



21世纪高等院校教材

国家理科基地教材

生·物·工·程·系·列



李立家 肖庚富 编著

基因工程

GENE
ENGINEERING



科学出版社
www.sciencep.com

21 世纪高等院校教材——生物工程系列

基 因 工 程

李立家 肖庚富 编著

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书共分8章,第1章介绍基因工程及其发展,希望读者从整体上了解这一门学科;第2章讲述基因工程的载体和工具酶;第3章侧重于讨论DNA重组技术的方法原理;第4~6章,介绍不同生物中基因表达的应用研究,既讲一些成功的事例,让学生掌握怎样设计完成一个完整的基因工程工作,也强调可能或已经遇到的困难障碍,以及怎样克服它们;第7章基因治疗是医学发展中的一种重要手段,应了解掌握;第8章介绍“第二代基因工程”——蛋白质工程原理。本书在讲述方法、技术的过程中详细介绍了基因工程的基本理论,还援引了许多最新研究成果,力求内容新颖、通俗易懂。

本书适于作为生物、农林、医学和制药专业本科生和研究生的教材,也可作为这些领域中研究人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

基因工程/李立家,肖庚富编著. —北京:科学出版社,2004.3

(21世纪高等院校教材——生物工程系列)

ISBN 7-03-012925-3

I. 基… II. ①李… ②肖… III. 基因-遗传工程-高等学校-教材
IV. Q78

中国版本图书馆CIP数据核字(2004)第011354号

责任编辑:周 辉 贾学文 李久进/责任校对:朱光光

责任印制:安春生

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>

深圳印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2004年3月第 一 版 开本:B5 (720×1000)

2004年3月第一次印刷 印张:13 3/4

印数:1—4 000 字数:256 000

定价:23.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换(路通))

序

现代生物技术已被广泛应用于医药卫生、农牧渔业、资源开发及环境保护等领域,并对相关产业的发展产生了深刻的影响。基因工程是现代生物技术的核心,也是发展最迅速的方向。进入 21 世纪以来,越来越多的科技工作者,尤其是青年学子投身于这一重要研究领域,高等院校生命科学类几乎所有专业(理、工、农、医)都先后开设了基因工程这门课程。

武汉大学生命科学学院的李立家、肖庚富尝试编写了这本《基因工程》教材。教材第 1 章概述基因工程及其发展;第 2、3 章讲述载体、工具酶及 PCR 等常用技术的原理;第 4、5、6 章分别讲述基因在大肠杆菌、酵母中高效表达的策略、转基因植物与转基因动物,既讲基本原理与成功的范例,也强调可能遇到的困难与解决办法;第 7 章介绍基因工程在医学中的重要应用——基因治疗,包括病毒与非病毒载体,遗传病、恶性肿瘤、病毒病的基因治疗策略;第 8 章介绍“第二代基因工程”——蛋白质工程,包括定点突变、定向进化技术及药物、工业用酶的蛋白质工程实例。

两位作者分别是武汉大学植物发育生物学国家重点学科和微生物学国家重点学科的青年教师(博士、副教授),在一线从事植物基因工程与病毒基因工程及相关的研究,多年来主讲基因工程及相关课程。该书参考了大量国内外书籍与期刊文献及截至 2003 年 9 月的中英文网上资料,并结合作者的教学与科研经验写成,有 50 余幅插图,内容简明、新颖、实用,可读性较强。第 2~8 章均附有 4~6 个思考题,不少思考题都是需要查阅课外资料并归纳综合才能完成的。相信本书的出版将为生物、农林、医学和制药等专业的本科生和研究生的教学提供帮助,该书也可作为相关领域研究人员的参考书。

科学出版社高等教育分社出版系列生物技术类教材,将有助于加强我国生物技术领域的人才培养,推动和促进生物技术的研究及其在国民经济中的应用。

谨此为序。



中国科学院院士

2003 年 11 月

前 言

生物技术这门激动人心的技术正在改变着人们的生活方式,促进了国民经济的发展,而基因工程又是生物技术中最吸引人、最重要的、发展最迅速的技术。近几年来,越来越多的科技工作者投身于这个神奇的研究和应用领域,而且高校中生命科学几乎所有专业(理、工、农、医)都先后开设了这门课程。目前用作教学的教材有的偏重于方法学的介绍,有的只是好的参考书或专著。在教学实践中,我们感觉到基因工程课程应该像其他的课程如细胞生物学、生物化学那样有一本真正适应教学和学生学习的教材。

基因工程这门课程是介于分子生物学等基础课程和 DNA 重组技术实验课之间的课程,与它们紧密联系又要尽量避免重复。作为一门基础课或应用基础课的教材,应能提供一个比较全面而系统的基本原理和概念,但同时应限制在不太大的篇幅内,使学生在 54 学时时间内能掌握、了解基因工程的基本理论。

正是考虑到这个现实的需要,作者尝试编写了这本书。在此书中,不仅系统地介绍了基因工程的基本理论,还援引了许多最新研究成果,力求内容基础而又新颖,简捷而又通俗易懂。我们希望它能成为一本符合高等院校学生学习的教材和参考书,为加速我国这方面的人才培养,推动和促进基因工程技术及其企业在我国国民经济中的发展与应用发挥作用。

在编写过程中我们参考了最新的国内外参考书和一些文献资料,并结合了自己的教学经验。主要的参考书有《基因工程原理》(吴乃虎编著,1999年),*Molecular Biology* (Robert F. Weaver 著,2000),《分子克隆实验指南》(J. 萨姆布鲁克和 D. W. 拉塞尔著、黄培堂等译,1999年),《精编分子生物学实验指南》(F. Ausubel 等著、颜子颖等译,1998年),《转基因动物》(周荣家等编著,1998),以及其他有关基因工程的参考书,还参考了复旦大学和北京大学等单位的网上资料及许多中文综述,许多文献名和作者的名字没有一一列出,请见谅,在此一并表示衷心的感谢。

肖庚富博士负责编写第4、第7和第8章。李立家博士负责其余部分内容的组织编写工作。编写此书过程中还得到了许多老师和学生的大力支持和帮助,李德家博士为第5、6章收集了大量资料并负责了初稿的编写,龚睿、何启强、谢莉、杨金铃、童琼、李兵勇、易佳林、方骥为资料的收集和整理、绘图及文字输入等付出了大量劳动,在此表示诚挚的谢意。

由于时间较短,水平有限,有不足之处,真诚地希望专家和读者批评指教。

李立家 肖庚富
2003年10月于武汉大学

目 录

1 基因工程概述	(1)
1.1 基因工程的发展简史.....	(1)
1.1.1 什么是基因工程	(1)
1.1.2 基因工程的开端	(1)
1.1.3 基因工程的发展	(2)
1.2 基因工程的研究意义和应用.....	(3)
1.2.1 基因工程在工业领域的应用	(3)
1.2.2 基因工程在农业领域的应用	(5)
1.2.3 基因工程在医药领域的应用	(7)
1.3 结语.....	(8)
1.4 基因工程课程与其他课程之间的关系.....	(8)
2 基因工程的载体和工具酶	(9)
2.1 载体.....	(9)
2.1.1 质粒载体.....	(9)
2.1.2 噬菌体载体	(17)
2.1.3 其他载体.....	(24)
2.2 工具酶.....	(25)
2.2.1 限制性内切核酸酶	(25)
2.2.2 DNA 聚合酶和 Klenow 大片段酶	(29)
2.2.3 DNA 连接酶	(30)
2.2.4 碱性磷酸酶	(31)
2.2.5 末端脱氧核苷酸转移酶	(31)
3 基因工程的常规技术	(32)
3.1 凝胶电泳技术.....	(32)
3.1.1 琼脂糖凝胶电泳的原理	(32)
3.1.2 琼脂糖凝胶电泳的影响因素	(33)
3.2 杂交技术.....	(34)
3.2.1 探针与探针标记	(34)
3.2.2 Southern 杂交	(35)
3.2.3 Northern 杂交	(36)
3.2.4 Western 杂交	(36)

3.2.5	菌落(噬菌斑)原位杂交	(36)
3.3	PCR 技术	(36)
3.3.1	PCR 技术的基本成分	(37)
3.3.2	PCR 技术的原理和过程	(40)
3.3.3	荧光定量 PCR	(42)
3.4	生物芯片	(43)
3.4.1	基因芯片	(44)
3.4.2	蛋白芯片	(45)
3.5	基因文库构建	(46)
3.5.1	基因组文库构建	(46)
3.5.2	cDNA 文库的构建	(47)
3.6	酵母双杂交系统	(48)
3.6.1	酵母双杂交系统的基本原理	(48)
3.6.2	酵母双杂交系统的应用	(49)
3.6.3	酵母双杂交系统存在的问题	(50)
3.7	DNA 测序	(50)
3.7.1	Sanger 双脱氧链终止法	(51)
3.7.2	Maxam-Gilbert 化学修饰法	(51)
4	基因在大肠杆菌、酵母中的高效表达	(53)
4.1	基因的表达系统与表达策略	(53)
4.1.1	基因的表达系统	(53)
4.1.2	根据表达蛋白用途选择基因的表达策略	(54)
4.2	基因在大肠杆菌中的高效表达	(56)
4.2.1	基于 T7 噬菌体 RNA 聚合酶/启动子的大肠杆菌表达系统	(56)
4.2.2	蛋白质的融合表达	(60)
4.2.3	蛋白质的分泌型表达	(66)
4.2.4	蛋白质的包含体形式表达与蛋白质复性	(68)
4.2.5	重组大肠杆菌的高密度培养	(71)
4.3	基因在酵母中的高效表达	(74)
4.3.1	酵母表达系统概述	(74)
4.3.2	甲醇酵母表达系统	(75)
4.3.3	组织纤溶酶原激活剂在甲醇酵母中的表达	(80)
5	转基因植物	(84)
5.1	植物的转基因技术	(84)
5.1.1	植物细胞培养技术	(84)
5.1.2	植物转基因技术的基本路线	(85)

5.1.3	转基因的受体系统	(85)
5.1.4	外源基因导入植物的方法	(86)
5.2	转基因植物的筛选与检测	(93)
5.2.1	报告基因	(93)
5.2.2	分子生物学检测方法	(97)
5.3	改进转基因的技术	(98)
5.3.1	转基因植物中外源基因的沉默	(99)
5.3.2	提高外源基因表达水平的策略	(100)
5.4	农作物基因工程	(104)
5.4.1	抗虫转基因作物	(104)
5.4.2	抗病毒作物	(106)
5.4.3	抗细菌和真菌作物	(107)
5.4.4	抗除草剂转基因作物	(107)
5.4.5	抗非生物胁迫作物	(108)
5.5	生物反应器	(108)
5.6	转基因植物的安全性	(111)
5.6.1	标记基因的安全性	(111)
5.6.2	转基因植物的安全性评价和争论的问题	(112)
6	转基因动物	(117)
6.1	动物转基因技术	(117)
6.1.1	显微注射法	(118)
6.1.2	逆转录病毒法	(122)
6.1.3	胚胎干细胞法	(123)
6.1.4	精子载体法	(132)
6.1.5	体细胞核移植法	(134)
6.1.6	受体介导法	(135)
6.2	提高转基因效率的策略	(136)
6.3	转基因动物的应用	(137)
6.3.1	转基因动物在基因功能等生命科学基础研究中的应用	(137)
6.3.2	转基因技术在动物育种中的应用	(138)
6.3.3	转基因动物在医药科学研究中的应用	(139)
6.4	转基因动物研究存在的问题及展望	(144)
7	基因治疗	(146)
7.1	基因治疗的概念与发展	(146)
7.1.1	基因治疗的概念和策略	(146)
7.1.2	基因治疗的基本程序	(147)

7.1.3	基因治疗的现状与展望	(149)
7.2	基因治疗的载体	(150)
7.2.1	病毒载体	(151)
7.2.2	非病毒载体	(158)
7.2.3	载体与基因治疗中的靶向性问题	(160)
7.3	重要疾病的基因治疗	(163)
7.3.1	遗传病的基因治疗	(163)
7.3.2	肿瘤的基因治疗	(166)
7.3.3	病毒病的基因治疗	(172)
8	蛋白质工程	(180)
8.1	蛋白质工程的理论基础、诞生和发展	(180)
8.1.1	蛋白质工程的理论基础	(180)
8.1.2	蛋白质结构测定与结构预测	(184)
8.1.3	蛋白质工程的诞生和发展	(187)
8.2	蛋白质工程的关键技术	(188)
8.2.1	定点诱变	(189)
8.2.2	定向进化	(192)
8.2.3	其他技术(高变菌株、tRNA 介导蛋白质工程)	(197)
8.3	蛋白质工程的应用及实例	(199)
8.3.1	定点突变与蛋白质药物工程:胰岛素	(199)
8.3.2	定点突变、定向进化与工业用酶:枯草杆菌蛋白酶等	(202)
8.3.3	结构域的拼接与金属硫蛋白工程	(204)
8.3.4	抗体工程	(206)
主要参考文献		(208)

1 基因工程概述

1.1 基因工程的发展简史

1.1.1 什么是基因工程

基因工程是 20 世纪 70 年代在微生物遗传学和分子生物学发展的基础上形成的学科。所谓基因工程,就是在分子水平上,提取(或合成)不同生物的遗传物质,在体外切割,再和一定的载体拼接重组,然后把重组的 DNA 分子引入细胞或生物体内,使这种外源 DNA(基因)在受体细胞中进行复制与表达,按人们的需要繁殖扩增基因或生产不同的产物或定向地创造生物的新性状,并能稳定地遗传给后代。基因工程又名遗传工程(genetic engineering)、DNA 重组技术(recombinant DNA technique)、分子克隆(molecular cloning)或基因克隆(gene cloning)。基因工程的核心内容包括基因克隆和基因表达。

1.1.2 基因工程的开端

基因工程的出现是建立在几个重大发现和发明基础上的。1953 年, Watson 和 Crick 发现了主要遗传物质 DNA 的双螺旋结构,阐明了遗传信息传递的中心法则,使得人们对基因的本质有了越来越多的认识,也奠定了基因工程的理论基础;细菌学、病毒学的发展,限制性内切核酸酶和连接酶的发现也为基因工程提供了必要的工具。

1972 年,美国斯坦福大学的 P. Berg 博士的研究小组使用限制性内切核酸酶 *EcoR* I,在体外对猿猴病毒 SV40 DNA 和 λ 噬菌体 DNA 分别进行酶切,然后用 T4 DNA 连接酶将两种酶切片段连接起来,第一次在体外获得了包括 SV40 和 λ DNA 的重组 DNA 分子,并因此分享了 1980 年的诺贝尔化学奖。1973 年, S. Cohen 等将两种分别编码卡那霉素(kanamycin)和四环素(tetracycline)的抗性基因相连接,构建出重组 DNA 分子,然后转化大肠杆菌,获得了既抗卡那霉素又抗四环素的双重抗性特征的转化子菌落,这是第一次成功的基因克隆实验,基因工程也由此宣告诞生。

基因工程技术从诞生到现在仅 30 年,但发展速度迅猛,无论是在基础研究方面,还是实际应用中,都取得了惊人的成绩,并从根本上改变了传统生物科学技术的被动状态,使得人们可以按照自己的愿望,克服物种间的遗传屏障,定向

培养或创造出新的生物形态，以满足人们的需求。基因工程也因此被公认为 20 世纪最伟大的科学成就之一，标志着人类主动改造自然界的能力进入了一个新的阶段。

1.1.3 基因工程的发展

基因工程的出现一方面引起了人们的极大关注和担心，另一方面吸引了许多科学家参与到这一崭新的研究领域。在基因工程诞生的最初几年，为了消除人们对这一技术的恐慌和忧虑，科学家们对重组 DNA 所涉及的载体和受体系统进行了有效的安全性改造，包括噬菌体 DNA 载体的有条件包装、质粒载体的转移性改造及受体细胞遗传重组和感染寄生缺陷突变株的筛选，同时还建立了一套严格的 DNA 重组实验室设计与操作规范，这些改造工作实际上加速了基因工程的发展。基因工程是在分子生物学等学科基础上发展起来的，基因工程的发展和这些学科的发展相联系的，反过来它也渗透到生命科学的各个领域，促进着生命科学各学科的研究与应用。同时这门技术巨大的潜在的商业价值引来众多的投资者，终于使 DNA 重组应用技术迅速发展起来，使它很快走出实验室，进入商业化应用。所以基因工程的大发展也就是它在多学科以及商业上的应用发展。下面我们讨论的基因工程应用也就是它的大发展成就。

基因工程要有基因才能完成工程化基因应用于研究和生产，而基因的分离和认识又需要基因工程的手段。基因是遗传信息的载体，而遗传信息决定了生物的特征与形态，可以说没有基因就没有生命，但时至今日人们对其认识仍然不够。在基因工程研究发展中值得一提的是 1985 年提出的人类基因组计划（Human Genome Project, HGP），这一计划是试图用基因工程技术来揭示人类所有的遗传结构，包括所有的基因（特别是疾病相关基因）和非编码序列。1990 年，这一被誉为生命科学领域“阿波罗登月计划”的国际人类基因组计划开始启动，历经 10 余年时间，耗资约 30 亿美元，到 2000 年的 6 月，人类基因组工作框架图得以正式发布。这一框架图包含了人类基因组 97% 以上的信息，医学专家通过分析每个基因的功能及其在染色体上的位置，将能从分子水平深入了解各种疾病的发生机制，从根本上获得治疗的方法；同时也有助于认识正常的生物结构和功能，解释一系列生命现象的本质。中国作为参与此计划惟一的发展中国家，测定了人类基因组全部序列的 1%，也就是 3 号染色体上短臂端粒区的 3000 万个碱基对的 DNA 序列测定，为这一研究计划做出了重要贡献。人类基因组计划的实施就是利用基因工程手段来进行的，反过来也极大地推动对基因和基因组结构和功能的认识和加速了基因工程的发展和应用。

随着计算机技术的发展，基因工程和计算机结合是一种必然的趋势。通常说的基因工程是操作单个或数个完整的基因，其产品是由外源基因编码的具有天然

属性的蛋白质，操作的层次基本上没有深入到基因内部。而蛋白质结构的研究及与计算机相结合使人们能直接操作或改造单个或几个核苷酸来生产出结构发生了改变的新型蛋白质，这样其功能也完全不一样，能满足人们的不同需求。

1.2 基因工程的研究意义和应用

随着时间的推移，基因工程技术在农业、林业、医药、食品、环保等行业和领域的研究和应用都取得了很大的进展，既为工农业生产和医药卫生等开拓了新途径，又给高等生物的细胞分化、生长发育、肿瘤发生等基础研究提供了有效的实验手段。在传统工业中，基因工程技术的运用可降低损耗、提高产量，同时还能减少污染，如今生物工业成为现代产业革命的重要组成部分。在农业生产中，转基因植物在抗病毒、抗虫、抗除草剂和品种改良等方面都取得了引人注目的成果，有的已被广泛应用于生产实践，使得相关农作物的产量得以显著提高。在生命科学领域，人们可以利用基因工程技术探明致病基因的结构和功能，了解其致病机制；建立基因诊断、治疗技术，并已开发出基因工程药物和疫苗广泛应用于临床，为疾病的预防、治疗提供了新方法，给患者带来了福音。

1.2.1 基因工程在工业领域的应用

1.2.1.1 环保工业

随着化学工业的迅速发展，产生了为数众多的化合物。其中不少都是能持久存在的有毒物质，这些物质的存在对人们所处的环境造成了极大的威胁。基因工程技术则有望解决这一难题。科学家通过 DNA 重组技术得到分解性能较高的工程菌种和具有特殊降解功能的菌株，从而大大提高有机物的降解效率，同时也扩大了可降解的污染物种类。

含有降解质粒的细菌在某些环境污染物的降解中发挥着重要的作用，如假单胞菌属的石油降解质粒，此类质粒编码的酶能降解各种石油组分或它们的衍生物，像樟脑、辛烷、萘、水杨酸盐、甲苯和二甲苯等；农药降解质粒，这些质粒上具有能降解杀虫剂六六六和烟碱等农药的基因；工业污染物降解质粒，如对-氯联苯降解质粒、尼龙低聚体降解质粒和洗涤剂降解质粒等。

人们通过能降解有害有毒有机物的降解质粒转移、质粒突变和降解基因克隆来构建基因工程菌，马里兰大学的 Coppella 博士等将在研究对硫磷降解时得到的水解酶基因 *opd* 转化到 *Streptomyces lividians* 中，最后得到的转化菌株能稳定地水解硫磷，此菌株发酵液可用在农药厂废水的处理中；Charabarty 博士将降解性质粒 XYL、NAH、CAM 和 OCT 质粒结合后转移到一株假单胞菌中，该工程

菌在短时间内就可分解 60% 的原油脂肪烃；日本学者藤田构建的重组体 PHF400 能在 15h 内完全分解掉 400mg/L 的邻羟基苯甲酸。

1.2.1.2 酶制剂工业

酶是活细胞产生的具有高度催化活性和高度专一性的生物催化剂，常温常压下就可以催化各种生化反应，在食品生产和化学工业中占有重要的地位。以往，酶是从动物脏器和植物种子中获得的，随着基因工程技术的发展，科学家能够运用基因工程技术按照需要来定向改造或生产不同工业用酶，甚至创造出新的酶种。蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶、糖化酶和果胶酶等工业用酶均可利用基因工程技术进行生产。

目前生产的酶还存在一些不足，如在长时间或高温下反应容易失活、不能在有机溶剂中或气体中进行反应，以及由于杂菌污染使酶腐败，某些微生物的产酶能力不高等。基因工程技术则将有可能解决这些难题，其解决途径包括：用基因工程技术从具有耐热、耐压、耐盐、耐溶剂等特性，或能在气态条件下发挥作用的微生物中取得具有特殊功能的基因，并加以利用。美国科学家将淀粉液化芽孢杆菌的 M-淀粉酶基因转移到枯草杆菌中，使受体菌产酶能力提高 2500 倍。日本科学家把耐热的 α -淀粉酶基因转移到枯草杆菌后，增加了耐热的 α -淀粉酶的产量。基因工程本身所需要的酶，也可以通过基因工程来大幅度提高产量，如今用这种技术已经使 DNA 连接酶的产量提高了 500 倍。

1.2.1.3 食品工业

DNA 重组技术在食品工业中有广泛的应用，通过 DNA 重组技术进行转基因植物，能使食品原料得以改良，营养价值大为提高，而且谷氨酸、调味剂、人工甜味剂、食品色素、酒类和油类等也都能通过基因工程技术生产。

豆油中富含反式脂肪酸或软脂酸，摄入后都会增加冠心病的发生率。美国研究人员利用基因工程技术，挑选出合适的基因和启动子，以此来改造豆油中的组分构成。不含软脂酸的豆油可用做色拉油，富含 80% 油酸的豆油可用于烹饪，而含 30% 硬脂酸的豆油则适于做人造黄油及使糕饼松脆的油。现在市场中有多种这类基因工程产品，利用基因工程改造的豆油的品质和商品价值都大大提高。

在食品酸味剂方面，柠檬酸是食品工业中很重要的一类。目前柠檬酸生产菌主要是黑曲霉。国外正大力研究通过基因工程手段用酵母和细菌来生产柠檬酸，工程菌的使用使乳酸、苹果酸等有机酸的产量也在逐年增加。

现在国外用发酵法和酶法生产的氨基酸多达数十种。产量最大的氨基酸为谷氨酸和赖氨酸。目前国外正在积极利用基因工程和细胞融合技术改造产生苏氨酸

和色氨酸的生产菌，经改造的工程菌已正式投产，其氨基酸产量大大超过了一般菌的生产能力。日本的味精公司也利用了细胞融合和基因工程的方法改造菌株，使谷氨酸的产量提高了几十倍。

1.2.1.4 化学与能源工业

化学工业中涉及大量的有机物生产，如丙酮、丁醇、醋酸、丙烯酸、乙醇、甘油等都可以通过发酵技术生产，而通过基因工程技术培养的微生物能大大提高这些产品的转化效率。Picataggio 等构建的 *Candida tropicalis* 工程菌使长链二羧酸的转化率和化学选择性均有提高。地球上可供使用的能源毕竟有限，为了解决这一难题，科学家把目光转向了生物能，已有利用重组 DNA 技术来生产乙醇等石油替代品。研究人员发现，细菌、酵母中的一些菌种可利用淀粉、植物多糖及纤维素类物质生产乙醇。Ingram 从 *Zymomonas mobilis* 中提取编码乙醇的基因 (*pdh*、*adhB*)，将其导入大肠杆菌 K011 得到的工程菌可生产乙醇；Kim 构建的菌株 FSCSa-R₁₀-6 也可使马铃薯淀粉发酵而得到乙醇。Roessler 等则从微藻中分析提取了乙酰辅酶 A 羧化酶的全基因，这种酶是用于柴油的脂类物质合成的关键酶。而甘蔗、木薯粉、玉米渣等原料都可通过微生物发酵法来生产乙醇。科学家们还在研究利用基因工程创造出多功能的超级工程菌。这种菌能分解纤维素和木质素，从而使得稻草木屑、植物秸秆、食物的下脚料等都用来生产乙醇。通过基因工程技术，从工业废弃物、农林业副产品中制造的沼气，将能极大满足人们对能源的需求。此外，石油开采上也应用了生物工程技术。由于深层的原油吸附在岩石空隙间，难以开采。通过加入基因工程菌就可分解原油中的蜡，降低原油的黏度，并增高油层内的压力，因而增加了石油流出量。

1.2.2 基因工程在农业领域的应用

随着人口的不断增加，在世界上不少地方食品的供给都成了大问题。生物工程技术的应用为最终解决这一问题提供了有效的途径。科学家利用基因工程可培育出具备抗寒、抗旱、抗盐碱、抗病等特性的新品种，使得适合农作物生长的范围大大增加。科学家还发现了一种与合成脯氨酸有关的基因，将其转入固氮菌后，后者获得了既固氮又抗盐的能力，从而有助于植物的生长。植物光合作用效率的高低决定了其产量的多少，英国剑桥的植物育种所研究了如何转移叶绿体基因，将其中的高光效基因转移到另一种品种中去，以增加其光合效率，从而能产生更多的粮食。

应用基因工程技术还可以使粮食中的蛋白质含量提高。美国威斯康星大学的研究人员从菜豆提取了储藏蛋白基因，并将其转移到向日葵中后，表达了该基

因。美国明尼苏达大学也进行了类似的实验，他们把玉米醇溶蛋白基因转移到了向日葵根部的细胞中。这些实验取得的进展都表明了通过改良作物品种来增加粮食作物产量的良好前景。

根瘤菌可帮助豆科植物固定、吸收和利用空气中游离的氮，科学家们曾把肺炎克氏杆菌的固氮基因转入大肠杆菌，使大肠杆菌也能直接利用空气中的氮。日本已成功将固氮基因转移到水稻根际微生物中，这种微生物可向水稻提供 1/5 的需氮量，因而可减少氮肥的使用量。

除草剂在农业中的使用较为广泛，但对农作物的产量有很大影响。美国的研究者利用基因工程技术从能杀死杂草的真菌中分离出毒素，将此毒素喷施在大豆田中，可以杀死杂草而不伤害其作物。

水稻是我国的重要农作物之一，我国科学家在杂交水稻的研究中取得了众多研究成果，两系杂交稻已进入生产阶段，又开始了超级杂交水稻、转基因水稻的研究。已在染色体上精细定位了光敏、温敏核不育基因及广亲和基因，并且很快就能得以克隆。我国的科学家应用花粉管通道法转基因技术研制出单价 Bt 抗虫转基因棉花；建立了有效的分子标记育种体系，培育成功了抗黄矮病、白粉病和赤霉病等多种抗病小麦新品种；获得了抗稻瘟病转基因水稻及转有抗菌肽基因的马铃薯等转基因植株。此外，大量的抗虫转基因水稻、玉米、大豆、杨树等基因工程技术产品也都在试验中。

基因工程技术在动物科学的应用范围也很广，利用生物工程技术已研制成功了许多动物基因工程药物、疫苗，特别是转基因动物的研制成功不仅改良了动物的性状，培育出抗病、产肉产蛋量高的家禽、家畜，而且转基因动物还可作为有效的表达系统生产出许多重要重组蛋白及满足人们的其他需求。

疫苗的传统制备方法是用理化方法灭活病原体，或以毒力减弱的病原体制备而获得，但此类疫苗在安全性、免疫性及保存等方面都有不足，使得应用效果不尽如人意。基因工程疫苗则是指利用基因工程技术在培养的细菌、酵母或动物细胞中扩增病原体的保护性抗原基因制成的疫苗。由于基因工程疫苗只含有病原体的部分抗原成分，因而比传统的灭活疫苗和减毒疫苗的安全性要高，副作用小，且能降低成本。如 DNA 重组乙肝疫苗是利用基因工程技术分离出的有效的抗原成分，通过酵母菌发酵生产而成，产品不受动物和血源的影响。在兽医临床中，猪狂犬病疫苗和预防幼畜腹泻的致病性大肠杆菌菌毛疫苗已经投产。

1985 年，科学家第一次将人的生长激素基因导入猪的受精卵获得成功，转基因猪与同窝非转基因猪比较，生长速度和饲料利用效率显著提高，胴体脂肪率也明显降低。1997 年 2 月，第一头无性繁殖的克隆羊多莉 (Dolly) 的问世，标志着克隆哺乳动物的成功。美国科学家于 2000 年 10 月宣布培育出了世界上首只转基因猴，这是世界上首次培育成功转基因灵长类动物。转基因动物具有重要的医学价值，不仅可用来开发多种药物，如促红细胞生成素 (EPO)、血清蛋白素

(HSA)、组织纤溶酶原激活剂 (TPA) 等, 还能提供皮肤、角膜、心、肝、肾等器官, 为挽救众多危重病人提供帮助。转基因植物和转基因动物将在后面的章节中具体讲述。

1.2.3 基因工程在医药领域的应用

1.2.3.1 基因工程药物

1982 年在美国诞生了世界上第一种基因工程药物——重组人胰岛素。这以后, 基因工程药物成为世界各国政府和企业投资研究开发的热点领域, 现已研制出的基因工程药物主要是两类: 基因重组多肽和蛋白质类药物如干扰素、人生长激素、白细胞介素-2、肿瘤坏死因子、人表皮生长因子; 酶类基因工程药物, 包括尿激酶原、链激酶、天冬酰胺酶、超氧化物歧化酶等。开发成功的 50 多个药品已广泛应用于治疗癌症、肝炎、发育不良、糖尿病、囊纤维变性和一些遗传病中, 并形成了一个独立的新型高科技产业。

我国这方面的研究虽然起步较晚, 但经过 20 多年的发展, 也开发出了多种基因工程药物, 并已形成产业化。有代表性的产品如重组人干扰素 α -1b, 是从人脐血白细胞经 NDV-F 病毒诱生后, 提取其 mRNA, 反转录成 cDNA, 构建质粒 pBV867, 转化到大肠杆菌 N6405 株中表达成功的。它是我国批准的第一个国内生产的基因工程药物。到目前, 我国已有 10 多种基因工程药物批准上市, 包括 γ -干扰素、重组人白细胞介素-2 和新型白细胞介素-2、重组人粗细胞集落刺激因子 (G-CSF) 和粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、重组人促红细胞生成素 (EPO) 等。

1.2.3.2 基因诊断和基因治疗

基因工程技术除了可用于生产预防、治疗疾病的疫苗和药品之外, 在疾病诊断与治疗方面也正发挥着日益重要的角色。基因诊断是利用重组 DNA 技术作为工具, 直接从 DNA 水平监测人类遗传性疾病的基因缺陷, 因而比传统的诊断手段更加可靠。在基因诊断技术中, 基因探针检测具有准确而灵敏度高的特点, 它是利用 DNA 碱基互补的原理, 用已知的带有标记的 DNA 通过核酸杂交的方法检测未知的基因。基因探针技术在诊断遗传性疾病方面发展迅速, 对 60 多种遗传性疾病已可进行产前诊断; 有关基因探针还可直接用于分析遗传性疾病的基因缺陷, 如用 α -珠蛋白基因探针检测镰状细胞贫血; 也有的可用于间接分析与 DNA 多态紧密连锁的遗传性疾病, 如用 β -珠蛋白基因探针检测地中海贫血症和用苯丙氨酸转移酶基因探针检测苯丙酮酸症等。经过多年的实践和完善, 基因探

针技术在传染病、流行病、肿瘤及遗传性疾病的诊断的应用中已取得重要成果，如已用白血病细胞中分离的某些癌基因制备基因探针，用于检测白血病。

随着医学的进步，基因治疗的开展运用，使得医学专家在某些曾经束手无策的顽症面前又找回了自信。基因治疗被认为是征服肿瘤、心血管疾病、糖尿病尤其是遗传性疾病最有希望的手段。基因治疗是指将外源正常基因导入靶细胞，取代突变基因，补充缺失基因或关闭异常基因，达到从根本上治疗疾病的目的。1990年美国医学家第一次成功应用基因疗法，他们用 mini 基因 (ADAcDNA) 和逆转录病毒双拷贝载体 (DC) 治疗腺苷脱氨酶缺乏症取得疗效。现在已有试验设计将正常基因连接到温和病毒 DNA 载体上构建重组 DNA，把体外包装后的完整病毒颗粒转导骨髓细胞，这种构建的基因工程细胞可用于某些酶缺陷遗传病的试验治疗，而基因疗法在黑色素瘤、镰刀状贫血、囊性纤维变、血友病等的治疗中也有不错的效果。在后面的章节中将专门讨论这方面的内容。

1.3 结语

人类已跨入 21 世纪，崭新的基因操作技术、不断涌现的基因科技成果表明了基因工程时代的到来。基因工程将更加深入地渗透到工农业、林业、畜牧业、医疗卫生等多学科、多领域。对当代一些重大的问题如环境污染、人口老龄化现象突出、温室效应等，基因工程技术都将参与发挥重要影响。尽管这当中还存在着各种各样的问题，人们对基因工程也表现出不同的担心和忧虑，但是只要正确利用这一技术，解决其中的不足，使其为人类造福，我们的未来必将是绚烂多彩的！

1.4 基因工程课程与其他课程之间的关系

基因工程是在生命科学各专业中的一门非常重要的专业基础课或专业课。基因工程是在分子生物学等学科基础上建立发展起来的，所以这门课的开设是建立在遗传学、微生物学和分子生物学等课程的基础上的。学生应具备这些课程的基础知识。基因工程的发展反过来也渗透到生命科学的各个领域，促进着生命科学各学科研究与应用的发展。通过这门课程的学习，希望学生掌握基因工程的基本原理和应用策略，为他们今后进一步的研究生学习科研或工作打下重要的理论基础。

思 考 题

1. 通过本章的学习，请举两个基因工程应用的具体例子并加以简单说明。