

SHENGWU
JISHUXUEDAOLUN

生物技术学导论

● 韩洛川 编著



陕西人民教育出版社

生物技术学导论

韩洛川 编著

陕西人民教育出版社

图书在版编目(CIP)数据

生物技术学导论/韩洛川编著. —西安:陕西人民教育出版社, 2006. 7

ISBN 7-5419-9658-0

I. 生… II. 韩… III. 生物技术 IV. Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 074535 号

生物技术学导论

韩洛川 编著

陕西人民教育出版社出版发行

(西安市长安南路 181 号)

各地新华书店经销 陕西科技大学印刷厂印刷

880×1230 毫米 32 开本 7.5 印张 200 千字

2006 年 7 月第 1 版 2006 年 7 月第 1 次印刷

印数:1-1000

ISBN 7-5419-9658-0/Q·3

定 价:18.00 元

前 言

21 世纪是以生命科学为主导的世纪,而现代生物技术是生命科学的风向标。现代生物技术已成为各国综合国力在现代高新科学技术的竞争焦点之一。我国早在 1986 年初制订的《高技术研究发展计划纲要》中就将生物技术列于航天技术,信息技术,激光技术,自动化技术,新能源技术和新材料技术等高技术的首位。生物技术之所以会被世界各国如此重视和关注,是因为它是解决人类所面临的诸如食品短缺问题、健康问题、环境问题及资源问题的关键性技术;它与理、工、医、农等科技的发展,与伦理、道德、法律等社会问题都有着密切的关系;随着生物技术和生物工程的飞速发展,生物工程与人们的日常生活、经济和社会的发展关系越来越密切,对国计民生将产生重大的影响;生物工程与其他学科的交叉越来越普遍,生物工程几乎已经渗透到所有的学科,如工程科学,生物、物理、化学、数学等基础科学,管理科学,经济学,人文科学等,在其他学科的学习与研究中都不可避免地会遇到与生物工程相关的问题。因此,要培养造就高素质人才群体,普及现代科学技术知识是基础条件。尤其在日益重视、提倡素质教育的今天,对高等院校的学生加强科学技术的普及教育,提高学生的高科技意识就显得更为必要和重要。

《生物技术学导论》是一本适合于高等院校本科非生物学类专业学生、相关专业的人士和管理人员了解、掌握生物工程的发展历史、基本原理、应用领域和认识生物工程在未来世界中的重要地位的简明教科书。本书共分 8 个部分,每一部分都力求内容简明、全面和新颖,通俗易懂且概念准确,并尽量能反映生物技术各领域的

最新研究进展。

限于作者的知识水平和写作能力,书中论述难免存在差错和不足,敬请读者批评指正;在写作中也引用了同行的部分观点或内容,在此致谢。

韩洛川

2006年5月

目 录

1. 绪论	(1)
1.1 生物技术的概念	(1)
1.2 生物技术的学科基础	(1)
1.3 生物技术的研究领域	(2)
1.4 生物技术的发展	(5)
1.5 生物工程的服务领域及对经济社会发展的影响	(6)
1.5.1 人类健康	(6)
1.5.2 农业	(9)
1.5.3 资源和能源	(9)
1.5.4 环境保护	(10)
1.6 生物技术的安全性和社会伦理问题	(10)
1.6.1 转基因技术的安全性问题	(10)
1.6.2 克隆人的伦理问题	(11)
1.6.3 个人基因信息的隐私权问题	(11)
1.6.4 基因应用问题	(11)
1.6.5 生物技术引发的其他问题	(11)
2. 基因工程	(13)
2.1 基因工程的概念和基本操作步骤	(15)
2.2 基因工程工具酶	(15)
2.2.1 限制性核酸内切酶	(17)
2.2.2 DNA 连接酶和 DNA 片段末端修饰酶	(20)

2.2.3 其他基因工程工具酶	(20)
2.3 基因工程载体	(21)
2.3.1 原核生物宿主的载体	(23)
2.3.2 真核生物宿主的载体	(27)
2.3.3 植物宿主的载体	(30)
2.3.4 动物宿主的载体	(31)
2.3.5 染色体定位整合载体	(31)
2.3.6 几种特殊用途的载体	(32)
2.4 目的基因的获得	(34)
2.4.1 原核生物目的基因的获得	(35)
2.4.2 真核生物目的基因的获得	(36)
2.5 目的基因与载体 DNA 的连接.....	(38)
2.5.1 黏性末端 DNA 片段的连接.....	(38)
2.5.2 非互补黏性或平末端 DNA 片段的连接.....	(39)
2.6 目的基因导入受体细胞	(40)
2.7 重组子的筛选	(41)
2.8 目的基因的表达	(41)
2.9 基因工程的应用	(43)
3. 细胞工程	(46)
3.1 植物细胞工程	(47)
3.1.1 植物组织培养	(47)
3.1.2 植物细胞培养	(52)
3.1.3 植物细胞原生质体制备与融合	(61)
3.1.4 单倍体植物的诱发与利用(花药和花粉的培养)	(70)

3.1.5 人工种子	(76)
3.1.6 植物细胞培养的应用	(81)
3.2 动物细胞工程	(82)
3.2.1 动物细胞组织培养	(83)
3.2.2 动物细胞融合	(89)
3.2.3 淋巴细胞杂交瘤产生单克隆抗体技术(McAb)	(90)
3.2.4 细胞核移植与动物克隆	(93)
3.2.5 染色体转移	(96)
3.2.6 干细胞研究	(97)
4. 酶工程	(102)
4.1 微生物酶的发酵生产	(104)
4.1.1 产酶菌种的筛选	(104)
4.1.2 基因工程菌的构建	(106)
4.1.3 微生物酶的发酵生产	(107)
4.2 酶反应器	(109)
4.3 酶的分离纯化	(110)
4.4 酶的化学修饰	(115)
4.5 酶的固定化	(115)
4.6 化学人工酶(人工合成酶或模拟酶)	(117)
4.7 生物酶工程	(118)
4.8 酶的蛋白质工程	(119)
4.9 酶制剂的应用	(120)
4.9.1 用于诊断和治疗疾病	(120)

4.9.2 酶在工业上的应用	(122)
4.9.3 用于生物工程其他分支领域	(122)
4.9.4 能源开发上的应用	(122)
4.9.5 环境工程上的应用	(123)
4.10 生物传感器	(124)
4.10.1 生物传感器的概念	(124)
4.10.2 生物传感器的原理	(125)
4.10.3 生物传感器的特点	(125)
4.10.4 生物传感器的种类	(125)
5. 发酵工程(微生物工程)	(127)
5.1 发酵工程概述	(128)
5.1.1 发酵类型	(128)
5.1.2 发酵工程的一般过程	(130)
5.1.3 发酵产品及其分离提纯	(133)
5.2 液体深层发酵	(134)
5.2.1 分批发酵(间歇发酵)	(135)
5.2.2 连续发酵	(136)
5.2.3 补料分批发酵	(137)
5.3 固体发酵	(138)
5.4 发酵设备(微生物反应器)	(139)
5.4.1 通气发酵罐	(140)
5.4.2 厌氧微生物反应器(嫌气发酵罐)	(142)
5.5 发酵的应用	(143)
5.6 典型产品的发酵生产	(144)

5.6.1 抗生素发酵生产	(144)
5.6.2 维生素发酵生产	(146)
6. 蛋白质工程	(150)
6.1 蛋白质结构基础	(152)
6.1.1 蛋白质的氨基酸组成和分类	(152)
6.1.2 蛋白质的生物学功能	(153)
6.1.3 氨基酸的性质	(153)
6.1.4 肽	(154)
6.1.5 蛋白质的分类	(154)
6.1.6 蛋白质的分子结构	(154)
6.1.7 蛋白质结构与功能的关系	(155)
6.1.8 蛋白质的理化性质	(156)
6.1.9 蛋白质的分离和纯化	(157)
6.2 蛋白质工程基本原理	(159)
6.2.1 蛋白质工程与基因工程	(159)
6.2.2 基因的定向诱变	(161)
6.2.3 蛋白质改造工程举例	(162)
7. 生物技术与人类健康	(166)
7.1 生物技术与疫苗	(166)
7.1.1 疫苗发展简介	(167)
7.1.2 基因工程疫苗	(171)
7.1.3 基因疫苗(核酸疫苗)	(174)
7.2 生物技术药物	(177)
7.3 生物技术与疾病诊断	(179)

7.3.1	ELISA 技术	(179)
7.3.2	DNA 诊断技术	(182)
7.3.3	生物芯片技术	(192)
7.4	生物技术与生物疗法	(194)
7.4.1	基因治疗(gene therapy)	(194)
7.4.2	肿瘤的基因治疗	(198)
7.5	组织和干细胞工程	(202)
7.5.1	组织工程	(202)
7.5.2	干细胞工程	(204)
7.6	生物技术营造人居健康生态环境	(206)
8.	生物技术与环境	(209)
8.1	环境污染及其现状	(209)
8.1.1	“温室效应”与全球增暖	(212)
8.1.2	臭氧屏蔽的破坏	(213)
8.1.3	土地荒漠化	(214)
8.1.4	生态环境的破坏	(214)
8.2	我国的环境污染现状	(216)
8.3	环境生物修复技术	(216)
8.3.1	污水处理	(218)
8.3.2	石油污染的生物修复	(223)
8.4	生物能源和生物材料	(225)
8.5	生物技术对环境领域的应用展望	(226)

1. 绪 论

现代生物技术是在细胞和基因层次直接操作有机体的技术,已从 20 世纪 70 年代纯学术性研究的分子生物学领域,发展成为解决农业、医疗保健、环境保护等众多社会热点问题的重要手段。特别是近十年来,在全球人类基因组计划(human genome project, HGP)的推动下,转基因动物、转基因植物、克隆技术等方面的研究取得了突破性进展,为生物技术在预防性和治疗性疫苗领域的应用打下了坚实的基础,带来了无限光明的前景。

1.1 生物技术的概念

生物技术(生物工程)是以现代生命科学为基础,结合化学工程、机械工程、控制工程、环境工程等工程科学的科学原理,采用先进的生物工程技术手段,按照人类的设计改造生物体或加工生物原料,以生产出所需产品或达到某种目的。生物技术的任务是为细胞的生长和目标产物的积累创造适宜的条件,研究开发最适合的工艺路线和设备,实现工业化生产以满足社会需要。生物工程的研究对象包括活的生物体或它们的一部分。生物科学通过深入研究细胞中的代谢途径、鉴别代谢产物,往往能够发现具有重要应用前景的化合物,如医药、诊断试剂、精细化学品及生物催化剂(酶)等,然后通过生物技术打破细胞中已有的调节和控制机制,使细胞具有过量积累目标产物的能力。

1.2 生物技术的学科基础

现代生物技术以分子生物科学和生物技术为基础,几乎涉及

所有生物科学的次级学科为支撑,又结合了化学、化学工程学、机械工程、控制工程、数学、微电子技术、计算机科学、信息学等生物学领域之外的尖端基础学科,从而形成一门多学科互相渗透的综合性学科。是所有自然科学领域中涵盖范围最广的学科之一。其中又以生命科学领域的重大理论和技术的突破为基础。例如,美国遗传学家沃特森(J. Watson)和英国生物学家克里克(F. Crick)的 DNA (Deoxyribonucleic Acid, 脱氧核糖核酸) 双螺旋结构, DNA 半保留复制模式的阐明,遗传密码的破译以及 DNA 与蛋白质的关系等理论上的突破, DNA 限制性内切酶和 DNA 连接酶等工具酶的发现,才使基因工程高技术成为可能;动植物细胞培养方法以及细胞融合方法的建立,才有细胞工程的出现;蛋白质结晶技术及蛋白质三维结构的深入研究以及化工技术的进步,使酶工程和蛋白质工程的产生成为可能;生物反应器及传感器以及自动化控制技术的应用,使现代发酵工程成为现实。另外,所有生物技术领域还使用了大量的现代化由微机控制的、全自动化的高精密仪器,如表 1-1 所示。这就是现代微电子学和计算机技术与生物技术的结合和渗透。没有这些结合和渗透,生物技术的研究就不可能深入到分子水平,也就不会有今天的现代生物技术。

1.3 生物技术的研究领域

根据生物技术操作的对象及操作技术的不同,生物技术主要包括以下五项技术(工程)。

基因工程(gene engineering)

基因工程是通过体外 DNA 重组创造新生物并形成特殊功能的技术,也称 DNA 重组技术,其原理是将外源基因通过体外重组后导入受体细胞内进行复制、转录、翻译表达,从而改变它们的遗传品性;或者使新的遗传信息(基因)在新的宿主细胞或个体中大量表达,以获得目的基因产物(多肽或蛋白质)。基因工程已经成

了现代生物技术的核心,使人类掌握了改造生物、保护环境、战胜疾病、改善生活质量的强有力的武器,将在 21 世纪中大放异彩。但另一方面,基因工程也带来了人们对其可能产生的生态和伦理问题的争论和忧虑。

表 1-1 重要的现代生物技术仪器和设备

名 称	用 途
1. DNA(自动)测序仪	(自动)测定核酸的核苷酸系列
2. 蛋白质/多肽自动测序仪	测定蛋白质、多肽的氨基酸序列
3. DNA 自动合成仪	合成已知寡核苷酸序列
4. 蛋白质/多肽自动合成仪	合成已知氨基酸序列的蛋白质或多肽
5. 生物反应器	细胞的连续培养
6. 发酵罐	微生物细胞培养
7. 热循环仪(聚合酶链反应仪,PCR 仪)	DNA 快速扩增
8. 序列分析软件	核酸、蛋白质序列分析
9. 基因转移设备	将外源 DNA 引进靶细胞
10. 色谱软件	控制色谱、收集和数据处理
11. 高效液相色谱仪	物质的分离与纯化及纯度鉴定
12. 电泳设备	物质的分离与纯化及纯度鉴定
13. 凝胶电泳系统	蛋白质和核酸的分离与分析
14. 毛细管电泳仪	质量控制、组分分析
15. 超速、高速离心机	分离生物大分子物质
16. 电子显微镜	观察细胞及组织的超微结构
17. 物质谱仪	蛋白质及多肽的研究

细胞工程(cell engineering)

细胞工程是应用细胞生物学和分子生物学方法,借助工程学的试验方法或技术,在细胞水平上研究改造生物遗传特性和生物

学特性,以获得特定的细胞、细胞产品或新生物体的有关理论和技术方法的学科。细胞工程包括动、植物细胞的体外培养技术、细胞融合技术(也称细胞杂交技术)、细胞器移植技术、克隆(clone)技术、干细胞技术等。

酶工程(enzyme engineering)

酶工程是将酶学理论与化工技术相结合,研究酶的生产 and 应用的一门新的技术性学科。包括酶制剂的制备、酶的固定化、酶的修饰与改造及酶反应器等方面内容。酶工程已经广泛地用于科学研究、医药、疾病诊断、分析检测、日常生活、工农业生产及环境保护。

发酵工程(fermentation engineering)

利用微生物生长速度快、生长条件简单以及代谢过程特殊等特点,在合适条件下运用现代化工程技术手段,由微生物的某种特定功能生产出人类所需的产品称为发酵工程,也称生物工程。严格地说,发酵工程是以细胞为催化剂的化学反应工程。

蛋白质工程(protein engineering)

蛋白质工程,就是利用基因工程手段,包括基因的定点突变和基因表达对蛋白质进行改造,以期获得性质和功能更加完善的蛋白质分子。

蛋白质工程的一个重要途径就是根据人们的需要,对负责编码某种蛋白质的基因重新进行设计,使合成的蛋白质更符合人类的需要。这种通过造成一个或几个碱基定位突变,以达到修饰蛋白质分子结构的技术,称为基因定位突变技术。

蛋白质工程在食品工业、日用品工业方面有广泛的应用前景。比如,在医学上用人工手段去改造某些致癌基因的产物——蛋白质,使它失去致癌作用,从而开辟治疗癌症的新途径。我国的蛋白质工程具有国际先进水平,这些工程包括重组人胰岛素和溶血栓药物,重组人尿激酶等。

对动植物体内参与重要生命活动的酶加以修饰和改造,是蛋白质工程未来发展的一个重要目标。有朝一日,人们一定能够通过蛋白质工程来设计、控制那些与 DNA 相互作用的调控蛋白质,到那时,人为控制遗传、改造生命就不再是天方夜谭了。

上述五项技术并不是各自独立的,它们彼此之间是互相联系、互相渗透的。其中的基因工程技术是核心技术,它能带动其他技术的发展。比如通过基因工程对细菌或细胞改造后获得的“工程菌”或“工程细胞”,然后通过发酵工程或细胞工程来才能生产有用的物质;又如,通过基因工程技术对酶进行改造以增加酶的产量、酶的稳定性以及提高酶的催化效率等。

1.4 生物技术的发展

四千多年前,我国即开始了谷物酿酒。公元前 11 世纪,中国就有记载酒曲、水质和发酵温度是影响酒质的重要因素。春秋战国时期(公元前 722~221 年),中国已出现制酱油和醋的技术,酱、醋已成为当时受人们欢迎的食品。公元 6 世纪出版的《齐民要术》一书,记载了豆类与其他作物轮作的经验,和“客土肥田”技术,即把栽种过豆类作物的土壤,作为肥料施到其他作物的田地里,实际是对根瘤菌固氮作用的应用。公元 10 世纪,我国就有了预防天花的活疫苗;到了明代,就已经广泛地接种痘苗以预防天花。16 世纪,我国的医生已经知道被疯狗咬伤可传播狂犬病。在西方,苏美尔人和巴比伦人在公元前 6000 年就已开始啤酒发酵,埃及人则在公元前 4000 年就开始制作面包。1676 年荷兰人列文霍克(Leeuwen Hoek, 1632—1723)制成了能放大 170~300 倍的显微镜并首先观察到了微生物。19 世纪 60 年代法国科学家巴斯德(L. Pasteur, 1822—1895)首先证实发酵是由微生物引起的,并首先建立了微生物的纯种培养技术,从而为发酵技术的发展提供了理论基础,使发酵技术纳入了科学的轨道。到了 20 世纪 20 年代,工业生

产中开始采用大规模的纯种培养技术发酵生产化工原料丙酮、丁醇。20世纪50年代,在青霉素大规模发酵生产的带动下,发酵工业和酶制剂工业大量涌现。发酵技术和酶技术被广泛应用于医药、食品、化工、制革和农产品加工等部门。20世纪初,遗传学的建立及其应用,产生了遗传育种学,并于20世纪60年代取得了辉煌的成就,被誉为“第一次绿色革命”。细胞学的理论被应用于生产而产生了细胞工程。在今天看来,上述诸方面的发展,还只能被视为传统的生物技术,因为它们还不具备高技术的诸要素。

现代生物技术是以20世纪70年代DNA重组技术的建立为标志的。1944年加拿大裔美国细菌学家艾弗里(O. T. Avery)等阐明了DNA是遗传信息的携带者。1953年沃特森和克里克提出了DNA的双螺旋结构模型,阐明了DNA的半保留复制模式,从而开辟了分子生物学研究的新纪元。1961年印度裔美国生物化学家科拉纳(H. G. Khorana)和美国生物化学家尼伦伯格(M. W. Nirenberg)破译了遗传密码,揭开了DNA编码的遗传信息是如何传递给蛋白质这一秘密。正是基于上述关键基础理论的发展,1972年美国生物化学家伯格(P. Berg)首先实现了DNA体外重组技术,标志着生物技术的核心技术——基因工程技术的开始。在短短的几十年的时间,已发展成为以基因工程为核心内容,包括现代发酵工程、现代酶工程、现代细胞工程、蛋白质工程和现代环境生物工程等诸多方面的现代生物技术体系。

1.5 生物工程的服务领域及对经济社会发展的影响

现代生物技术将与信息技术及新材料一起成为21世纪的支柱产业,它的服务领域覆盖当前人类所面临的几乎所有的重大问题,如人类健康、农业、资源、能源及环境等。

1.5.1 人类健康

健康和长寿始终是人类最关心和最渴望的。要保持健康,除