



青年科技创新人才学术文库

烟草工业生物技术

YANCAO GONGYE SHENGWU JISHU

许春平 马宇平 主编



郑州大学出版社

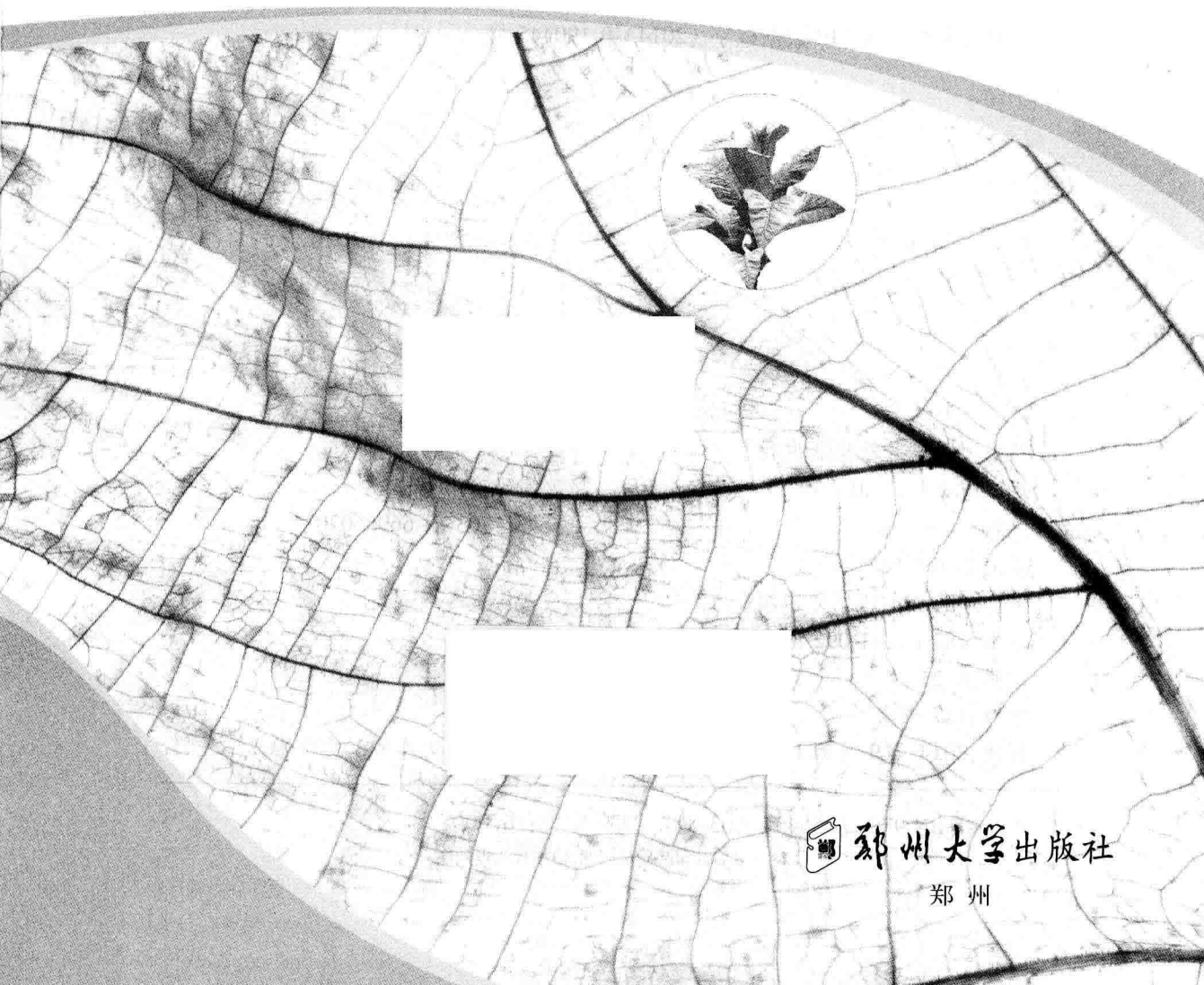


青年科技创新人才学术文库

烟草工业生物技术

YANCAO GONGYE SHENGWU JISHU

许春平 马宇平 主编



 郑州大学出版社

郑州

内 容 提 要

烟草工业生物技术是烟草专业的主要专业选修课程。该教材共分八章,较系统地介绍了基因工程、发酵工程、细胞工程、酶工程等技术原理及其在烟草工业中的应用。本书可作为高等院校烟草工程专业本科生教材,也可作为研究生课程的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

烟草工业生物技术/许春平,马宇平主编. —郑州:
郑州大学出版社,2014.9
ISBN 978-7-5645-2003-8

I. ①烟… II. ①许…②马… III. ①烟草-生物工程
IV. ①TS424

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 190445 号

郑州大学出版社出版发行

郑州市大学路 40 号

出版人:王 锋

全国新华书店经销

河南地质彩色印刷厂印制

开本:787 mm×1 092 mm 1/16

印张:6.25

字数:147 千字

版次:2014 年 9 月第 1 版

邮政编码:450052

发行电话:0371-66966070

印次:2014 年 9 月第 1 次印刷

书号:ISBN 978-7-5645-2003-8

定价:16.00 元

本书如有印装质量问题,由本社负责调换



作者名单

主 编 许春平 马宇平
副主编 刘绍华 郝 辉
编 委 马宇平 (河南中烟工业有限责任公司技术中心)
田兆福 (广西中烟工业有限责任公司技术中心)
刘绍华 (广西中烟工业有限责任公司技术中心)
李小兰 (广西中烟工业有限责任公司技术中心)
许春平 (郑州轻工业学院)
郝 辉 (河南中烟工业有限责任公司技术中心)



前言

生物技术是 21 世纪最有前途的高科技技术之一,在农业、医药、化工和食品等产业中得到广泛应用。烟草作为特殊的经济植物,在遗传育种和烟叶醇化发酵、烟草有害成分的生物降解等方面涉及生物技术,如通过烟草基因重组获得高香气、抗虫、抗病和抗逆的转基因烟草,研究烟叶自然醇化和发酵过程中微生物及酶对烟气品质的影响,烟用香料的生物合成、烟草有害成分如烟碱、亚硝酸的生物降解等。生物技术及其产品应用于烟草中,不影响烟草的天然香气,对改善烟气品质有显著效果,使用安全性高,有重大的经济效益,提升烟草行业的科技水平,为发展“中式卷烟”提供有自主知识产权的核心技术。

本教材由许春平、马宇平任主编。具体编写分工如下:马宇平编写第一章和第七章;郝辉编写第二章;刘绍华编写第三章;许春平编写第四章和第六章;田兆福编写第五章;李小兰编写第八章。在编写过程中受到行业内烟草生物技术重点实验室的大力资助,郑州轻工业学院毛多斌教授对编写提出了许多宝贵意见,研究生杨琿琿,肖源同学协助工作,在此表示感谢。由于烟草科学技术涉及的领域宽,学科面广,作者水平有限,错误之处有所难免,还望读者指点,不胜感激。

编者

2014 年 7 月



目 录

第一章 绪论	1
第一节 烟草概述	2
第二节 生物技术研究的内容	7
第三节 烟草与生物技术间的渊源	10
第二章 微生物学基础	15
第一节 概述	15
第二节 微生物的生长及控制	19
第三节 微生物的鉴定	24
第三章 基因工程在烟草中的研究与应用	26
第一节 基因工程	26
第二节 烟草研究中常用的基因工程技术	30
第三节 烟草抗性改良技术	32
第四节 基因工程技术对烟草品质的改良	34
第五节 烟草基因工程在医药开发的应用	35
第六节 转基因烟草的安全性	37
第四章 发酵工程在烟草中的研究与应用	41
第一节 发酵工程概述	41
第二节 发酵工程生产天然香料	48
第三节 发酵工程生产烟草生物农药	52
第五章 细胞工程在烟草中的研究与应用	58
第一节 细胞工程概述	58
第二节 植物组织培养技术	60
第三节 细胞工程生产天然香料	63
第四节 细胞工程在烟草育种的应用	64
第五节 细胞工程在烟草毒理学的应用	64

第六章 酶工程在烟草中的应用	68
第一节 酶工程概况	68
第二节 烟叶加工过程中涉及的主要酶类	72
第三节 微生物及其酶在烟草加工上的应用	74
第七章 烟用香料的生物合成	82
第一节 香兰素的生物合成	82
第二节 内脂类香料的生物合成	84
第三节 酯类香料的生物合成	85
第四节 糖苷类芳香化合物的生物合成	86
第五节 萜类香料的生物合成	86
第八章 非香料烟用生物添加剂	89
第一节 生物滤嘴简介	89
第二节 生物滤嘴制备技术	89
第三节 生物滤嘴对卷烟品质的影响	91
第四节 应用前景	92

第一章

绪论

生物技术是一个内涵非常广泛的概念,是以分子生物学、细胞生物学、生物化学、微生物学等多学科的新成就为先导的综合性科学技术体系。现代生物技术主要包括:基因工程、细胞工程、酶工程和发酵工程。随着现代生物技术的发展,其应用逐渐扩展到烟草领域。烟草是世界上最重要的经济作物之一,同时作为一种高等植物生物技术研究的重要模式植物,在生物技术的发展过程中发挥了重要作用。植株再生、原生质体培养、花粉培养和基因转化等许多新技术都是在烟草上首先获得成功的,继而在其他作物上推广和完善。同时,以烟草自身为对象的研究也取得了显著进展,并在抗病、抗虫、抗逆性及品质改良等方面展示了良好的前景,可望从根本上解决目前烟草产业存在的诸多问题,为消费者提供更优质、更安全的烟草产品,也为烟草产业寻求更为广阔的发展空间^[1]。

生物技术在烟草中的应用的最主要的目的是为烟草种质提供一些已知有毒物质和烟气致癌因子的快速改良方法,从而达到生产低有毒物质、低致癌因子的卷烟产品^[2]。对于烟草产品来说,我们的主要目标是降低尼古丁含量,利用生物技术和基因工程修饰的方法改造烟草种子,减少在烟草生长过程中尼古丁的积累,同时降低亚硝胺类物质(TSNAs)含量。喹啉磷酸核苷酸转移酶(QPTase)是尼古丁生物合成中的两个关键酶之一,科研人员利用转基因技术把目标对准喹啉磷酸核苷酸转移酶,从而达到降低尼古丁含量的目的。实验结果表明转基因烟草尼古丁大约积累 1000 ppm,未转基因对照烟草尼古丁积累大约 25000 ppm,同时转基因烟草中的烟草特有亚硝胺(TSNAs)的 NNK 和 NNN 减少了大约 95%。这种转基因烟草已得到美国农业部的种植许可,并在 Quest 牌号卷烟中作为原料应用。

生物技术在我国烟草育种的应用,同样取得了很大的成效。江豪等^[3]利用花粉管通道法,直接将外源紫云英基因组 DNA 导入烤烟品种 Coker319。然后,通过与常规育种手段相结合,选育出了优质(特别是香气质好,香气量大)、适产、抗病、适应性广、抗逆性强的烤烟新品系金烟 6 号。金烟 6 号的上等烟比例最高达 38.58%,其内在化学成分谐调,叶片含钾量最高可达 3.02%。

酶和微生物在改善烟叶吸味品质和防治烟草病虫害方面具有一定的作用和应用价值,但目前尚处于研究阶段,如何在烟草发酵和加工过程中,更有效地利用酶制剂和微生物制剂控制烟叶的内在成分向有利于提高卷烟品质的方面转化,是烟草业需要继续研究的一个重要课题^[4]。

本章主要概要介绍烟草植株和分类、生理生化等知识,从细胞水平研究烟草叶片的细胞结构,从分子水平研究烟草的生化组成,并简单阐述生物技术在烟草工程领域的应用。

第一节 烟草概述

一、烟草植株和分类

烟草是一种含有尼古丁的特殊植物,属于茄科(*Solanaceae*),烟属(*Nicotiana*),一般作为一年生草本作物栽培,具有浅的须根系。烟草是唯一一种能够合成尼古丁的植物。

目前被植物学家确认的烟草已达 66 个品种,但被人们普遍栽培食用的只有两个品种:一个是普通烟草(*nicotiana tabacum*),又叫红花烟草(*nicotiana glauca*),是一年生或两、三年生草本植物。这种烟草宜种植于较温暖地带。一个是黄花烟草(*nicotiana rustica*),黄花烟草又称莖烟草,是一年生或两年生草本植物,这种烟草耐寒能力较强,适宜在低温地区栽培。此外还有一种由智利人培育出的白花烟草,绿叶白花,十分美艳,在国外只作为观赏花卉,一般都不把它列在烟草的范围之内。中国所栽培的烟草除了北方有少量黄花烟草之外,大部分是普通烟草。在绝大多数地方,人们所食用的都是烟草的叶片,所以作为商品,也把烟草称为烟叶。

烟草可分成很多品种,中国根据从古至今所栽培的各种烟草的品种特性、栽培条件、调制方法、主要用途等方面的不同,主要分以下 6 类:

(1) 晾晒烟(sun-cured tobacco):该品种生产的区域较广,种植历史最悠久,几乎遍及全球。这也是最早传入中国的烟草品种。该品种加工成烟制品的方法也较简单,一般是把田间生长已成熟的烟叶,采摘扎把挂在屋檐下晾晒干燥。晾晒烟可以用于制造雪茄烟、烟丝、鼻烟、嚼烟等,也可少量搭配用于生产卷烟。由于晾晒烟辛辣味重,刺激性大,因此消费面较窄。单经过研究试种,许多上乘的烟叶品种培植成功了,改进了原来的晒烟质量,形成了各具特色的地方晾晒烟。

(2) 烤烟(flue-cured tobacco):原产于美国弗吉尼亚州,国际上称弗吉尼亚型烟(Virginia tobacco)。由于这种烟叶是在烤房内装上火管加温烘烤的,所以又叫烤烟,烟叶经烘烤后,叶片色泽金黄,光泽鲜明,味香醇和,其产量约占全球烟草总产量的 40% 以上,是世界各国生产烤烟型卷烟的主要原料。烤烟的主要生产国家有:中国、美国、加拿大、印度、津巴布韦等。中国烤烟产量约占烟叶总产量的 80% 以上,烤烟生产主要集中在云南、河南、贵州、山东等省。

(3) 白肋烟(burley tobacco):白肋烟原产于美国,由于叶片的茎、脉呈乳白色而得名。它属一种深褐色晾晒烟。这种烟叶香气浓郁,尼古丁含量较高,是生产混合型卷烟的主要原料。种植白肋烟的国家有美国、日本、巴西等。中国生产主要集中在山东、河南、安徽、湖北、重庆等地。

(4) 香料烟(aromatic tobacco):又称土耳其烟(Turkish tobacco)或东方型烟(oriental

tobacco)。香料烟叶主要产于土耳其、保加利亚、希腊、泰国等国。它是一种特殊品种,叶片很小,烟叶含有较高的芳香物质,是生产混合型卷烟的配方烟叶,也可加大用量生产一种香料型卷烟。但香料烟叶的产量较低,一般亩产约 40 ~ 50 kg,因而售价较高,只能少量使用生产混合型卷烟。

(5)雪茄烟(cigar tobacco):这里不是指卷制成的成品雪茄,而是指制造雪茄的原料,作为烟叶的雪茄烟。制作雪茄的原料烟叶要求比较严,分为包叶烟(wrapper tobacco)、束叶烟(binder tobacco)和芯叶烟(filler tobacco)三种。其中要求最严的是包叶烟,要求叶片薄而轻,叶脉细,组织细密,弹力与张力强,颜色均匀而有光泽。这种包叶烟一般都要专门种植,我国包叶烟的产地以四川为主,而以浙江桐乡所产质量最好。

(6)黄花烟(rustica tobacco):黄花烟与上述 5 种红花烟在植物分类上属不同的种,所以有较大的差异。它的植株比红花烟矮小,生长期短,耐寒力强,所以中国种植黄花烟的地区都在北方,主要有兰州黄花烟(即兰州水烟)、新疆伊犁莫合烟(又称马合烟)。大多加工制为斗烟和水烟。

我国是世界上最大的烟草消费大国。根据联合国世界卫生组织的调查,12 亿人中估计有 3.2 亿烟民(占世界吸烟人的 1/4),其中男性 3 亿,女性 2000 万。我国烟草制品中最大的种类是卷烟,即纸烟、香烟。

二、烟叶组织细胞结构

烟叶是烟草植株的营养器官,它的主要功能是制造营养物质并供应植株生长发育所需要的养分。烤烟叶片有叶耳,没有叶柄,整个叶子是直接长在主茎上。烟叶分正面和背面两面,即在植株上朝向阳光的一面为叶正面,背着阳光的一面是叶背面。一片叶子从头到尾又可划分为基部、中部、尖部三部分(图 1-1)。叶子中间有一条主脉(stem),俗称烟筋或烟梗;主脉两侧有 9 ~ 12 条支脉(vein)。

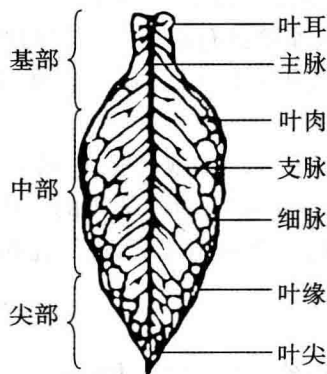


图 1-1 烟叶的结构

由于烟叶的生长发育是从基部向尖部、从主脉向两边逐渐进行的,所以叶尖叶边多由较早形成的细胞所组成,生理年龄较老。而叶基和靠近主脉部分则由稍晚一些出现的

细胞所组成,生理叶龄较幼嫩。在叶尖、叶缘处具有细胞排列疏松的吐水组织,当叶子水分过多时,能排除多余的水分。

烟叶的大小和厚薄,随品种、部位、土壤情况、栽培措施等情况的不同而变化。烤烟叶片的大小在 $929 \sim 1394 \text{ cm}^2$,厚度为 $0.2 \sim 0.5 \text{ mm}$,同株烟一般下部叶片大而较薄,中部叶片大小、厚度适中,上部叶片较小而厚。

1. 烟叶的解剖结构

从叶片横切面上看出,烟叶由上表皮、叶肉和下表皮组成。维管束(叶脉)居于上下表皮之间,由韧皮部、木质部或导管、薄壁细胞构成(图 1-2)。

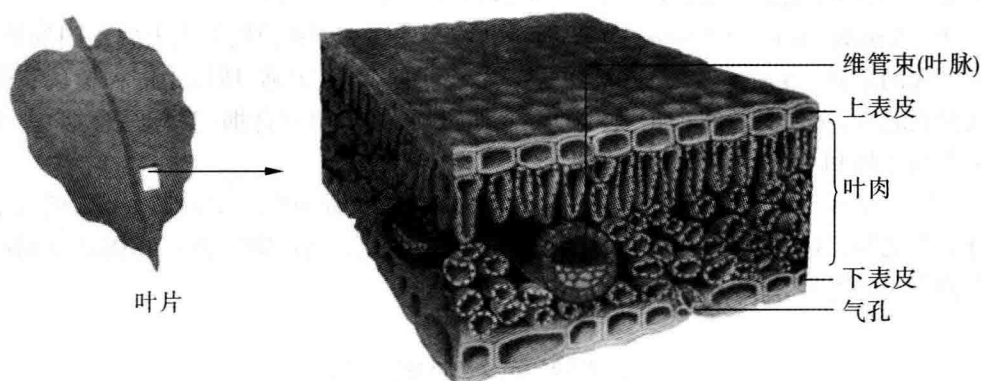


图 1-2 烟叶的解剖结构

(引自人民教育出版社“生物圈中的绿色植物”图片教材)

(1) 表皮

表皮最外层为密生茸毛(腺毛),起分泌和保护作用。普通红花烟草的表皮茸毛分泌的香精油、树脂、腊等,是重要的烟草吃味和香气组分的前体,包括杜伐(duvane)双萜、赖百当(labdane)双萜、蔗糖酯、脂肪醇和高分子的蜡酯等。

表皮由单层细胞构成,细胞外壁具有起保护作用的角质层,角质层随品种、发育叶龄、栽培条件而变化,通常上表皮细胞稍大,角质层微厚,下表皮细胞略小,角质层极薄,角质层与烟叶失水速度密切相关。

表皮上的气孔器由两个半月形保卫细胞组成,中间是进行气体交换的气孔。上表皮的气孔器较少,每平方毫米约 200 个左右;而下表皮的气孔器较多,每平方毫米约 300 个。顶叶的气孔器较小,脚叶、腰叶的气孔器稍大,通过气孔的闭合与开放,调节水分蒸腾和进行光合作用。

(2) 叶肉

在上下表皮之间除去叶脉以外的叶组织称为叶肉(生产上习惯于连同上下表皮都称为叶肉或叶片)。叶肉分为栅栏组织和海绵组织,栅栏组织在上表皮内方,是一些垂直平行而形状较整齐的长柱形薄壁细胞,细胞内含大量叶绿体,是进行光合作用的主要场所。海绵组织在下表皮内方,是一些形状不规则、排列也不规则的薄壁细胞,细胞呈空穴状,细胞内也含有叶绿体,但数量不多,故叶背面往往绿色较淡。

(3) 维管束

通常称为叶脉。多由木质部和韧皮部组成。木质部是水分和无机盐类的主要通道；韧皮部是有机物质的运输通道。

2. 烟叶的细胞结构

细胞是一切生物体进行生命活动的结构和功能的基本单位。随着生物科学技术的发展和我国烟草生产与科研的需要,烟叶细胞结构及化学成分变化机理的研究已成为不可忽视的研究领域。细胞结构又称为亚显微结构,是指在普通光学显微镜下无法分辨清楚的细胞内微细结构,在电子显微镜下则可显示组织和细胞的微细结构,以及其在不同功能状态与分化发育中的变化。现将烟草细胞结构归述如下(图 1-3)。

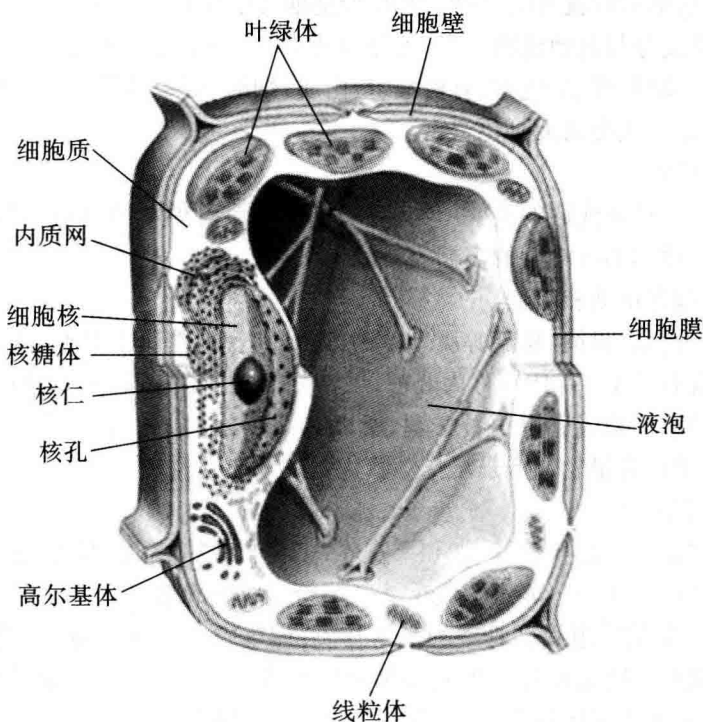


图 1-3 烟叶的细胞结构

(1) 细胞壁

细胞壁的分子骨架是由果胶-纤维素-半纤维素总体结构形成的绳网状结构模型。烟叶细胞壁物质主要成分包含果胶、纤维素、半纤维素、木质素、矿质元素和胞壁蛋白等。烟叶细胞壁物质的形成、转化及含量与卷烟可用性及评吸性密切相关。细胞壁物质使烟气具有强烈的刺激性、枯焦气和木质气,影响到烟草的吃味、协调性和安全性。细胞壁水解酶活性变化可以影响到大田和调制中细胞的生理生化反应和最终的烟叶质量。研究生长过程中叶肉细胞超微结构的变化,不仅可以认识细胞的发育规律,还可为病虫害防治、成熟采收、优化烘烤工艺和改善烟叶品质提供科学依据,还能从细胞分子水平解释特色优质烟叶的形成机理,为开发特色优质烟叶提供技术支撑。

(2) 原生质体

原生质体由细胞膜、细胞质、细胞核组成,内含许多细胞器,如质体、线粒体、核糖体等。

三、烟草化学

众所周知,吸烟有害健康。科学家对烟草中的化学成分进行长期的研究指出,烟草中的化学成分非常复杂,各种不同类型烟草中的化学组成存在着重大的差异。截至 1988 年(据 Roberts, 1988 Tobacco Reporter 报道)已经鉴定出烟气中的化学成分已达 5068 种,其中 1172 种是烟草本身就有的,另外 3896 种是烟气中独有的。

烟草的化学成分与其他植物一样,可分为两大类:一类为有机化合物,一类为无机化合物。糖、淀粉、糊精、纤维、色素、有机酸、蛋白质、烟碱、氨基酸等属有机化合物;氯、钾、磷、钙、镁、硫等无机盐类属无机化合物。

1. 碳水化合物

碳水化合物是植物代谢的主要产物,对烟草的品质有很大的影响。烟草中的碳水化合物有可溶性的糖和不可溶性的多糖。

(1) 可溶性糖有单糖和双糖

烟草中的葡萄糖、果糖、核糖等属于单糖,蔗糖和麦芽糖属于双糖。因为葡萄糖和核糖分子结构中含有醛基($-\text{CHO}$)称为醛糖,果糖分子中含有酮基($-\text{C}=\text{O}$)称为酮糖,醛基和酮基在碱性溶液中都能还原酒石酸铜,所以在烟草化学分析中,用这一性质来检测烟草中单糖含量,单糖含量的高低是衡量烟草优劣的重要因素之一。

(2) 不溶性的多糖

烟草中的多糖包括淀粉、纤维素和果胶等,多糖与单糖、双糖不同,它没有还原能力,但在酸性条件或酶的作用下能水解成单糖。淀粉在成熟的烟草中的含量为 10% ~ 30%。纤维素是构成烟草细胞组织和骨架的基本物质,烟草中含纤维素的量一般在 11% 左右,它随着烟草等级的下降而增加。果胶在烟草中含量为 12% 左右,果胶影响烟草的弹性、韧性等物理性能,由于果胶的存在,当烟草含水分多时烟草的弹性、韧性就增大,含水少时就发脆易碎。

2. 含氮化合物

烟草含氮化合物较多,主要有蛋白质、烟碱和游离碱。

烟草中的蛋白质对烟草质量影响较大,在燃烧时产生一种臭鸡蛋味,其含量一般在 5% ~ 15%。在检测烟草化学成分时不直接检测蛋白质,而是通过测得的氮元素含量来换算出蛋白质含量。

烟碱俗称尼古丁,烟草之所以能区别于其他植物主要是因为含有烟碱。烟碱容易和酸进行化学反应,与草酸、柠檬酸作用,生成草酸盐和柠檬酸盐,与硅钨酸作用生成烟碱硅钨酸的白色沉淀。其在烟叶中占总生物碱含量的 95% 以上。

烟草中还有一种游离碱,虽然含量很低,但对卷烟质量影响很大,卷烟在燃烧时,挥发碱受热进入烟气中,对人的感官产生一种辛辣刺激,但烟气中还必须有一定量的挥

发碱。

3. 有机酸

烟草中含有机酸 200 种以上,其含量一般为 12% ~ 16%。大部分为二元酸和三元酸,其中以柠檬酸、苹果酸、草酸、琥珀酸含量最多,这四种酸占烟草中的有机酸的 70%,可中和游离碱,降低烟气的辛辣、呛喉现象,使烟气变得甜润舒适。

4. 矿物质

烟草中的矿物质种类繁多,主要包括钾、钙、镁、氯等以金属氧化物、氯离子、不溶性碳酸盐、硫酸盐等形式存在,一般含量为 10% 上下。烟草的钾对烟叶的燃烧性和阴燃持火力起着决定作用。含量高则燃烧性和阴燃持火力都较强,烟灰也好。氯离子和烟叶的燃烧性关系最大,对于烤烟来说,氯的含量最好在 1% 以下。

5. 香物质

烟草中的香物质种类很多,主要包括:酸类(3-甲基戊酸,异戊酸,苯乙酸,异丁酸等);内酯(香紫苏内酯,壬内酯等);酸酐(甲基乙基苹果酸酐和二甲基苹果酸酐等);酮(茄酮,二氢大马酮等);醇类(苧醇,苯乙醇等);含氮化合物(吡咯,2-乙酰基吡咯,5-甲基-2-乙酰基吡咯等);醚类(桉树脑,降龙涎香醚等)。

四、烟草生理生化

烟草的生长是其体积和重量不可逆的增长过程。生长过程是在形态方面进行着有规律的变化,经历了种子萌发、胚胎发育、器官产生等,而这些都是由烟草细胞的生长分化所引起的结果。

烟草生理生化主要研究烟草的化学组成和生命过程中以及成熟采收、调制和醇化发酵过程中的化学变化规律的科学。其主要内容包括烟草的光合作用、水分和矿物质吸收、生长发育与调控生理、生化代谢、烟草品质形成的生化代谢、烟草在调制醇化过程中的生理生化等。烟草生理生化是从事烟草生产和科学研究等方面的基础:如研究烟草种子生理为培育优良品种和壮苗提供必要的理论和技术基础;研究烟草的生长发育生理为烟草的适时移栽和烟株生长发育过程中提供栽培调控的方法和技术;通过对植物激素和生长调节剂的研究,为烟叶生产技术提供有效的化学控制技术;通过对烟株矿物质元素吸收规律及影响因素的研究,为烟叶生产的合理施肥及通过营养元素来调节烟叶内的化学成分(糖、生物碱、色素等)提供理论依据和方法,从而提高烟草品质;烟草的水分生理研究对烟草合理灌溉和水分控制提供理论依据;通过对烟草光合作用和碳素循环的研究,以及能量在烟草体内转化和物质合成代谢规律的探讨,为烟叶产量和质量形成规律提供了基本理论基础;此外,在烟草收获后的调制和醇化发酵阶段对烟叶化学成分的变化规律进行研究,对烟叶的加工有重要意义。

第二节 生物技术研究的内容

生物技术(biotechnology),是指人们以现代生命科学理论为基础,结合其他基础科学

的科学原理,采用先进的科学技术手段,按照预先的设计改造生物体或加工物质原料,为人类生产出所需产品或达到某种目的。

近些年来,以基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程为代表的现代生物技术发展迅猛,并日益影响和改变着人们的生产和生活方式。生物工程则是生物技术的统称,是指利用生物化学、分子生物学、微生物学、遗传学等原理与生化工程相结合,来改造或重新创造设计细胞的遗传物质、培育出新品种,以工业规模利用现有生物体系,以生物化学过程来制造工业产品。简言之,就是将活的生物体、生命体系或生命过程产业化的过程。

一、基因工程(Gene Engineering)

基因工程又称基因拼接技术或 DNA 重组技术,是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,将不同生物来源的基因按预先设计的蓝图,在体外剪切组合,并和载体(质粒、噬菌体、病毒)的 DNA 连接构建杂种 DNA 分子,然后导入微生物或细胞内,进行克隆,并使转入的基因在微生物或细胞内表达,以改变生物原有的遗传特性、获得新品种、生产新产品。基因工程技术为基因的结构和功能的研究提供了有力的手段,是现代生物工程的核心。

基因工程在开发特色新药或对传统医药进行改良方面,已经发挥了巨大的作用,引起了医药产业的重大变革,生物制药也得以迅速发展。生物药品是以微生物、寄生虫、动物毒素、生物组织为起始材料,采用生物学工艺或分离纯化技术制备,并以生物学技术和分析技术控制中间产物和成品质量而制成的生物活化制剂,包括菌苗、疫苗、毒素、类毒素、血清、血液制品、免疫制剂、细胞因子、抗原、单克隆抗体及基因工程产品(DNA 重组产品、体外诊断试剂)等。人类已研制开发并进入临床应用阶段的生物药品,根据其用途不同可分为三大类:基因工程药物、生物疫苗和生物诊断试剂。这些产品在诊断、预防、控制乃至消灭传染病,保护人类健康中,发挥着越来越重要的作用。

二、发酵工程(Fermentation Engineering)

发酵工程,是指采用现代工程技术手段,利用微生物的某些特定功能,为人类生产有用的产品,或直接把微生物应用于工业生产过程的一种新技术。发酵工程的内容包括菌种的选育、培养基的配制、灭菌、扩大培养和接种、发酵过程和产品的分离提纯等方面。

人们熟知的利用酵母菌发酵制造啤酒、果酒、工业酒精,乳酸菌发酵制造奶酪和酸牛奶,利用真菌大规模生产青霉素等都是这方面的例子。随着科学技术的进步,发酵技术也有了很大的发展,并且已经进入能够人为控制和改造微生物,使这些微生物为人类生产产品的现代发酵工程阶段。现代发酵工程作为现代生物技术的一个重要组成部分,具有广阔的应用前景。现代发酵工程不但生产酒精类饮料、醋酸和面包,而且生产胰岛素、干扰素、生长激素、抗生素和疫苗等多种医疗保健药物,生产天然杀虫剂、细菌肥料和微生物除草剂等农用生产资料,在化学工业上生产氨基酸、香料、生物高分子、酶、维生素和单细胞蛋白等。

三、细胞工程(Cell Engineering)

细胞工程是生物工程的一个重要方面。总的来说,它是应用细胞生物学和分子生物学的理论和方法,通过某种工程学手段,在细胞整体水平或细胞器水平上,依照人们的需要和设计来改变细胞内遗传物质或获得细胞产品的一门综合科学技术。按照人们的设计蓝图,进行在细胞水平上的遗传操作及进行大规模的细胞和组织培养。当前细胞工程所涉及的主要技术领域有细胞培养、细胞融合、细胞拆合、染色体操作及基因转移等方面。通过细胞工程可以生产有用的生物产品或培养有价值的植株,并可以产生新的物种或品系,或者获得新物质和产品。

主要研究内容包括:

(1)动植物细胞组织培养。该技术最显著的价值在于优良植物的快速繁育与代谢产物的大量制备方面。动植物细胞组织培养可分为三个层次上的培养:细胞培养、组织培养和器官培养。

(2)细胞融合。采用自然或人工的方法使两个或几个不同细胞(或原生质体)融合为一个细胞,用于生产新的物种或品系(植物上用得多,动物上用得少)及产生单克隆抗体。其中单克隆抗体技术能利用克隆化的杂交瘤细胞分泌高度纯一的单克隆抗体,具有很高的实用价值,已经在诊断和治疗病症方面做出了很大的贡献。

(3)染色体工程。染色体工程是按照人们的需要来添加、消减或替换生物的染色体的一种技术。主要分为动物染色体工程和植物染色体工程两种。动物染色体工程主要采用对细胞进行微操作的方法(如微细胞转移方法等)来达到转移基因的目的。植物细胞工程目前主要是利用传统的杂交、回交等方法来达到改变染色体的目的。

(4)胚胎工程。这项技术主要是对哺乳动物的胚胎进行某种人为的工程技术操作获得人们所需要的成体动物。胚胎工程采用的新技术包括胚胎分割技术、胚胎融合技术、卵核移植技术、体外授精技术、胚胎培养、胚胎移植以及性别鉴定技术、胚胎冷冻技术等。

(5)细胞遗传工程。主要包括克隆和转基因技术。前者主要是指无性繁殖,如动物克隆是指由一个动物经无性繁殖而产生的遗传性状完全相同的后代个体。现已在畜牧业、稀有动物遗传资源保护与繁衍、医学等方面展现了诱人前景。后者是指将外源基因整合到生物体内,得到稳定表达,并使该基因能稳定地遗传给后代的试验技术。它是改变物种遗传性状的最有效途径,现已在微生物、动植物领域得到迅速发展。

细胞工程与基因工程一起代表着生物技术最新的发展前沿,伴随着试管植物、试管动物、转基因生物反应器等相继问世,细胞工程在生命科学、农业、医药、食品、环境保护等领域发挥着越来越重要的作用。

四、酶工程(Enzyme Engineering)

酶工程,又可以说是蛋白质工程学,利用传统突变技术或分子生物学技术,将蛋白质上的氨基酸进行突变,以改变蛋白质之化学性质和功能。例如:在酶的应用上,可以让原

本不耐热的酶在经过酶工程改变后酶可以耐热。

在二十世纪七十年代以后,伴随着第二代酶——固定化酶及其相关技术的产生,酶工程才算真正登上了历史舞台。固定化酶正日益成为工业生产的主力军,在化工医药、轻工食品、环境保护等领域发挥着巨大的作用。

酶的作用力虽然很强,尤其是被固定起来之后,力量就更大了,但并不是所有的酶制剂都适合固定化的,即使是用于固定化的天然酶,其活性也往往不能满足人们的要求,需要改变其某些性质、提高其活性,以便更好地发挥其催化功能。于是,酶分子修饰和改造的任务就被提出来了。对酶进行改造和修饰也是酶工程的一项重要内容。一般来说,科学家们是通过酶蛋白分子的主链进行“切割”、“剪切”以及在侧链上进行化学修饰来达到改造酶分子的目的。被修饰、改造的酶分子,无论是物化性质,还是生物活性都得到了改善,甚至被赋予了新的功能,这被称为第三代酶。它是包括辅助因子再生系统在内的固定化多酶系统,它正在成为酶工程应用的主角。只要在生物体内找到了某种有用的酶,即使含量再低,只要应用基因重组技术,通过基因扩增与增强表达,就可能建立高效表达特定酶制剂的基因工程菌或基因工程细胞了。把基因工程菌或基因工程细胞固定起来,就可构建新一代的生物催化剂——固定化工程菌或固定化工程细胞了。人们也把这种新型的生物催化剂称为基因工程酶制剂。

固定化基因工程菌、基因工程细胞技术将使酶的威力发挥得更出色,科学家们预言,如果把相关的技术与连续生物反应器巧妙结合起来,将导致整个发酵工业和化学合成工业的根本性变革。

第三节 烟草与生物技术间的渊源

一、烟草自身的价值

烟草是一种经济价值较高的作物,烟草除主要用于吸食外,还有较为广泛的用途。

1. 烟草是重要的模式植物

对于植物学科的发展来说,无论是基础研究还是应用研究,烟草作为模式植物都起了很大的作用,尤其是在遗传、繁育、生理、生化和后期采收代谢方面。尤其在烟草品质改良、生物反应器等方面的研究也取得了一定的进展。烟草种子数量多,品系之间特别容易杂交,尤其是它的染色体里有许多标记性基因,因此,是一种进行遗传学研究的绝佳研究材料。它的许多明显的化学、物理学和植物学特征,也为科学研究提供了许多便利。运用基因工程手段,先后将生物的一些与抗病、抗虫、抗旱、抗盐、抗冷、抗热、抗除草剂以及光合作用、营养元素的吸收利用等相关的转录因子或功能蛋白转入烟草,并获得了这些性状得到改善的转基因烟草。国外有报道将烟草植株作为抗体和疫苗的生物反应器,如巴西用烟草生产抗蝎子毒液的抗体^[5-8]。

烟草作为一种重要的经济作物,人们在烟草的生长发育、抗逆、抗病虫等基础理论研究方面,也越来越多地采用了基因工程的手段与方法,并取得了明显成效。同时,随着植