接从环境中分离基因组序列，而不必事先鉴定是何种生物。利用DNA重组技术可以改变生物的生化途径，使之更加适用于人类的需求。这些新途径包括淀粉和纤维素的降解，环境污染物的降解，石油的生物炼制以及生物合成等。转基因植物技术包括所用的Ti载体、转化方法和鉴定方法等。目前转基因植物的重点是抗虫、抗逆和抗除草剂。转基因动物包括了诸多技术：用于基础和医学研究的转基因小鼠及其基因敲除，转基因家畜，转基因昆虫，转基因人，以及动物克隆，即转移细胞核。RNA干扰技术在转基因动物中也得到了广泛应用。事实上，自然界中也在不停地发生着转基因和DNA的吞食作用。

第5分册(原书第16~20章)主要内容是与人类健康相关的非传染性疾病的生物技术,包括遗传缺陷和基因治疗,癌症的分子生物学基础,非传染性疾病,衰老和细胞凋亡。人类遗传缺陷的鉴定、定位及缺陷基因的克隆对于遗传病的治疗至关重要。在遗传缺陷和肿瘤的基因治疗中,逆病毒,腺病毒以及一些其他病毒常被用作转运基因的主要载体,也可以利用质粒载体直接注射或用脂质体包裹后导入细胞。癌症的发生与癌基因、原癌基因、肿瘤抑制基因的表达和调控相关,病毒也可以导致癌症发生。非传染性疾病是由基因与环境相互作用所引起的,比如肥胖症、糖尿病。衰老与细胞的程序化死亡是相互关联的,与癌症也有关联。衰老是随着端粒结构的逐步缩短和线粒体功能的衰退而逐渐发生的。

第6分册(原书第6章、第21~24章)重点介绍了免疫技术,由细菌和病毒所引起的疾病以及利用病原菌和病毒作为生物武器,和法医诊断生物技术。免疫技术包括制作研究和疫苗用的抗体新技术,如单克隆抗体,载体疫苗和DNA疫苗。细菌感染的分子诊断方法至关重要,细菌可以产生许多可致病的毒素,如细菌毒素,ADP-核糖基化毒素,霍乱毒素,炭疽毒素等。病毒和朊病毒所引起的疾病以及治疗方法,不管是流感病毒或艾滋病毒所引起的疾病,还是朊病毒所引起的疯牛病,都尤为引人关注。可用于制造生物武器的有细菌毒素和病毒(如炭疽毒素、肉毒素、天花病毒,核糖体失活蛋白等),用于生物武器的探测器和检测方法尤为重要。法医鉴定的生物技术包括DNA指纹图谱分析,PCR技术,这些方法不仅可用于鉴别罪犯,而且也可用于亲子鉴定。

本书有以下几个特点:

1. 内容众多, 范围广泛。本书从最基础的相关分子生物学知识(如核酸的结构, 基因的转录和翻译, DNA的复制等)到专门的分子生物学理论(如癌症和衰老的机理, 病毒和细菌的致病机理); 从最基础的生物技术(如重组DNA技术)到最新的生物技术(如RNAi技术、基因芯片技术、基因治疗等); 从主要依赖于分子生物学的生物技术到多学科交叉的生物技术(纳米生物技术); 从实验室技术到各个应用领域的生物技术(如农业、工业、医学、环境生物技术等)均有所涉及, 内容十分全面。

2. 层次清楚, 系统性强。尽管本书所涉及的知识面广量大, 但作者尽量把最基础的理论和技术进行集中介绍, 然后把不同应用领域的生物技术单独进行描述, 并预先将涉及到的专门理论知识加以解释。作为一本专门的生物技术教科书, 每章都附有进一步的阅读材料, 以便于感兴趣的读者更深入地学习。此外, 全书还附有重要术语的解释。

3. 图文并茂, 易于理解。为了便于读者理解分子生物学和生物技术中难懂的术语和方法学原理, 作者尽量使用浅显易懂的文字描述和大量的彩色图片并配以说明。此外, 每章末尾都有多重选择题, 并在书后附有答案, 便于读者对各章内容的理解程度进行自我评价。

4. 提出问题, 启发思考。现代生物技术所取得的巨大进展也引发了众多的讨论和生物伦理学问题。作者为此专门撰写了一章: 生物技术的生物伦理学。在这一章中, 作者提出了100多个问题, 但没有给出确切的答案, 而是陈述了大量的事实, 引发读者自己去思考, 去解答。现代生物技术的发展, 目前还主要依赖于分子生物学的进展; 而生物技术与其他



学科的交叉和融合,将孕育着新的突破性进展,作者为此也专门撰写了一章:纳米生物技术。尽管该项技术的研究刚刚开始,但它会启发我们不断思考和探索。

因此,本书不仅对生命科学领域的本科生和研究生具有很高的阅读价值,使他们了解到最新的生物技术进展,而且对其他研究领域的科研人员也有十分重要的参考意义,特别是那些拟在多学科交叉领域开展工作的研究者。

该书惟一存在的遗憾是缺乏专门的一章对生物信息学技术进行介绍。作为主要由生物学、数学和计算机科学的交叉和融合而成的技术,就像纳米生物技术一样,它不仅对未来的生物技术发展具有重要意义,而且对新兴的基因组学、系统生物学等学科的发展也具有不可替代的作用。

张义正

2009年4月



第1章 环境生物技术

自然界到处都存在肉眼难以观察到的微生物,但只有约0.1%~1%的微生物能够被培养并被人们所了解。环境生物技术使得未能培养微生物的研究发生了革命,利用元基因组学方法可以跳过单个微生物的培养,专注于对环境中的DNA进行测序。

所谓元基因组学,是对肉眼难以观察的微生物的整个群落的基因组进行研究,采用的方法包括DNA鸟枪测序法、PCR、RT-PCR以及其他一些基因分析方法等。

环境样品中微生物多样性非常巨大,需要对某种特定生物功能或微生物进行富集培养。一种方法是稳定同位素探测法,将含稳定同位素的前体分子加入到环境样品中,活的细菌或病毒将吸收这些前体分子,把同位素整合到细胞或病毒粒子中,然后将这些标记的微生物与非标记微生物分离。另一种方法是差示消除杂交法,利用两个不同区域来源的样品之间存在的基因差异,通过DNA分子杂交,将序列相同的杂交DNA分子去除,保留序列不同未杂交的DNA分子。

元基因组文库所含的基因来自许多不同的微生物。可以利用各种传统的分子生物学方法,如保守序列为引物的PCR法、RT-PCR法、DNA鸟枪测序法、同源序列杂交法、基因芯片法和整合子分析法等,从元基因组文库中筛选新的基因。整合子分析法是利用整合子两侧旁邻已知的59个碱基元件(59-be)序列,设计上下游引物进行PCR,鉴定夹于两旁邻的59碱基元件之间的新基因。

可利用元基因组文库进行功能筛选。鉴定与代谢特异性底物相关蛋白质的方法有两种:表达筛选法和GBA法。采用表达筛选法时,构建元基因组文库时需使用表达载体,该载体具有转录和翻译起始和终止序列。而GBA法文库载体则依赖于插入子上带有的受底物调节的天然启动子,将插入子与一个GFP基因融合,当底物激活天然启动子,GFP就表达产生,发出绿色荧光。从元基因组文库中筛选新的相互作用的蛋白基因还可采用噬菌体展示文库筛选法。

元基因组学的应用改变了生态学的研究领域。元基因组学测序项目鉴定出大大超过预期存在的微生物。通过共生体基因组可以详细研究共生关系。通过极端环境微生物的基因组序列的研究可以阐明其代谢和特征。

环境生物技术一个重要任务是利用生物试剂如细菌来清除受污染区域的污染物,称为生物修复。通过向环境中添加营养物质、氧化剂或电子供体,促进自然发生的细菌生长与代谢,加快污染物的降解和消除,称作生物刺激。向受污染环境中加入特殊的微生物和它们的能源以消除污染物的方法称作生物扩充。



第2章 代谢工程

代谢工程就是利用遗传工程的方法在生物体内构建一个新的或更加有效的代谢途径。

代谢工程可以用作降解作物多糖如淀粉、纤维素等产生燃料乙醇。发酵单胞菌只利用葡萄糖发酵产生乙醇。通过代谢工程,将木糖异构酶基因 $xylA$ 、木酮糖激酶基因 $xylB$ 、转酮基酶基因 $tktA$ 和转醛基酶基因 tal 导入到发酵单胞菌细胞中,重组的发酵单胞菌就能够利用木糖发酵产生乙醇。酵母菌只利用葡萄糖发酵产生乙醇。将葡萄糖淀粉酶或 α -淀粉酶基因通过质粒导入到酵母细胞中,酵母工程菌就能将粗淀粉完全转化成为乙醇。含降解纤维素的葡聚糖内切酶、葡聚糖外切酶、纤维二糖水解酶、 β -葡萄糖苷酶降解代谢工程酵母菌或发酵单胞菌,能将废弃的纤维素原料转化为乙醇。

敲除冰核蛋白基因 $inaZ$ 的代谢工程丁香假单胞菌,喷施到作物叶面可阻止霜冻引发冰晶形成造成的作物伤害。

代谢工程可以用作污染物如芳香环和杂环化合物的生物降解。含萘单加氧酶基因的重组大肠杆菌可将色氨酸转变为染料靛蓝。甲苯/二甲苯降解代谢工程菌大肠杆菌可以降解甲苯、二甲苯及其他芳香族化合物等。含有编码噻吩环脱硫反应基因的代谢途径工程菌可以降解化石燃料中存在的含硫噻吩环化合物。

代谢途径工程菌可以用来合成新的化合物,如甾醇类化合物、 β -内酰胺类抗生素和聚乙酰类抗生素等。PHA代谢途径工程植物可用作合成生物可降解塑料聚羟基脂肪酸酯。

第3章 转基因植物和植物生物技术

转基因作物目的是改良品种,例如培育耐除草剂品种和抗虫品种。

植物细胞具有全能性,可以在液体中进行游离细胞悬浮培养,或者在固体培养基上进行愈伤组织培养。这些培养的脱分化细胞或组织可在激素调节作用下发育成为一株完整植物。

很多转基因植物工作利用农杆菌Ti质粒进行。Ti质粒具有转移DNA(T-DNA)区,T-DNA能够将质粒整合到植物基因组上。在制备转基因植物时需要借助T-DNA,将T-DNA中自身所含的基因剔除,用所感兴趣的的目的基因替代,保留T-DNA两端与转移和整合相关的序列,并在目的基因之前加上启动子,调控基因的开关。

基因枪转化法和花器浸泡转化法是两种常用的将含转基因的农杆菌转化到植物细胞的方法。在花器浸泡转化法中,将生长植物花器官部分浸入到含转基因的农杆菌溶液中。当浸泡后的花器官组织生长发育时,农杆菌侵染组织,将含转基因的T-DNA转移到植物细胞中。这样,部分T-DNA就会进入到正在发育的卵细胞中,发育成为转基因的种子。在基因枪转化法中,基因枪推动T-DNA涂布的钨粒或金粒进入到叶细胞或愈伤组织细胞内,

T-DNA从金属颗粒上解离下来,整合到植物基因组上。可利用报告基因如新霉素转移酶或荧光素酶基因和目的基因一道转化,以鉴定转基因植物。

需要从转基因植物中去除报告基因,因为作物中的报告基因产物在摄食时有可能引起人类过敏。*Cre/loxP*是一套含有重组酶/DNA结合功能域的系统,能引起P1噬菌体的重组。将相应的DNA结合位点加在报告基因前后,就能将报告基因切除。*Cre*重组酶可以通过传统的花粉杂交方法导入到植物体内。

转基因植物在植物功能基因组研究中发挥重要作用。科学家们不断寻找使植物更健康的基因、能增加作物产量的基因,或者赋予植物抗病、抗逆能力的基因。通过将转座子或T-DNA随机插入到植物基因组上,得到各种被破坏的基因类型,再分析转基因植株的表型就可确定被破坏基因的功能。基因沉默方法使用RNAi在植物发育的某个阶段阻遏某个基因的表达,通过分析该基因沉默植物的表型即可确定该基因的功能。中性突变和TILLING也可以产生基因随机突变,收集一套完整的突变体库,对较小的群体表型进行分析,直到找到与最感兴趣的表型相联系的基因突变体,也可确定该基因的功能。

第4章 转基因动物

人类通过选育方法改良动物已有几千年历史。今天,人们则可以通过插入外源目的基因产生改进性状的转基因动物。

转基因动物通常通过将DNA显微注射到受精卵细胞核中而产生。受精卵产生的第一代动物仅具有单拷贝的转移基因,需要进一步培育产生具有相同双拷贝转基因的动物。

在早期的转基因实验中,将兔生长激素基因导入老鼠受精卵中,使其为metallothionein启动子所控制,受微量锌诱导表达,产生了较大体积的转基因老鼠。

可以利用转基因家畜如奶牛和山羊生产重组蛋白质,通过采用合适的表达调控区域,可使重组蛋白只在乳腺中表达合成,存在于乳汁中,可应用于重组蛋白质药物的合成。

基因敲除可以使某种基因失活,在医学上可用作基因功能的研究。

转基因动物也可采用其他方法产生。一种方法是利用逆转录病毒载体将外源目的基因插入到宿主细胞染色体上;另一种方法是将外源目的基因导入胚胎干细胞中。

转基因在染色体上的位置对该基因表达水平具有很大的影响。通过在靠近转移的外源目的基因的地方插入适当的调节序列,可以避免重组位点对表达的不利影响。定向载体可利用同源重组将转移基因插入到宿主基因组的特定位置处。转基因可以利用各种控制系统进行人工调节,如广泛使用的细菌lac和tet调节子。转基因的表达可以由位置特异性重组所控制。控制转移基因的开关的转基因DNA的重排为*Cre*或*Flp*重组酶所启动。

果蝇和其他昆虫中广泛存在的转座子P元件,可用作将转基因DNA导入到昆虫细胞中。不再传播疟疾的工程蚊子正在被构建,其目标是用非疟疾传播蚊子替代野生蚊子群体。



哺乳动物可以通过核移植方法进行克隆，该法将体细胞的核移入到已去核的卵细胞中。克隆羊“多莉”就是动物体细胞克隆的范例。

转基因方法可以改造克隆动物，比传统选育方法能更快产生有用性状的动物。

一种改良家畜的方法就是代谢工程的方法，例如构建必须氨基酸的合成途径。迄今，利用老鼠作为模式生物已经取得了部分成功。

人类克隆不仅受道德问题困扰，也存在重要的技术问题。哺乳动物克隆存在很高失败率，其原因主要可能是由于天然胚胎和克隆细胞产生的胚胎之间的DNA的甲基化形式不同所引起。迄今，灵长类动物还没有被成功地克隆的例子。

利用RNA干扰，例如反义RNA基因或核酶基因的表达，可以降低选择基因的表达。各种RNAi构建子可供利用，有些RNAi构建子可整合到宿主基因组上并进行遗传。

膳食中的一些DNA短片段可以被吸收并整合到宿主染色体上，但这些DNA短片段是否能够被整合到哺乳动物胚细胞染色体上目前还不清楚。

袁 生

2009年4月



生物技术改变了世界,它使许多遗传疾病的病因得到鉴定已成为可能,使人类可以在更高人口密度下生存,因为每公顷土地上能提供更多的食品。现代分子生物学和遗传学的快速发展使我们获得了很多种生物的基因组,包括从病毒和细菌到树和人,这些知识的应用已导致了科学的革命,使其由原来的描述性改变成多种学科,并为人类提供许多新产品,如药物、疫苗和食物。

生物技术为生产具有新功能的蛋白质,甚至具有不同产物的新生化途径开启了大门,有了新的蛋白质和新的生化途径,这就符合逻辑地将这些新功能加入到作物、动物以及患有遗传病的人体中。前不久农学家还主要依赖于绿色指纹获得高产,而今天他们可以利用绿色荧光蛋白来分析转基因作物中的基因表达。产生这些变化的能力将会导致将来更大的变化。生物技术会因为发现了衰老或癌症发展过程中的分子变化而找到长生不老之路吗?这会改变我们治疗疾病的方法吗?会由于发展了新的生物因子而改变战争方式吗?

“生物技术:遗传革命的应用”这本书解释了来自遗传革命的信息如何用于回答上述问题。它告诉读者许多有关生物技术已改变原有研究领域的途径。本书的前几章主要简明扼要地提供了分子生物学基础知识。这些内容在本系列丛书的“分子生物学:遗传革命的领悟”中已作了详细的解释。它使学生回顾基础知识,包括DNA结构、基因表达、蛋白质合成以及大致了解用于生物技术研究的各种生物。接着让学生了解一些用于生物技术研究的基础方法学。第3章(第2分册第1章)解释了核酸是如何分离和克隆到人造的遗传载体,然后引入模式生物作深入分析。接下来的两章更详细讨论了用于研究基因功能的各种技术。第4章(第2分册第2章)侧重于DNA技术,包括体内和体外的DNA合成,以及聚合酶链式反应。第5章(第2分册第3章)侧重于RNA技术,包括反义技术、RNA干扰和核酶。对这几章内容的熟悉是了解本书其他内容的关键。

本书其他各章则是侧重于不同的研究领域,介绍了遗传革命已经彻底改变了这些领域的途径。第6章(第6分册第1章)介绍了产生用作研究和疫苗抗体新技术。第7章(第1分册第3章)则进入了一个不同的领域,即基于纳米尺度的领域。这一章评价了分子生物学将如何会为工作在纳米世界的科学家所改变,如科学家怎样利用新的纳米结构释放药物,原位鉴定生物分子和制造抗菌材料。这一章还展示了纳米生物技术如何将DNA的自组装能力开发成纳米装置,如何用DNA控制蛋白质的形状。这个新的研究领域与分子生物学结合才刚刚开始,在未来的分子生物学课程中将成为重要的内容。

接下来的内容又回到所熟悉的基因组学和蛋白质组学。这些章节强调它们的应用领域和讨论基因组学和蛋白质组学的医学应用进展。蛋白质组学这一章包括了各种分离和鉴定蛋白质的方法,包括新发展起来的质谱技术。蛋白质组学还为下一章作了很好的铺垫,即概述了如何在不同的生物和组培细胞中表达蛋白质来研究它们的功能,接着还介绍了利用蛋白质工程产生具有新特性的蛋白质。

由于单个遗传修饰的蛋白质具有局限性,第12章(第4分册第1章)从实验室转向环境,介绍了新兴起的元基因组学技术。该技术不必像传统方法那样,在实验室里每次从模式生物中只鉴定出一个新基因,而是直接从环境中分离基因组序列,而不必事先鉴定是来自何种生

物。第13章(第4分册第2章)继续介绍新基因功能的研究。这一章介绍了几种利用DNA重组技术改变生化途径的新方法。构建新的蛋白质和新生化途径,只有将它们整合到植物和动物中去才有意义,接下来的两章向学生介绍了转基因植物和动物的最新进展。

接下来的几章侧重于医学领域。第16章(第5分册第1章)介绍了造成遗传缺陷的分子基础,接着进入17章(第5分册第2章)的基因治疗。接下来的几章则分别介绍了癌症的分子基础和非传染性疾病,如勃起功能障碍、糖尿病、肥胖症和衰老。最后,介绍分子生物学在了解细菌病和病毒病方面取得的巨大进展。第21和22章(第6分册第2~3章)使学生知道细菌和病毒是如何使我们的细胞生病,对非同寻常的朊病毒病的最新研究进展也作了介绍,如疯牛病和早老痴呆症。第23章(第6分册第4章)则是基于细菌和病毒致病知识而对生物战争和生物恐怖进行了概述。

第24章(第6分册第5章)概述了遗传革命如何改变了法医学领域,通过分子生物学鉴定罪犯的方法已不可逆地改变了司法系统。不管是新案、旧案还是未破之案,都可以用DNA测试方法进行鉴定,而且比现有的鉴定方法更准确更可靠。DNA在犯罪侦破中的应用已制作成电视系列片广为传播。作为本书的结尾,第25章(第1分册第4章)介绍了生物伦理学问题。与讨论科学方法不一样的是,本章提出了有关这些方法的社会作用问题。我们是否应该利用遗传革命去克隆人类,创制转基因作物,研究人类干细胞?我们的遗传学证据应该向公众公开吗?

“生物技术:遗传革命的应用”一书展示了技术进步和分子生物学革命融合的许多不同途经。将大量信息的加工与对我们人类和其他生物的无穷小的精确分析能力相结合,已经和将要不断改变我们的社会,伦理和个人环境。本书为学生提供了这些已经发生变化的基础知识,希望他们能将知识应用于将来的发展。

(张义正 译)

我们真诚地感谢为本书出版提供资料和建议的个人：Laurie Achenbach, Rubina Ahsan, Phil Cunningham, Donna Mueller, Dan Nickrent, Holly Simmonds, 和 Dave Pazdernik。特别感谢Alex Berezow和Michelle McGehee为本书编写的问题和Karen Fiorino所创作的绝大多数美术作品。

现代生物技术依赖于分子生物学和计算机技术的进步

传统生物技术可以回溯到几千年前，它包括家畜和作物的选择育种，以及酒、牛奶制品、纸、丝绸及其他天然产品的发明。遗传学仅在几个世纪前才作为一个科学研究领域。该领域近来的快速发展，使作物和家畜的育种可以通过精细的遗传操作而不是误差试验来进行。1960—1980年间的绿色革命就是将遗传知识应用到自然育种工作中，特别是在提高粮食产量上取得巨大成功。今天，可以利用遗传工程技术直接改造植物和动物。

目前已构建了几种植物和动物的新变种，有的已在农业中应用。用作人类食物来源的动物和植物正在进行工程改造，使其能适应它们以前不适应的条件。抗病动物和抗虫植物品种也正在开发，以便增加产量和降低成本。这些遗传改造的生物对其他物种和环境的影响是目前争论的问题。

现代生物技术不仅利用了现代遗传学，而且也利用了其他科学领域的进展。例如，处理大量的遗传信息就依赖于计算能力方面的进展。实际上，要是没有更复杂计算机和软件的发展，人类基因组的测序是不可能完成的。有时说我们是处在两个科学革命的中间，一个是信息技术革命，另一个是分子生物学革命。两者都包括处理大量的编码信息，一种是人造的信息，即以任意速率人工编码，其机制是人为的；另一种则是依赖于生命的遗传信息处理。

然而，第三次革命正在发生，即纳米生物技术。这些技术可以观察和操作单个或成小簇的原子，从而为生命系统更精细的分析开启了新途径。纳米技术在生物技术的许多领域正起着重要作用。

这就提出了一个如何精确定义生物技术的问题，对此尚无真正的答案。以前把酿造啤酒和烘焙面包看作是生物技术。今天，现代遗传学或其他相关现代技术的应用常被看作是生物技术的必需过程。因此，生物技术的定义已部分成为一种时尚。在本书中，我们将现代生物技术看作是由传统生物技术与现代遗传学，分子生物学，计算机技术和纳米技术融合而成的技术。

生物技术这个领域的确很大，难于定义。它不仅仅包括农业，它也影响了许多诸如人类健康的医学，如疫苗开发和基因治疗等各个方面。我们已试图提供一种基于遗传信息的融合方法，与此同时，说明生物技术是如何开始扩展到许多人类努力的相关领域，而这种扩展常常是意想不到的。

(张义正 译)



PREFACE

Biotechnology has made the world a different place. Biotechnology has made it possible to identify the genetic causes behind many different inherited diseases. Biotechnology has made it possible for people to survive to a much higher population density by providing more food per acre. The advent of modern molecular biology and genetics has advanced our understanding of the genomes of a wide range of organisms from viruses and bacteria to trees and humans. The application of this knowledge has revolutionized the sciences, changing them from a descriptive nature to a variety of disciplines that provide new products such as drugs, vaccines, and foods.

Biotechnology has opened doors to making proteins with new functions, and even new biochemical pathways with altered products. With new proteins and new biochemical pathways, it seems only logical to find ways to incorporate the new functions into crops, into animals, and, it is hoped, into people with genetically based illnesses. Only a short time ago, agriculturists largely relied on green fingers to get good yields; today they use green fluorescent protein to assess gene expression in transgenic crops. The ability to make such direct changes will result in major changes for the future. Will biotechnology find the proverbial fountain of youth by identifying the molecular changes that cause us to age or develop cancer? Will it change the way we treat diseases? Will the way we wage war change with the development of new biological agents?

Biotechnology: Applying the Genetic Revolution explains how the information from the genetic revolution is being used to answer some of these questions. It informs the reader about the many avenues where biotechnology has changed the original field of study. The first few chapters provide a clear and concise review of the basics of molecular biology. These topics are explained in more detail in the first book of this series, entitled *Molecular Biology: Understanding the Genetic Revolution*. This review will take the student through the basics, including DNA structure, gene expression, and protein synthesis, as well as survey the variety of organisms used in biotechnology research. The student is then presented with the basic methodologies used in biotechnology research. Chapter 3 explains how nucleic acids are isolated, cloned into humanmade genetic vehicles, and then reinserted into one of the model organisms for in-depth analysis. The next two chapters discuss in more detail various techniques that have been developed to investigate the function of genes. Chapter 4 focuses on DNA, dealing with both *in vivo* and *in vitro* synthesis of DNA and the polymerase chain reaction. Chapter 5 focuses on RNA, explaining antisense technology, RNA interference, and ribozymes. Familiarity with these chapters is critical to understanding the rest of the textbook.

The remaining chapters focus on different fields of research, presenting some of the ways the genetic revolution has irreversibly changed these areas. Chapter 6 begins this approach by presenting newer techniques to generate antibodies for genetic research and for creating new vaccines. Chapter 7 delves into a different realm, one based on the nanoscale. This chapter evaluates how molecular biology will be changed by the ability of scientists to work in the nanoscale world. It discusses how scientists are using novel nanoscale structures to deliver drugs, identify biological molecules *in situ*, and manufacture antibacterial materials. The chapter illustrates how nanobiotechnology exploits the self-assembly property of DNA to create nanodevices. It shows how DNA can physically control the shape of proteins. This new field of research is intimately intertwined with molecular biology and will only become a stronger component of molecular biology courses in the future.

