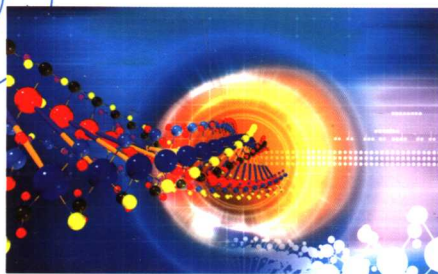
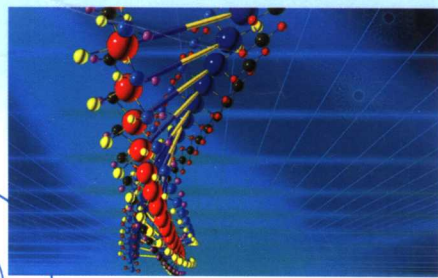


基因工程

◎ 彭银祥 李 勃 陈红星 主 编

Gene engineering



华中科技大学出版社

[http:// www.hustp.com](http://www.hustp.com)

基因工程

主 编 彭银祥 李 勃 陈红星

编 委 (按姓氏笔画排序)

方 浩 王 珊 王亚芬 王艳林

邓政东 刘世轩 李 勃 李建华

杨 洁 陈红星 周 焱 罗才波

黄培堂 彭银祥 韩佳嘉 程爱芳

谭泽芳

主 审 邓继先 (中国人民解放军军事医学科学院)

华中科技大学出版社

内容提要

本书从基本理论 and 应用两个角度入手,较为系统地介绍了基因工程的基础理论、原理和重要的应用领域。

全书共分上、下两篇,共15章。上篇第1章~第10章,包括绪论、基因工程的分子生物学基础、基因工程工具酶、基因操作的主要技术、基因工程载体、目的基因的分离与克隆、基因的体外重组与转化、重组体的筛选和鉴定、克隆基因的表达及其产物的检测和基因工程安全与规范;下篇第11章~第15章,包括转基因动物技术、转基因植物、基因工程药物、基因芯片和人类基因组计划等内容。

作为一部教材,本书兼顾理论和应用,内容丰富,深入浅出,图文并茂,可作为高等学校生物工程、生物科学及生物技术类专业的教材,同时也可作为从事该领域工作的有关人员阅读的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

基因工程/彭银祥 李 勃 陈红星 主编. —武汉:华中科技大学出版社,2007 年 3 月

ISBN 978-7-5609-3974-2

I. 基… I. ①彭… ②李… ③陈… III. 基因-遗传工程 IV. Q78

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第023186号

基因工程

彭银祥 李 勃 陈红星 主编

责任编辑:张 琼

封面设计:刘 卉

责任校对:陈 骏

责任监印:熊庆玉

出版发行:华中科技大学出版社

武昌喻家山 邮编:430074 电话:(027)87557437

录 排:北京搜获科技有限公司

印 刷:华中科技大学印刷厂

开本:787×1092 1/16

印张:20.75

字数:456 000

版次:2007年3月第1版

印次:2007年3月第1次印刷

定价:31.00元

ISBN 978-7-5609-3974-2/Q·23

(本书若有印装质量问题,请向出版社发行部调换)

序

自 20 世纪 70 年代初成功实现基因重组、导入异源细菌内表达出外源目的蛋白后, 基因工程技术如火山爆发一样显示出巨大威力。这项技术使原来在人、动物、植物及微生物等生命体中含量极微的蛋白质能够在细菌及其后的其他系统中得以高效表达且易于获得高纯度的物质。这使得基因工程药物、基因工程疫苗和基因工程诊断试剂等如雨后春笋般出现, 使制药行业发生了革命性的变化, 给人类健康带来巨大利益。基因工程技术的发展使得人们能够按照自己的意愿进行分子设计, 改造原来物质性质, 甚至制造出新的生命体; 同时由于这些功能蛋白、调控因子等能够大量制备, 使得生命科学的研究更加深入, 生命的奥秘被逐渐揭示。目前随着人类基因组全序列的完成以及植物、动物和微生物等基因组序列的破译, 功能基因组、蛋白质组学的发展, 基因工程技术将发挥更大更强的功能和作用。

基因工程技术是以生物化学、细胞生物学、分子遗传学和分子生物学等为基础的, 随着这些学科的发展, 基因工程技术将更加完善。基因工程技术本身也正在高速发展中, 新的工具酶不断被发现、新的载体不断被构建、受体细胞不断被改造以及新的转化技术、重组体筛选和鉴定技术等, 均使得基因工程不断迅速发展, 也使其应用的范围更加扩大。同时随着该技术的发展, 极大促进了相关学科研究的深入, 使其理论更加丰富。

我国从 20 世纪 70 年代中期即开始基因工程研究, 特别是实施“863”等计划后使其得到迅速发展, 相继在医药领域、农业领域取得令人瞩目的成就, 研制出一批基因工程药物、基因工程疫苗、基因工程诊断试剂、转基因动物和转基因植物等。之所以取得这些成就, 最重要的原因是我国培养并拥有一大批专业技术人员。多年来, 基因工程的理论和应用一直是大学相关专业的教学内容, 也有相应的教材。鉴于目前新的进展和根据生物类课程的需要, 一些从事相应专业教学和科研的年轻学者编写了本书。作为一本新的教材, 可以使学生从中获得必要的基因工程基本理论知识, 了解其发展前沿和主要的应用领域, 同时也可作为刚参加工作从事该领域的科技工作者的参考书。

黄培堂 教授
黄翠芬 院士

中国人民解放军军事医学科学院
2006 年 11 月

前 言

1973 年, 美国生物化学家科恩(S.Cohen)等将体外重组的 DNA 分子导入大肠杆菌中进行复制, 从此拉开了基因工程的序幕。基因工程在它走过的 34 年中, 创造了无与伦比的辉煌成就。

21 世纪是生命科学迅猛发展的世纪, 基因工程、克隆技术的不断突破, 使人类数千年来的梦想正在逐一变成现实。基因工程是人类生命科学发展史上一座伟大的丰碑。作为现代生物工程技术的核心和主导学科, 它在工业、农业、医药、国防、能源和环保等诸多领域取得了累累硕果, 对人类社会的发展产生了较为深远的影响, 并彻底地改变了我们的生活。同时, 也给整个世界带来了新的机遇与挑战。

相对于其他领域, 我国基因工程发展极为迅速, 但与发达国家相比还有很大差距。在《国家中长期科学和技术发展规划纲要(2006—2020 年)》中, 我国政府明确把以基因工程为基础的靶标发现技术、动植物品种与药物分子设计技术、基因操作和蛋白质工程技术以及基于干细胞的人体组织工程技术等列入生物技术领域优先发展的位置上。

为了配合高等学校基因工程的教学, 并促进我国生物工程、生物技术相关专业人才的培养, 特组织了武汉生物工程学院、武汉大学、解放军军事医学科学院、三峡大学、西北农林科技大学、中国科学院、北京大学、华中科技大学和西北大学(国家微检测工程技术中心)的有关教学科研人员编写了这部教材。

本书共 15 章, 分为上、下两篇。上篇(第 1 章~第 10 章)包括绪论、基因工程的分子生物学基础、基因工程工具酶、基因工程相关技术、基因工程载体、目的基因的获取、DNA 的体外重组与转化、重组体的筛选和鉴定、克隆基因的表达与检测和基因工程安全与规范, 主要介绍了基因工程的基本理论知识; 下篇(第 11 章~第 15 章)包括转基因动物、转基因植物、基因工程药物、基因芯片技术、人类基因组计划和计算机辅助基因序列分析, 主要介绍了基因工程在各个领域的应用及最新进展。

参与本书编写的有彭银祥(第 1、10 章), 李勃(第 2、4、6 章), 王亚芬(第 3 章), 王珊(第 5 章), 韩佳嘉、刘世轩(第 6 章), 周岷(第 7、8 章), 谭泽芳(第 8 章), 方浩、李建华(第 9 章), 陈红星、黄培堂(第 11 章), 罗才波(第 12 章), 邓政东、程爱芳(第 13 章), 杨洁(第 14 章), 王艳林(第 15 章)。全书由李勃、彭银祥统稿。

本书编写过程中, 承蒙解放军军事医学科学院黄培堂将军以及黄翠芬院士的关心与指导, 两位老专家亲自为本书作序。在此我们表示最诚挚的感谢! 同时也感谢我的老师、解放军军事医学科学院邓继先研究员对本书编写的大力支持, 他在百忙

之中做了大量的审校工作。

感谢同事熊海燕、李清勇、孙运奎在文稿的校对和打印中所做的努力，同时感谢生物技术系的吴全春同学、生物工程系的郁有虎同学在文字输入和图片处理过程中所给予的帮助。

感谢华中科技大学出版社在本书从选题到出版整个过程中的不懈努力！

本书的编写力求深入浅出、图文并茂，能系统介绍基因工程的基本原理及重要的应用领域，并尽可能反映最新的研究进展。但限于编者知识水平和写作能力有限，谬误和不足之处在所难免，敬请读者批评指正。

李 勃
2007 年 2 月

目 录

上篇 理论部分

1 绪论	(3)
1.1 基因工程发展简史	(3)
1.1.1 基因工程的理论基础	(5)
1.1.2 基因工程的技术源泉	(5)
1.2 基因工程的研究内容	(6)
1.2.1 基因工程的概念	(6)
1.2.2 基因工程的研究内容	(7)
1.2.3 基因工程的基本流程	(8)
1.3 基因工程的应用	(9)
1.3.1 基因工程在工业领域的应用	(9)
1.3.2 基因工程与农业	(9)
1.3.3 基因工程在医药领域中的应用	(10)
2 基因工程的分子生物学基础	(13)
2.1 核酸的结构与功能	(13)
2.1.1 遗传物质与 DNA	(14)
2.1.2 DNA 的结构与功能	(16)
2.1.3 RNA 的结构与功能	(21)
2.1.4 核酸的理化性质及其应用	(23)
2.2 基因与基因组	(24)
2.2.1 基因及其结构	(25)
2.2.2 基因组	(28)
2.3 中心法则与基因表达调控	(33)
2.3.1 中心法则与生物信息的传递	(33)
2.3.2 基因的表达与调控	(37)
2.4 自然界的基因转移和重组	(45)
2.4.1 接合作用	(45)
2.4.2 转化及转导	(46)
2.4.3 转座	(46)
2.4.4 基因重组	(47)
3 基因工程工具酶	(49)
3.1 限制性核酸内切酶	(49)
3.1.1 细菌的限制-修饰系统	(50)
3.1.2 限制性内切酶的命名	(51)
3.1.3 限制性内切酶的分类	(51)
3.1.4 限制性内切酶的识别序列的特征	(52)

3.1.5	限制性内切酶的切割方式	(52)
3.1.6	同裂酶和同尾酶	(54)
3.1.7	限制性内切酶识别序列出现的几率及酶切片段的估算	(54)
3.1.8	影响限制性内切酶活性的因素	(54)
3.2	DNA 连接酶	(56)
3.2.1	作用机制及特点	(56)
3.2.2	DNA 连接酶的分类	(56)
3.3	DNA 聚合酶	(57)
3.3.1	DNA 聚合酶 I	(57)
3.3.2	Klenow 片段	(58)
3.3.3	T4 DNA 聚合酶	(58)
3.3.4	T7 DNA 聚合酶	(59)
3.3.5	反转录酶	(59)
3.3.6	Taq DNA 聚合酶	(59)
3.4	其他 DNA 修饰酶	(60)
3.4.1	碱性磷酸酶	(60)
3.4.2	核酸酶(核酸外切酶)	(60)
3.4.3	S1 核酸酶	(60)
3.4.4	DNA 酶 (DNase)	(60)
3.4.5	RNA 酶 (RNase)	(60)
3.4.6	T4 多聚核苷酸激酶	(61)
3.4.7	末端脱氧核苷酸转移酶	(61)
3.5	核酸探针的标记	(62)
3.5.1	探针	(62)
3.5.2	核酸探针标记物的选择	(63)
3.5.3	探针的标记策略	(63)
4	基因操作的主要技术	(65)
4.1	核酸的提取与纯化	(65)
4.1.1	碱裂解法抽提质粒 DNA	(67)
4.1.2	密度梯度离心法提取质粒 DNA	(67)
4.1.3	mRNA 的分离与纯化	(68)
4.2	DNA 的凝胶电泳	(69)
4.2.1	电泳的基本原理	(69)
4.2.2	琼脂糖凝胶电泳	(70)
4.2.3	脉冲场电泳	(71)
4.3	分子杂交技术	(72)
4.3.1	Southern 印迹杂交	(74)
4.3.2	Northern 印迹杂交	(74)
4.3.3	Western 印迹杂交	(74)

4.4	基因扩增技术	(75)
4.4.1	聚合酶链式反应(PCR)	(75)
4.4.2	NASBA 技术	(81)
4.5	DNA 测序技术	(82)
4.5.1	Sanger 双脱氧链终止法	(83)
4.5.2	Maxam-Gilbert 化学修饰法	(84)
4.5.3	DNA 序列分析自动化	(84)
4.5.4	DNA 杂交测序法	(85)
4.6	基因文库构建	(86)
4.6.1	基因文库技术	(86)
4.6.2	基因文库构建	(87)
4.7	DNA 与蛋白质相互作用研究策略	(89)
4.7.1	凝胶阻滞试验	(90)
4.7.2	DNase I 足迹法	(90)
4.8	蛋白质与蛋白质相互作用研究策略	(91)
4.8.1	酵母双杂交技术	(92)
4.8.2	噬菌体表面呈现技术	(93)
4.8.3	分离的泛素系统	(94)
4.8.4	λ 分子对接计算机模拟法	(95)
5	基因工程载体	(96)
5.1	质粒载体	(96)
5.1.1	与构建克隆载体相关的质粒的性质	(96)
5.1.2	构建质粒克隆载体的基本策略	(97)
5.1.3	质粒克隆载体的构建	(98)
5.2	λ 噬菌体载体	(101)
5.2.1	λ 噬菌体克隆载体	(101)
5.2.2	cosmid 克隆载体	(105)
5.2.3	M13 噬菌体克隆载体	(108)
5.3	大分子 DNA 克隆载体	(110)
5.3.1	细菌人工染色体	(110)
5.3.2	酵母人工染色体	(110)
5.4	病毒载体	(112)
5.4.1	CaMV 克隆载体	(112)
5.4.2	烟草花叶(TMV)克隆载体	(113)
5.4.3	SV40 克隆载体	(114)
5.4.4	反转录病毒克隆载体	(115)
5.4.5	痘苗病毒克隆载体	(117)
5.5	基因打靶载体	(117)
6	目的基因的分离与克隆	(120)

6.1	目的基因的化学合成	(121)
6.2	通过 PCR 相关技术获取目的基因	(124)
6.2.1	目的基因的直接克隆	(125)
6.2.2	目的基因的间接克隆	(127)
6.3	通过建立基因文库分离目的基因	(130)
6.4	基因的图位克隆	(133)
6.4.1	染色体步移法	(133)
6.4.2	染色体登陆	(134)
6.5	转座子标签法克隆目的基因	(135)
6.6	mRNA 差异显示表达分析法克隆特异性表达基因	(136)
6.7	基于 EST 序列的电子克隆	(138)
6.8	从靶蛋白入手分离编码该蛋白的基因	(140)
7	基因的体外重组和转化	(141)
7.1	DNA 片段的体外连接	(141)
7.1.1	黏性末端的连接	(141)
7.1.2	平齐末端的连接	(146)
7.1.3	PCR 产物的连接	(150)
7.1.4	DNA 体外连接应注意的事项	(152)
7.2	重组体导入细胞	(153)
7.2.1	感受态细胞的制备	(153)
7.2.2	重组 DNA 分子的转化与农杆菌介导转化法	(155)
7.3	重组 λ 噬菌体 DNA 的体外包装与转导	(156)
7.4	重组克隆载体导入哺乳动物细胞的转染	(156)
8	重组体的筛选和鉴定	(159)
8.1	遗传学检测法	(159)
8.1.1	利用载体提供的表型特征筛选重组体	(159)
8.1.2	利用插入序列提供的表型特征筛选	(164)
8.2	DNA 电泳检测法	(165)
8.2.1	酶切检测	(165)
8.2.2	PCR 检测	(166)
8.3	核酸分子杂交检测	(166)
8.4	免疫化学类检测法	(167)
8.4.1	放射免疫测定法	(168)
8.4.2	免疫沉淀检测法	(169)
8.5	转译筛选法	(170)
8.5.1	杂交抑制的转译	(170)
8.5.2	杂交释放的转移	(170)
9	克隆基因的表达及其产物的检测	(172)
9.1	克隆基因在原核细胞中的表达	(172)

9.1.1	克隆基因在原核细胞中的表达过程	(172)
9.1.2	克隆基因在原核细胞中的表达调控	(173)
9.1.3	克隆基因的原核表达系统	(175)
9.2	克隆基因在真核细胞中的表达	(180)
9.2.1	克隆基因在真核细胞中的表达过程	(180)
9.2.2	克隆基因在真核细胞中的表达调控	(181)
9.2.3	克隆基因的真核表达系统	(183)
9.3	克隆基因表达产物的检测	(186)
9.3.1	外源基因转录产物的检测	(186)
9.3.2	外源基因翻译产物的检测	(186)
10	基因工程安全与规范	(189)
10.1	转基因技术的成就与风险	(189)
10.1.1	普兹塔依(Pusztai)事件(又称转基因马铃薯事件)	(190)
10.1.2	星联玉米事件	(190)
10.1.3	内布拉斯加州大豆事件	(190)
10.1.4	巴西坚果事件	(191)
10.2	转基因生物与食品安全	(191)
10.3	转基因生物与环境安全	(192)
10.4	转基因生物技术存在争议的若干问题	(195)
10.4.1	食品安全争议	(195)
10.4.2	营养富集争议	(195)
10.4.3	药食关系争议	(195)
10.4.4	生态影响争议	(196)
10.4.5	基因污染争议	(196)
10.4.6	全球监管争议	(196)
10.4.7	机遇泡沫争议	(197)
10.5	基因工程的安全管理	(197)
10.5.1	基因工程研究实验室的安全管理准则	(197)
10.5.2	基因工程产品的法规	(198)
下篇 应用部分		
11	转基因动物技术	(201)
11.1	转基因动物技术的发展	(201)
11.2	转基因动物技术的研究现况	(202)
11.2.1	显微注射法	(203)
11.2.2	逆转录病毒载体法	(205)
11.2.3	胚胎干细胞(ES)法	(207)
11.2.4	精子载体法(SMGT)	(207)
11.2.5	利用体细胞核移植制备转基因动物	(211)
11.2.6	体细胞的基因打靶与 NT 制备转基因动物技术	(214)

11.2.7	YAC 和 BAC 的转基因技术	(216)
11.3	转基因动物技术的主要用途	(219)
11.3.1	利用转基因动物建立人类疾病和药物筛选模型	(219)
11.3.2	研究基因的功能和作用	(220)
11.3.3	转基因动物在病毒研究方面的应用	(222)
11.3.4	利用转基因技术改良动物品种和生产性能	(222)
11.3.5	利用转基因动物生产人用器官移植的异体供体	(223)
11.3.6	利用转基因动物生产人药用蛋白和营养保健蛋白	(224)
11.3.7	利用转基因动物技术生产人抗体	(226)
11.4	存在问题和前景	(227)
11.4.1	转基因技术与其他生物新技术结合	(227)
11.4.2	新的转基因技术展望	(228)
11.4.3	转基因动物生物反应器的展望	(229)
11.4.4	转基因家畜的前景	(230)
11.5	结语	(231)
12	转基因植物	(233)
12.1	概述	(233)
12.1.1	植物基因工程的研究内容	(233)
12.1.2	植物基因工程的发展现状和前景	(234)
12.1.3	转基因植物的安全问题	(236)
12.2	植物目的基因的转化	(238)
12.2.1	植物基因工程的载体和受体	(238)
12.2.2	根癌农杆菌 Ti 质粒载体介导的转化系统	(240)
12.2.3	植物病毒载体介导的转染系统	(246)
12.2.4	基因枪转化系统	(249)
12.2.5	植物遗传转化的其他方法	(251)
12.3	转基因植物的检测与鉴定	(253)
12.3.1	概述	(253)
12.3.2	植物基因工程中常用的报告基因	(254)
12.3.3	转基因植物的检测	(256)
12.4	转基因技术在植物中的应用	(259)
12.4.1	利用转基因植物生产重组异源蛋白	(259)
12.4.2	转基因技术在植物品种改良中的应用	(259)
13	基因工程药物	(264)
13.1	基因工程药物发展概况	(264)
13.1.1	基因工程药物发展简史	(264)
13.1.2	基因工程药物现状	(265)
13.1.3	我国基因工程药物的发展	(265)
13.1.4	基因工程制药的特点	(265)

13.2 基因工程药物	(266)
13.2.1 基因工程激素类药物	(266)
13.2.2 基因工程细胞因子类药物	(269)
13.2.3 基因工程抗体	(272)
13.2.4 基因工程受体	(273)
13.2.5 基因工程疫苗	(274)
14 基因芯片	(276)
14.1 基因芯片的基本概念、分类、工作原理和流程	(277)
14.1.1 基因芯片定义	(277)
14.1.2 基因芯片分类及特点	(277)
14.1.3 工作原理	(278)
14.2 基因芯片的制作	(279)
14.2.1 芯片的设计	(279)
14.2.2 片基处理	(280)
14.2.3 探针合成	(280)
14.2.4 点样后处理	(282)
14.3 芯片实验的主要步骤	(283)
14.4 芯片实验结果评估	(285)
14.5 基因芯片的生物信息学分析和数据采掘	(286)
14.5.1 概述	(286)
14.5.2 生物信息学数据库分类	(287)
14.5.3 基于基因芯片的数据分析	(288)
14.6 基因芯片应用	(292)
14.7 MIAME 规则	(294)
14.8 芯片行业介绍	(295)
14.9 基因芯片相关网站介绍	(297)
15 人类基因组计划	(298)
15.1 DNA 测序	(298)
15.1.1 完成 DNA 测序的研究机构	(298)
15.1.2 DNA 测序的原理	(299)
15.1.3 DNA 测序与拼装	(299)
15.1.4 DNA 序列的解读	(301)
15.2 后基因组时代	(301)
15.2.1 疾病诊断和预测	(302)
15.2.2 疾病的基因干预和治疗	(304)
15.2.3 药理基因组学	(305)
15.2.4 遗传顾问	(306)
附录 A 基因工程研究人员软件解决方案	(307)
参考文献	(309)

上篇 理论部分



1

绪 论

基因(gene)就是存在于 DNA 上承载遗传信息的核苷酸序列，是位于染色体上呈直线排列的遗传物质的最小单位，也是携带遗传信息的结构单位和控制遗传性状的功能单位。基因这个耀眼的名字，自 20 世纪 50 年代由于 DNA 分子双螺旋结构模型的确立而进入分子生物学时代以来，真可谓突飞猛进，新概念、新名词日新月异，与日俱增。基因也成为运用次数最多的字眼之一。由于基因的研究涉及遗传、变异、个体、群体、细胞、分子、核酸、蛋白质等多学科多领域的知识，从而诞生了一门新的学科——基因科学。

现在人们根据中心法则有关基因的复制、转录和翻译的功能，把基因分为三类：一是具有转录和翻译功能的基因，包括编码酶和结构蛋白的结构基因、编码阻遏蛋白的调节基因；二是只有转录功能的基因，即把 tRNA 和 rRNA 作为转录终止产物的基因；三是不转录的基因，包括启动基因和操纵基因，它对基因表达起调节控制作用，因此有时又被称为控制基因。

1972 年，以分子遗传学为理论基础，以分子生物学和微生物学的现代方法为手段，DNA 体外重组获得成功，从此宣告了基因工程技术的诞生。自此，人们能够在分子水平上深入认识基因的结构与功能，从而发现基因结构中存在着“等位基因”、“移动基因”、“断裂基因”、“重叠基因”、“假基因”，等等。科学家明确提出这些基因的结构与功能的新概念，推动了基因工程的进一步发展。与此同时，人们根据基因工程的特点，打破常规育种难以逾越的种间屏障，实现了原核生物与真核生物之间、动物与植物之间、甚至人与其他动物之间遗传信息的重组和转移，从而定向地改造生物的遗传特性以达到快速创造新生物类型的目的。

1.1 基因工程发展简史

1865 年，奥地利神父 Mendel 根据他多年的豌豆试验结果，提出了遗传因子的分离和自由组合规律。历经一百多年，凝聚了无数科学工作者的集体智慧和结晶的基因工程才宣告诞生，而其中理论上的三大发现和技术上的三大发明为基因工程的诞生起到了决定性的作用(参见表 1.1)。

表1.1 基因工程发展史上的重大事件

年 份	重 大 事 件
1869	F.Miescher 首次从莱茵河鲑鱼精子中分离到 DNA
1909	W.Johannson 创造了“基因”一词

续表

年 份	重 大 事 件
1928	A.Fleming 发现青霉素及其抑菌现象
1944	O.T.Avery 等用实验证明 DNA 是遗传物质
1952	A.D.Hershey 和 M.Chase 证明 T ₂ 噬菌体的遗传物质是 DNA
1953	J.Watson 和 F.Crick 发现 DNA 双螺旋结构
1957	A.Kornberg 在 <i>E.coli</i> 中发现 DNA 聚合酶 I
1958	M.Meselson 和 F.W.stahl 提出 DNA 的半保留复制模型; Crick 提出中心法则
1961—1966	破译遗传密码
1967	发现了可将 DNA 连接起来的 DNA 连接酶
1970	分离出第一个 II 类限制性内切酶
1972	以 H.Boyer 等人为代表的一些科学家发展了 DNA 体外重组技术
1974	首次实现了异源真核生物的基因在 <i>E.coli</i> 中的表达
1975—1977	F.Sanger、A.Maxam 以及 W.Gilbert 各自发明了快速的 DNA 测序技术
1978	第一次生产出基因工程胰岛素; 首次实现了通过 <i>E.coli</i> 生产由人工合成基因表达的人脑激素和人胰岛素
1980	美国最高法院裁定基因工程产品可获专利; 第一家生物技术类公司在 NASDAQ 上市
1981	第一只转基因动物(老鼠)诞生
1982	DNA 重组技术生产的家畜疫苗首次在欧洲上市; Sanger 及其合作者完成了 λ 噬菌体 98 502bp 的基因组全序列的测定
1983	人工染色体首次成功合成
1984	美国斯坦福大学被授予关于重组 DNA 基本使用的专利(Cohen-Boyer 专利)
1985	基因指纹技术作为证据亮相法庭; 第一批转基因的家畜(兔、猪和羊)诞生
1986	第一个转基因作物获批准田间试验, 基因工程生物首次在控制的情况下释放到环境中去; Powell-Abel 首次获得了抗 TMV 的植株; 第一个 DNA 重组人体疫苗(乙肝疫苗)研制成功
1988	PCR 技术问世; Watson 出任 HGP 首席科学家, 协调人类基因组计划的实施
1989	转基因抗虫棉花获批准田间试验
1990	美国批准第一个体细胞基因治疗试验; 人类基因组计划正式启动; 第一个转基因动物(鲑鱼)获批准养殖
1992	欧洲共同体各国 35 个实验室首次发表第一个真核生物染色体(酵母染色体 III)的 DNA 全序列
1993	生物工程产业组织(BIO)成立
1994	转基因保鲜番茄在美国上市; 中国科学家在世界上首次构建了高分辨率的水稻基因组物理图谱
1997	英国培育出第一只克隆羊“多莉”
1998	人体胚胎干细胞系建立