生 物 工 程

生物工程概论

【生物工程】研究和利用有生命物质的特性来改造自然现象的过程。主要包括两个方面：1. 利用有生命物质的特性进行工业化生产，如微生物发酵、酶工程等；2. 在对有生命物质的特性的研究基础上，对生命物质进行改造过程，如医学工程、农业工程、细胞工程等。生物工程真正开始于 20 世纪 40 年代，是随着抗生素发酵工业的发展而兴起的。50 年代以后，随着 DNA 分子结构的发现、遗传密码的揭示及重组 DNA 技术的实现等一系列科学上的突破，导致了分子生物学的形成，而分子生物学的形成过程，本身就是生物工程发展的结果。生物工程是一个复杂的科学技术群，学科主要包括：基因工程、发酵工程、细胞工程、酶工程、医学工程以及生物成分和结构分析等。生物工程是分子遗传学、生物化学、微生物学、化学工程和加工工艺学的综合，广泛应用于医药、食品、农林、能源及环保等方面。目前，利用生物工程技术在医药方面生产了胰岛素、单克隆抗体等药物，食品方面生产了单细胞蛋白质，在环保方面生物工程已用于土壤污染、水污染等的防治，同时人们对生物燃料电池等新型能源也在加紧研究。生

物工程技术与电子技术、新材料技术一起构成新技术革命的三大支柱，对人类社会具有深远的影响。很多国家对生物工程都投入了很大的人力、物力，可以预见，在未来的几十年中，生物工程将会更迅猛地发展。

【微生物工程】见“发酵工程”。

【发酵工程】利用微生物的某种特性，通过现代化工程技术手段进行工业规模生产的技术。是生物工程的重要组成部分，很多生物工程都要通过发酵工程来实现。现代发酵工程萌芽于第一次世界大战，20 世纪 40 年代以后，随着抗生素的大批量工业化生产而得到迅速发展。50 年代以后，分子生物学和基因工程取得了巨大进展，为发酵工程提供了先进的育种技术，导致了胰岛素、干扰素、疫苗等的工业化生产。发酵工程具有可在常温常压下生产、环境污染少、反应专一性强等优点，广泛应用于医药、食品、化工生产等方面。

【细胞工程】在对细胞培养过程中对细胞进行一定的改造，以得到所需要的生物新品种（表现型）的技术，是生物工程的一个重要分支。主要方法有细胞融合、杂交、单克隆抗体技术、细胞器移植、细胞和组织培养等。细胞工程在改良生物品种，加速动植物繁殖，培养对人类有益的新物种等方面，有着广泛的发展前景。

【基因工程】又称遗传工程或重组 DNA（脱氧核糖核酸）技术。将不同生物基因段经过酶切，通过病毒、质粒等载体连接，构成新的基因段，然后转入受体细胞中，使外源基因在受体细胞中得到

增殖和表达，从而改造现有的生物类型及其机能的技术。形成于20世纪70年代，它能将人的生长素、胰岛素和干扰素等移入细菌中，并获得功能表达。应用此技术，农业上可培养出新的作物品种，医学上可用于遗传病的防治，工业上则可培育出高效菌种等。基因工程技术具有目的性强、速度快、产量高和遗传性状稳定等特点，因而具有广泛的应用前景及发展前途。

【酶工程】利用活细胞产生的酶在分离状态下仍具有催化作用的性质，将酶用于工业化生产的技术。主要包括酶的生产、分离、纯化、固定化酶的制备和利用及酶反应器的应用技术等。酶工程是酶学原理与化工技术相结合而形成的应用技术。主要应用于食品生产、能源转换和贮存、环境保护等方面，具有广阔的前景。

【生物化学工程】简称生化工程。应用化学工程的理论和方法，研究发酵及酶反应生产过程的技术。20世纪初形成的交叉学科。早期的生化工程，主要研究生物反应过程中带有共性的技术问题，包括：(1) 生物反应前（即上游加工），原材料的化学预处理及培养基的配制和灭菌（包括物料破碎、混和及输送等）；(2) 生物反应中（即中游加工），目标产物的生化反应特征（包括细胞的生理特性、繁殖规律、产品形成条件及机械对细胞的影响等）、培养过程中氧和基质的供需和传递、无菌空气的供应（包括空气压缩、预处理、无菌过滤等）、参数检测和控制；(3) 生物反应后（即下游加工），从反应液中提取并精制出达到质量要求的目标产物。随着新一代生物工程产品的出现，当代生化工程研究的主要内容包括：开发针对基因工程产品等的新型生物反应器，如适应高粘度、高密度发酵或培养的反应器，特大型高效节能反应器等；研究已有

反应器的混和、传递特性，以求改进及放大；开发针对蛋白质、多肽等产品的新型分离方法和设备；建立各种描述生化反应过程的数学模型（根据发酵或培养的不同周期分别建立），以利于用计算机进行过程控制和优化；改进反应过程的控制手段（包括研制反映重要参数的传感器，完善计算机控制系统的软件和硬件等）。

发 酵 工 程

【发酵】在微生物能量代谢中，某些微生物（专性厌氧微生物和兼性厌氧微生物）在无氧条件下分解各种有机物产生能量的过程。在工业化生产中一般泛指利用微生物在有氧或无氧条件下的生命活动制造工业原料或工业产品的过程，如抗生素、氨基酸、多糖或其直接、间接代谢物产物，如酒等的过程。古代时发酵仅指酿酒的过程。

【生化反应器】又称生物反应器。是发酵工程和酶工程中进行生物化学反应的场所。其中应用于发酵工程的生化反应器称为发酵罐，应用于酶工程的生化反应器称为酶反应器。一般化工生产均需在高温、高压下进行，而生化反应器则是利用酶和细胞在常温常压下进行化学反应的装置，因此生产成本大大降低，而生产效率则有较大幅度的提高。生化反应器按其中所进行的生化反应状态可分为均相反应器和非均相反应器，按反应器输入机械功率的来源

可分为机械搅拌式、鼓泡式和环流式三类，按其运行方式又可分为间歇式反应器和连续式反应器。生化反应器广泛用于医药、食品等生产领域。

【发酵罐】一种生化反应器。具有严格的灭菌环境，由罐体、通风搅拌装置、消泡器、冷却装置及自控仪表等组成，在化学工业、食品工业、环境工程等领域应用广泛。

【分批发酵】将营养液装入发酵罐中，然后接种，再进行发酵，发酵完成后，倒出发酵液，装入新的营养液，接种，再发酵的过程。

【半连续发酵】发酵完成后，将发酵液的一部分留在罐内，并加满新的未接种培养基，再发酵的过程。如深层发酵制醋就是采用此方法。

【连续发酵】将新的营养液不断加入发酵罐中，同时不断从发酵罐中放出发酵过的基质的过程。连续发酵可分为：(1) 单级连续发酵，只用一个发酵罐，优点是简单，适于微生物的生长及对生长过程中相关发酵产物的获得；(2) 多级连续发酵，使用一系列发酵罐，不断的往第一罐中加入新基质，接着溢流入第二罐中，进一步发酵，再溢流入第三罐、第四罐等，在连续发酵系统中，底物能被很好地利用，且能获得微生物缓慢生长阶段中形成的代谢产物，其优点还有简化工艺、节约劳动力、提高生产效率、降低成本及便于实行自动化生产等。连续发酵系统又可分为开放式系统（微生物细胞不断随液体流出）及封闭式系统（微生物细胞由半透膜阻隔或100%返流），严格控制连续发酵过程的系统有恒化

器及恒浊器等。可用连续发酵的方法生产酵母、酒精等。

【发酵产物提炼】用分离、沉淀等方法回收发酵产物的操作。提炼方法有：(1) 离心分离法，用离心机分离发酵液中的菌体及残渣，由于分离菌体的目的不同（有些要被弃去或综合利用，有些回收后，经过适当处理制成产品），所以要采用不同类型的离心机，如供酶学研究用的离心机应为高速冷却离心机；(2) 过滤法，由于各种微生物具有自己的发酵液特性，如粘度、菌体的沉降性及凝聚性等各不相同，所以要采取不同的过滤方法（如对于易过滤的酵母，可以在用高速离心机分离出大部分水后，再用板框压滤机过滤），常用的过滤设备有板框压滤机及转鼓式真空吸滤机；(3) 盐析法，适用于含酶等高分子蛋白质和肽类的发酵液，盐析时对原有培养液的 pH 影响不大，不必调整，但最适温度要依酶的种类及其耐热性进行调整，盐析法的优点是酶不会因盐析而失活，且调整无机盐的饱和度可使异种蛋白质分级沉淀；(4) 有机溶剂沉淀法，有机溶剂有挥发性，是制造食用酶制剂的最好方法；(5) 沉淀法，最常用的是等电点法，缺点是与目的物结构相似的不纯物会随同沉淀，因此必须经过后处理，但由于此法操作及设备简单，故还在应用之中；(6) 吸附法，所用吸附性载体有离子交换树脂、活性炭、活性氧化铝等；(7) 萃取法，由于操作条件温和，操作时间短，因而所得产物质量较好，适于分离一些不稳定物质；(8) 喷雾干燥法，适用于难于过滤的发酵液。

细 胞 工 程

【染色体工程】有目的地替换、添加和消除生物染色体的技术，用于改良品种和探索物种起源。

【动物细胞工程】应用细胞工程原理，在细胞整体水平（细胞融合）、核质水平（核移植）、染色体水平（改变染色体倍性或组成）及基因水平（导入外源基因）上对动物细胞进行遗传操作的技术。其中染色体水平上的操作技术可分为两类：(1) 有目的地消除或添加某种生物的特定染色体，或同别的生物的染色体进行置换或改造；(2) 增加或减少某个生物体内的整套染色体组数。在细胞融合方面，淋巴细胞杂交瘤技术已经普及，其产物单克隆抗体已进入产业化生产阶段。动物（哺乳动物及鱼类等）的大量培养及无血清培养，是动物细胞工程的一个重要研究方面。动物细胞工程的目的是为了生产特定的生物产品、培养新品种及快速繁殖。

【动物细胞培养】把动物细胞置于一定条件的培养基中进行培养的过程。培养基的基本营养成分有无机盐、氨基酸、维生素、激素、核苷酸、脂肪酸和甾类化合物等。为了减少微生物引起的污染，需在培养基中添加抗生素。为促进细胞繁殖，增强细胞对机械力的抵御作用，还需在培养基中加入动物血清。含血清的培养基价格

昂贵，且带有一些麻烦问题，因而无血清培养基得以发展应用。由于动物细胞无细胞壁，在反应器的搅拌中易受损伤，所以要限制搅拌强度。另外，某些动物细胞生长时，必须附着于适当的固体表面，因而培养这类细胞所用的设备须特殊设计。通过动物细胞培养可以生产病毒疫苗、干扰素、单克隆抗体、激素、酶及免疫制剂等生物产品。

【植物细胞培养】把从植物体内分离出来的植物细胞置于培养基中进行培养的技术。培养基的基本营养成分是无机盐及蔗糖、葡萄糖等。为了加快植物细胞的生长速度，可在培养基中加入植物激素、维生素及氨基酸等植物生长调节因子，还要向培养系统内通入空气，使繁殖过程中有足够的氧气，通过培养可使植物细胞分化后长出完整的植物个体。利用这种方法可使不能进行无性繁殖的植物易于繁殖。应用于植物育种中，可缩短优良品种的培育周期。并且利用植物细胞培养技术，还可生产多种次生物质，对工业、制药业有重要意义，如生产多种药物、染料（如紫草宁）、植物碱、杀菌剂及香精等，而且由于不受环境因素的限制，可有计划地可靠地供应各种产品。

【植物试管繁殖】通过组织培养，对植物进行快速无性繁殖的技术。繁殖的植物称为试管苗。具有繁殖率高、无菌、繁殖无季节性等特点，可用于繁殖自然繁殖率低的植物、濒临绝种的植物、自交不亲和系植物、雄性不育系和三倍体及多倍体等植物，并且能够快速培育优良品种，加快引种、育种及良种推广的进度。还可以大量繁殖去病毒植株，达到强壮种性的目的。同时也是突变体的诱变及筛选、体细胞杂交、遗传基因导入等技术中不可缺少的基

础操作程序。在花卉、林木、农作物、药用植物等方面的应用已有很大进展。但成本高、技术性强，妨碍了它的进一步推广与广泛应用，并且具有植物全能性的表达受试管植物的品种和部位的限制、试管苗易产生不良变异、局部可出现未知不良性状的携入、去病毒的不完全性等客观存在的缺点，因此必须谨慎对待。在大批推广生产前一定要进行严格的免疫检查及品质鉴定。将试管繁殖法与各种常规繁殖法相结合，可以克服上述缺点，发挥优点。降低成本、完善工艺流程、控制不利变异、改进去病毒的方法等，是今后要研究的主要问题。

【植物原生质体培养】将植物细胞中通过质壁分离得到的原生质体置于适合的培养基（液体或琼脂等）中分裂、生长的过程。可通过改变培养基（如改变激素等）而使其再生细胞壁，形成愈伤组织，经诱导分化后可再生完整的植株。由于植物原生质体仍进行着各种基本生命活动，如光合作用、呼吸作用、蛋白质及核酸合成等，所以利于细胞生理问题的研究，且可以进行诱导融合、引入细胞器、大分子等，便于各种细胞操作及遗传操作。培养原生质体的培养基多以细胞培养或组织培养的培养基为参照，再加入渗透压稳定剂、生长素及激素等制成。培养方法有固体平板培养法、双层培养法、固体小块培养法及混合培养法等。可用于花卉、观赏植物的培养及农业、制药业等方面。

【细胞融合】用自然或人工方法，使两个或多个不同的细胞融合成一个细胞的过程。细胞融合后，一个细胞便含有两个或几个不同的细胞核，称为异核体。少数异核体能够发展演变成合核体的杂种细胞，故又称为体细胞杂交。细胞融合现象是 1960 年首次发现

的，1965 年人们有目的地诱导产生了第一个异核体。此后人工诱导细胞融合的方法，即被广泛地应用于种内、种、属、科以至动植物之间的杂种细胞构建，并迅速发展成为一门前景广阔的细胞工程技术。细胞融合的基本技术有：(1) 融合法，细胞在体外培养条件下自发融合率极低，一般要添加能够诱导细胞融合的融合剂（融合剂有病毒融合剂和化学融合剂）或采用电融合技术（电融合是用电场诱导细胞融合，1979 年开始采用，它的融合率可高达 50—80％，且可在显微镜下定向诱导细胞融合和直接挑选杂种细胞，因而受到人们的重视，80 年代末已有商品电融合器出售，前景诱人）；(2) 杂种细胞筛选，把含有两亲本细胞染色体的杂种细胞分离或筛选出来，筛选办法有由抗药性细胞组成的杂种细胞筛选，由营养缺陷变异型细胞组成的杂种细胞筛选和由温度敏感突变型细胞组成的杂种细胞筛选。细胞融合技术已应用于基因定位、体细胞杂种的致瘤性分析、遗传缺陷的基因互补等生物学的基础理论研究及工、农、医等方面。

【细胞杂交】将带有不同基因型的细胞融合，形成基因重组后的杂种细胞的技术。用于研究在遗传信息传递和表达过程中细胞核和细胞质所起的作用。在农业生产中可用于培育新品种，以期提高产量和改进品质。

【细胞拆合】在一定条件下，将从不同细胞中分离出来的细胞器及其组分进行重组，再装配成具有生物活性的细胞或细胞器，以期创造出具有特定性状及功能的工程细胞。细胞拆合主要研究：(1) 细胞器装配，其装配的主要原则是要形成大分子内聚力最稳定的结构，对于核糖核蛋白体、线粒体的装配已取得了初步成功；

（2）细胞装配，开始于细胞核的移植，并在哺乳动物单本纯系的选育上获得成功；（3）胞质杂种细胞研究，胞质杂种细胞是不同种系之间的一种真正的新型细胞，在适宜的条件下能成功地生存下去，这方面的研究试验进展很大。上述研究的开展，不仅对农、林、牧、鱼的育种工作，对医学，乃至对进一步阐明生命奥秘的理论等重大问题有极重要的意义。

【原生质体融合】两种菌株分别通过酶解除细胞壁，释放出原生质体，而后两者在助融剂作用下相互凝集，细胞膜融合，基因组交换，实现遗传重组，经再生细胞壁后形成新细胞。具体步骤是：（1）选出两个带有标记的亲株，要求其性能稳定，以利于融合子的选择，标记多采用营养缺陷型或抗药性标记；（2）两亲株分别制备原生质体，用酶分别处理两亲株，使细胞壁全部消化或薄弱部分破裂，让原生质体从细胞内逸出到高渗缓冲液或培养基中，以防止原生质体的破裂；（3）融合两种原生质体，将两种原生质体等量混合后，加入聚乙二醇（助融剂）进行融合，融合的频度受各种阳离子的存在及浓度的影响，与融合液的 pH 也有关系；（4）原生质体再生，失去细胞壁的原生质体仅有一层细胞膜，它具有生物活性，但在普通培养基上不能生长，必须置于再生培养基（再生培养基主要有高渗培养基等）上使其再生，恢复细胞功能；（5）融合子的选择，主要依靠选择培养基上的遗传标记，当两个遗传标记互补时，即可确定为融合子，其中可能产生具有良好生理特性或高产质量的优良杂种细胞。可用于菌种改良等。

【细胞生长因子】在体内及体外对动物细胞生长有促进作用的非营养型物质。包括负性细胞生长因子，即细胞生长抑制因子。多数

需要全本请访问 www.ertongbook.com

细胞生长因子是蛋白质或多肽。许多生长因子在靶细胞上有特异性受体。大多数生长因子具有量微、活性高的特点。不同的生长因子可通过不同途径调控细胞的生长繁殖。对细胞生长因子的研究，除寻找新的生长因子外，主要致力于以下几个方面：(1) 分子的类比，找出分子结构、组成与生物活性的关系；(2) 作用机制；(3) 在细胞周期中的作用点；(4) 作用细胞的特异性；(5) 对分化的作用。研究细胞生长因子有助于阐明胚胎发育、组织和器官发生、创伤愈合等方面的问题；在临床上，可用检测生长因子的方法，辅助诊断相关疾病，如检测肿瘤细胞的生长因子，可以早期诊断癌症；对研究药物作用机理及畜牧业等都有重要意义。

【单克隆抗体】由杂交瘤细胞的细胞株产生的抗体。杂交瘤细胞由一种肿瘤细胞与一种产生抗体的细胞融合而成。淋巴细胞可产生特异性抗体，而肿瘤细胞可以在体外无限繁殖，将两者结合，就可得到杂交瘤细胞。让杂交瘤细胞在一定条件下进行体外繁殖，即可得到人类所需要的某种抗体。单克隆抗体是 1975 年由免疫学家米尔斯坦和柯勒用 B 淋巴细胞和小鼠骨髓瘤细胞在特定条件下融合而得到的。单克隆抗体具有纯一性，可用于进行高灵敏度的诊断分析、提取及纯化蛋白质和激素及诊治某些癌症等。

【培养基】人工配制的能维持微生物生长和繁殖的混合物质。根据微生物对营养的要求，培养基一般都包括水分、碳源、氮源、无机元素及生长素等五大类物质，还要有一定的酸碱度及渗透压。不同种类的微生物所需要的培养基不同。如自养菌的培养基中不能含有机化合物，而异养菌需要有机化合物作碳源及能源。即使是同一菌种，不同的使用目的所要求的培养基也不一样。按物理状

态培养基可分为固体的、半固体的及液体的。按营养物质的来源，可分为天然的、半合成的及合成的。按使用目的，可分为基础培养基、限定培养基、选择培养基及增殖培养基等。配制培养基必须注意以下几个问题：（1）营养成分的恰当配比；（2）渗透压；（3）pH 值；（4）氧化还原电位（对一般微生物的生长影响不大，但对专性厌气细菌，自由氧的存在对其有毒害作用，须加入还原剂以降低氧化还原电位）。培养基除对微生物具有培养功能外，还可用于微生物的分离、鉴定及保藏等方面。

【脂质体】人工模拟原生质体。磷脂悬浮于水中，在适当条件下进行高能声波处理，磷脂分子群密集成小泡状膜囊。它能携带和传递生物大分子，且无毒性，在药学、生物学、分子遗传学等方面能起重要的作用。

【杂种细胞测定法】定期检测杂种细胞有用性状的方法。分为：（1）免疫学反应，检测杂种细胞表面或基因表达产物蛋白质、酶、多肽；（2）遗传标记，检测杂种细胞的抗药性和营养缺陷型等细胞遗传性质；（3）核酸分子杂交，检测杂种细胞核 DNA 的碱基顺序。这些方法都具有准确、快速、重复性好等特点。

【杂种细胞筛选】在杂种细胞的培养过程中，利用选择性培养基，杀死两种亲本细胞融合后形成的两种同型融合细胞，以及这两种亲本细胞，使剩下的异型融合细胞仍具有生长、增殖能力，从而被选择出来的过程。要注意选择合适的亲本细胞及筛选方法，如抗药性选择、营养缺陷型选择等。

基 因 工 程

【植物基因工程】将分子生物学、基因操作技术与常规遗传育种方法相结合，把原来不同的基因组合到同一细胞中，以获得有价值的新型再生植物的工程。主要研究内容是：分离有用基因，寻找或创建克隆载体，使有用基因在寄住细胞中得到表达，通过培育，得到植株个体。可用于快速创造新的农作物优良品种。

【基因重组】将目的基因和载体DNA（脱氧核糖核酸）分子经过酶的作用组合在一起，得到新的DNA分子的过程。基因重组的主要工作是载体选择和载体与目的基因的连接。目前常用载体为细胞质粒、噬菌体和病毒等。载体DNA分子与目的基因的连接是在限制性内切酶等一系列酶的作用下完成的。基因重组是基因工程中的关键性内容，利用基因重组技术生产人生长激素已获成功。

【遗传基因操作】在分子水平上对遗传结构进行修改和重组，以改变生物的遗传性状的技术，将外源基因通过离体细胞融合或DNA（脱氧核糖核酸）分子转化等技术，重组到受体细胞基因组中，或将其独立地在受体细胞中复制、表达，再通过无性或有性增殖过程，将外源基因遗传给后代。遗传基因操作技术包括特定基因、基因组的鉴定、分离、重组及转移，基因运载体的修饰及外源基因的表达和调控等。

【基因检测】脱氧核糖核酸（DNA）分子引入宿主细胞，产生大量重组体细胞，从中检测出含有目的基因的细胞。常用方法有：（1）遗传学方法，通过细胞繁殖，以目的基因是否得到表达为标准，测定细胞中是否含目的基因；（2）免疫学方法，以目的基因产物作抗原，以其产生的免疫血清作抗体，通过抗原抗体反应进行检测，具有专一性强、灵敏度高的特点；（3）核酸分子杂交法，以含目的基因的放射性标记的 mRNA 作探针，与 DNA 分子杂交，以检测出该 DNA 分子上是否含目的基因。基因检测的前两种方法都需要目的基因得到表达才能实现，因此有较大局限性。

【DNA 提取】用化学试剂、电泳等物理、化学方法获得单纯脱氧核糖核酸（DNA）的技术。方法有酚提取法、煮沸提取法、甘油提取法等。

【DNA 体外重组】在体外对特定的外源 DNA（脱氧核糖核酸）片段和载体 DNA 分子实行共价连接，形成杂种 DNA 分子的过程。其方法有：（1）粘性末端连接，用同一种限制酶消化载体及外源 DNA 分子，产生粘性末端，将这两种分子混合，相同的粘性末端可以使它们相互粘接，再用 DNA 连接酶封口，即可获得重组 DNA 分子；(2)钝端连接，化学合成、机械剪接及酶促合成的 DNA 片段没有粘性末端，用加多聚物或加带某种限制酶切点接头的方法，经过处理，可把钝端变成粘性末端再连接。受体细胞可以是微生物细胞、动物细胞或植物细胞。重组 DNA 的主要目的是：（1）扩增特定 DNA 序列；（2）检查特定基因在异源细胞中的表达情况。DNA 重组对研究基因的结构、表达及其调控意义重大。

【DNA 标记】被核酸限制酶切割的 DNA（脱氧核糖核酸）片段与特定的聚合酶混合，在一定反应条件下，所生成的带有该聚合酶标记的 DNA。

【DNA 物理图谱】又称限制性图谱。标有限制性核酸内切酶在 DNA（脱氧核糖核酸）分子上的限制位点数目、限制片段大小及排列顺序的图谱。组建方法有部分消化法、双酶消化法、内外切酶混合消化法和分子杂交法等。用于研究基因的定位、转录、分离、分子杂交及克隆转化等。以内外切酶混合消化法为例，其基本原理是：先用一种外切核酸酶消化 DNA，将 DNA 从末端不同程度的截短，再用限制性内切酶消化此 DNA，由于各限制片段是从末端开始，顺序消失的，因而根据各个片断消失的先后，可准确地排出 DNA 的物理图谱。在各种方法中，部分消化法和双酶消化法操作简单，但不够精确，由于条件要求不高，仍然应用较广。其他方法正好相反，难以普及。

【DNA 序列测定法】以核酸酶学和生物化学为基础测定 DNA（脱氧核糖核酸）分子中核苷酸排列顺序的技术。从分子水平研究基因的结构和功能间的关系，是 20 世纪 70 年代发展起来的，常用的两种测定方法是：Sanger 双脱氧法及 Maxam-Gilbert 化学修饰法。

【基因载体】在基因工程中，将目的基因转入宿主细胞 DNA（脱氧核糖核酸）分子的运载工具。基因的转运，是通过在载体自身的 DNA 分子核酸序列中插入外源 DNA，然后进入宿主细胞进行

DNA 复制，载体自身复制的同时，外源 DNA 分子也获得了表达。作为基因载体，必须具备以下条件：（1）易于制备、分离、纯化；（2）能在宿主细胞中进行独立和稳定的自我复制，不与宿主染色体重组，不诱导变异；（3）具有可观察的表现型；（4）宿主范围小，不会导致泛滥。目前常用的基因载体有细菌质粒、噬菌体和病毒等三类。

【质粒】细胞中一种能独立复制的染色体外的遗传物质。一般为环状双链 DNA（脱氧核糖核酸）分子。质粒同染色体分开，不影响宿主细胞的活动。细胞分裂时进行复制，不受染色体控制，可以复制多于染色体数的质粒。由于质粒的这一独特性质，基因工程技术中将其用作基因载体，即先将质粒进行改造，带上所要表达的基因，再转移到宿主细胞中，因而得到人们所需的产物，用大肠杆菌生产胰岛素就采用此法。

【噬菌体】又称细菌病毒，是以细菌细胞为宿主的一种病毒。噬菌体由核酸和蛋白质构成，非完全细胞，依靠宿主细胞的合成机构进行本身的核酸和蛋白质复制，通过裂解细菌得到多数子代噬菌体。由于噬菌体的特性，在基因工程中已被作为基因的运载工具。研究人员将有用基因加载到噬菌体上，使其进入宿主细胞进行繁殖，得到需要的生物表现型。现在使用的噬菌体载体都是经过加工改造的，如 λ 噬菌体载体、单链噬菌体载体等。

【工具酶】在细胞的核酸代谢过程中，尤其在核酸复制和修复反应中起重要作用［区别非已 DNA（脱氧核糖核酸）以及降解非已 DNA］的一类酶。研究人员利用这些酶对基因进行剪切、修饰操

需要全本请访问 www.ertongbook.com