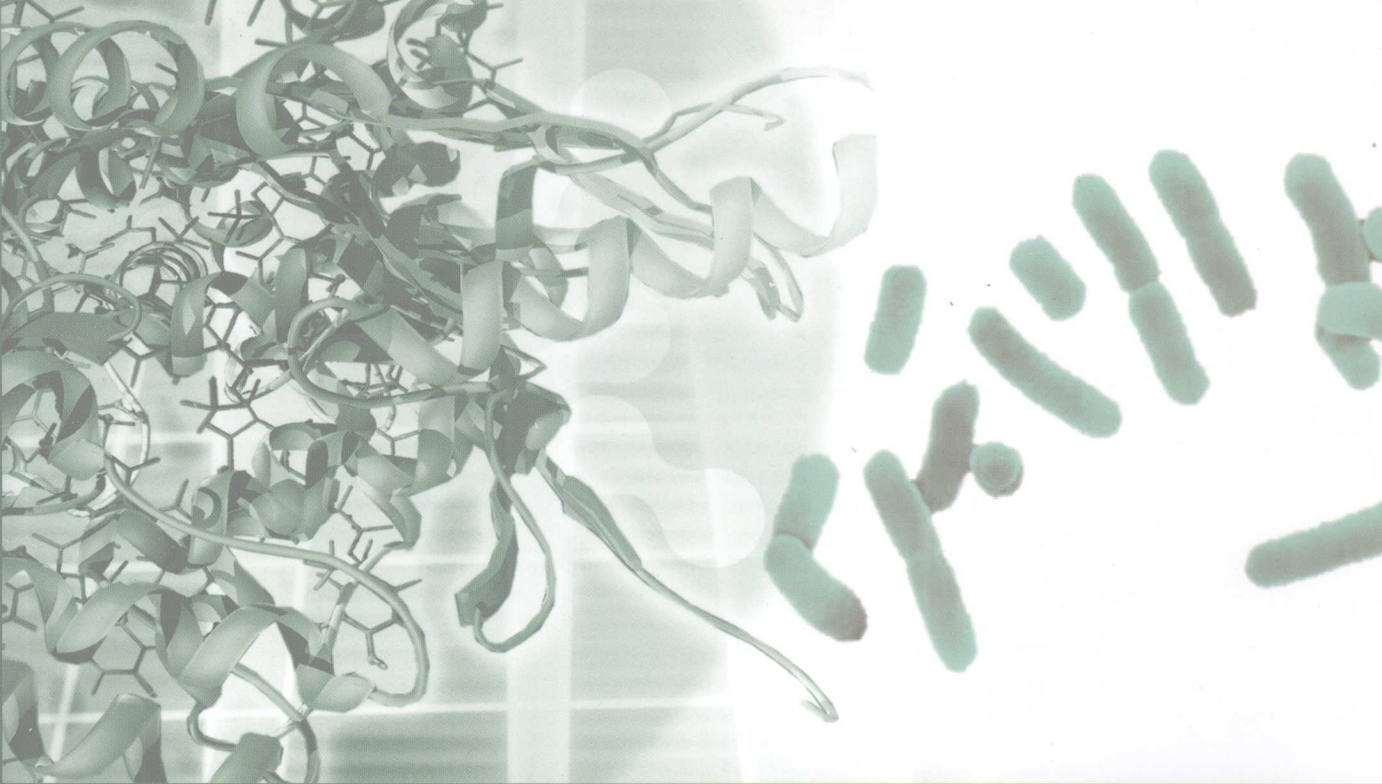




Modern Feed Biotechnology and Application

现代饲料生物技术

与应用

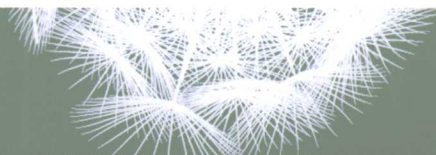


◎ 张日俊 主编

- ◎ 饲料微生物与发酵工程
- ◎ 生物活性物质分离
- ◎ 动物微生态理论及其添加剂
- ◎ 生物饲料
- ◎ 生物活性肽
- ◎ 饲用酶制剂
- ◎ 饲料生物质资源开发



化学工业出版社
生物·医药出版分社



本书结合作者实验室多年的研究和实践经验,对当今饲料生物技术领域的研究成果和应用技术进行了系统的总结和提炼,是现代生物技术与动物营养学和饲料科学交叉渗透的结晶,系统地介绍了国内外饲料生物技术及其应用,内容涵盖了基因工程、微生物工程(发酵工程)、细胞工程、蛋白质工程、酶工程及生化工程等学科的理论和技术在饲料工业中的研究成果和应用实践,阐述了包括饲料生物技术的基本理论、新技术、新方法、新工艺以及国内外研究和应用的最新进展与发展前景。

本书可作为高等院校及科研院所相关专业的研究生教材和教师用书,也可供生物科技企业及研发机构、饲料企业、养殖企业、动物保健企业以及其他相关企业的技术人员或专家使用。

现代饲料生物技术与应用

张日俊 主编

张日俊 封面设计

图书在版编目(CIP)数据

现代饲料生物技术与应用/张日俊主编. —北京:化学工业出版社, 2008.5
ISBN 978-7-122-02811-2

I. 现… II. 张… III. 生物技术-应用-饲料工业 IV. S816

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 062551 号

责任编辑:李丽 邵桂林
责任校对:王素芹

装帧设计:潘峰

出版发行:化学工业出版社 生物·医药出版分社
(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印刷:大厂聚鑫印刷有限责任公司

装订:三河市宇新装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张 26¼ 字数 648 千字 2009 年 1 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询:010-64518888 (传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:75.00 元

版权所有 违者必究

京化广临字 2008—52 号

前言

生物技术正以惊人的速度迅速发展,已经成为当代生命科学研究诸多领域中最具生命力、最引人关注的前沿学科之一,并在农业、畜牧业、饲料工业、医药、轻工业、化工等行业得到较为广泛的应用,对相关学科的研究和技术开发产生了深远的影响。基因工程(DNA重组技术)、酶工程、发酵工程(微生物工程)、细胞工程和蛋白质工程也逐步融入动物营养与饲料科学,相互交叉、渗透,形成了一门崭新的分支学科——饲料生物技术,即以饲料和饲料添加剂为对象,运用生物技术和生化工程等原理及技术手段研究和开发新型饲料资源、饲料的高效利用、新型饲料添加剂及其制造技术、生物学功能及其作用机理的一门分支学科。其目的是提高饲料的吸收、利用和转化效率以及动物的生产能力,改善动物的营养和健康状况,减轻养殖业造成的环境污染,最终为人类提供更为营养和健康的高品质动物食品。相信饲料生物技术将对饲料工业的技术革新或技术升级以及实现优质、安全、高效、生态畜牧业发挥重要作用。

由于生物技术的迅猛发展,已有许多生物技术的专著或出版物问世,但国内外至今尚未见到一部系统阐述饲料生物技术及其应用的出版物。因而,本书结合作者实验室多年的研究和实践,对当今饲料生物技术进行了系统地总结和提炼,是现代生物技术与动物营养学和饲料科学交叉渗透的结晶。书中系统地阐述了现代饲料生物技术的基本知识、基本原理、新技术、新方法、新工艺以及国内外最新研究进展(成果)和发展趋势,力求达到基础性、系统性、实用性和前沿性于一体。希望本书的出版能起到抛砖引玉的作用,使读者能在饲料生物技术的研究与应用中有所裨益、有所启发,实现作者编写此书最大的心愿。我国虽然已经成为世界第二大饲料生产大国,但目前的饲料工业及其技术面临许多挑战和创新,因此,也希望本书的出版能推动我国饲料工业的技术升级和创新,促进绿色动物性食品和饲料生物技术的发展。

全书共分11章,从理论、研究方法、开发应用、制造工艺及发展趋势等方面进行了阐述。各章的具体分工如下:第1章(饲料生物技术概述)张日俊;第2章(饲料微生物与发酵工程)张日俊;第3章(基因工程及其在饲料中的应用)胡晓年、向前;第4章(生物活性物质的分离纯化技术)张日俊、于长青;第5章(微生态原理及微生物饲料添加剂制造技术)张日俊、唐燕红;第6章(生物饲料的制造原理与技术)张日俊、汪国和;第7章(饲用酶制剂理论与应用)丁丽敏、张日俊;第8章(肽营养理论与肽类饲料添加剂)张日俊、陈小茨;第9章(免疫调节剂及其生物加工)张日俊、张功;第10章(海洋生物资源与新型饲料和添加剂开发)张日俊、钮晓艳;第11章(饲料生物物质资源的开发和应用)张日俊、汪国和;全书由张日俊统稿。

本书可作为高等院校及科研院所相关专业的研究生教材和教师用书,也可供生物技术企业及研发机构、饲料企业、养殖企业、动物保健企业以及其他相关企业的技术人员或专家使用。

在本书编著过程中参考了大量国内外同行或相关领域专家学者们撰写的有关书籍和学术论文资料,在此表示诚挚的谢意。

中国农业大学饲料生物技术实验室 动物营养学国家重点实验室

2008 年 10 月

目 录

第 1 章 饲料生物技术概述	1
1.1 生物技术的内涵、组成、研究领域和应用	1
1.1.1 生物技术的内涵	1
1.1.2 生物技术发展简史	2
1.1.3 现代生物技术的分类和组成	7
1.1.4 现代生物技术的主要领域	11
1.1.5 生物技术的应用	19
1.1.6 生物技术的前景展望	21
1.2 饲料生物技术	22
1.2.1 饲料生物技术的概念、研究内容	22
1.2.2 饲料生物技术与相关学科的关系	23
1.2.3 饲料生物技术的应用	24
1.2.4 饲料生物技术展望	30
参考文献	30
第 2 章 饲料微生物与发酵工程	32
2.1 发酵工程中的微生物菌质资源	33
2.1.1 微生物的分类、特点和作用	33
2.2 发酵工程的类型、特点和应用	34
2.2.1 发酵类型	34
2.2.2 发酵技术的特点	35
2.2.3 发酵工程的应用	36
2.3 微生物发酵工程上游技术	36
2.3.1 菌种分离、选育的原则与步骤	36
2.3.2 产生目标物质的微生物选育	38
2.3.3 自然选育	39
2.3.4 诱变选育	39
2.4 发酵工程的中游技术	42
2.4.1 培养基	43
2.4.2 发酵种类	44
2.4.3 发酵工艺的一般流程	45
2.4.4 发酵方式	46
2.4.5 生物反应器的设计、种类与特性	49
2.4.6 发酵过程的优化与控制	53
2.5 发酵工程下游技术	57
2.5.1 发酵液的预处理和固液分离方法	58
2.5.2 微生物细胞的破碎	62
2.5.3 目标产物的提取	62
2.5.4 目标产物的精制	63

2.5.5 成品加工	64
2.6 发酵工程应用案例——氨基酸生产	65
2.6.1 赖氨酸发酵生产的菌种	65
2.6.2 赖氨酸发酵生产的工艺	65
2.6.3 赖氨酸发酵生产的主要原料制备及生产培养基	65
2.6.4 种子扩大培养	66
2.6.5 发酵生产赖氨酸的工艺条件控制	67
2.6.6 赖氨酸的提取和精制	67
参考文献	67
第3章 基因工程及其在饲料中的应用	69
3.1 基因工程技术原理	69
3.1.1 基因工程基本概念	69
3.1.2 目的基因的获得	70
3.1.3 基因工程载体	71
3.1.4 DNA 重组	75
3.1.5 重组 DNA 分子导入受体细胞	77
3.1.6 重组子的筛选与鉴定	78
3.1.7 外源基因在宿主细胞中的表达	79
3.1.8 转基因动物与转基因植物	80
3.1.9 基因诊断与基因治疗	80
3.1.10 动物整体克隆技术	81
3.2 基因工程技术在动物饲料中的应用	81
3.2.1 提高饲料作物产量	81
3.2.2 改善饲料营养品质	84
3.2.3 开发新型饲料添加剂	84
参考文献	86
第4章 生物活性物质的分离纯化技术	90
4.1 离心分离技术及设备	90
4.1.1 离心沉降	90
4.1.2 离心过滤	91
4.1.3 超离心	92
4.2 板框压滤分离	94
4.3 超滤膜分离和浓缩技术	96
4.3.1 超滤膜组件	97
4.3.2 超滤膜的污染和浓差极化及控制对策	98
4.3.3 超滤膜分离系统设计	100
4.4 纳滤	104
4.4.1 纳米过滤的分离机理	104
4.4.2 纳滤膜组件及其分离过程的系统设计	105
4.4.3 膜的污染和劣化	106
4.5 干燥技术及设备	107
4.5.1 气流干燥技术	107
4.5.2 沸腾干燥技术	110
4.5.3 喷雾干燥技术	111

4.5.4	冷冻干燥技术	112
4.5.5	红外线干燥	114
4.6	应用	115
4.6.1	膜技术在制备活性物质中的应用	115
4.6.2	喷雾干燥在活性物质中的应用	116
	参考文献	117
第5章	微生态原理及微生物饲料添加剂制造技术	119
5.1	动物微生态学概述	119
5.1.1	动物微生态学概念	119
5.1.2	动物微生态发展简史	120
5.1.3	动物微生态与其他学科的关系	123
5.1.4	动物微生态学发展前景	124
5.2	动物微生态理论	127
5.2.1	微生态平衡与失调理论	127
5.2.2	改善宿主主体内外生态环境理论	128
5.2.3	微生态营养理论	129
5.2.4	“三流”循环学说理论	129
5.3	微生态营养	130
5.3.1	消化道微生物菌群	130
5.3.2	消化道菌群与动物的代谢关系	132
5.4	微生物饲料添加剂	146
5.4.1	微生物(态)饲料添加剂概念	146
5.4.2	微生物饲料添加剂菌种及生物学特性	147
5.4.3	微生物饲料添加剂的作用机理及功效	150
5.4.4	微生物饲料添加剂在动物生产中的应用	153
5.4.5	微生物饲料添加剂的发展趋势及问题	156
5.5	微生物饲料添加剂的菌种筛选	157
5.5.1	益生菌菌种的来源和应具备的特性	157
5.6	微生物饲料添加剂制造工艺及质量检测	162
5.6.1	国内微生物饲料添加剂(益生菌)生产中的问题	162
5.6.2	微生物饲料添加剂(益生菌)的生产工艺技术	163
5.6.3	微生物饲料添加剂或其他益生菌剂的质量检测	174
5.7	益生元和合生元	177
5.7.1	益生元	177
5.7.2	合生元(素)	180
5.8	应用技术	181
5.8.1	影响微生物饲料添加剂功效的因素	181
5.8.2	微生态制剂的科学合理使用及注意事项	182
	参考文献	186
第6章	生物饲料的制造原理与技术	189
6.1	概述	189
6.1.1	生物饲料的概念和意义	189
6.2	生物饲料的功能及技术原理	191
6.2.1	生物饲料原料的理化特性	191

6.2.2 生物饲料的技术原理	193
6.3 生物饲料的加工工艺及参数控制	194
6.3.1 生物饲料的加工工艺	194
6.3.2 生物饲料发酵条件的参数或质量控制	198
6.4 生物饲料的功能及其在动物生产中的应用	204
6.4.1 液体发酵生物饲料在动物生产中的应用	204
6.4.2 固体发酵生物饲料在动物生产中的应用	206
6.4.3 生物饲料存在的问题	207
6.4.4 展望	207
参考文献	207
第7章 饲用酶制剂理论与应用	210
7.1 酶制剂理论基础	210
7.1.1 概述	210
7.1.2 酶合成的调控	220
7.1.3 产酶微生物的菌种选育	225
7.1.4 酶蛋白的释放及产量调控技术	232
7.2 饲用酶工程技术	234
7.2.1 饲用酶工程概述	234
7.2.2 饲用微生物酶开发的一般程序	236
7.2.3 优良产酶菌种的标准	239
7.2.4 样品的收集和菌种的分离	241
7.2.5 菌种培养	241
7.2.6 产酶菌的筛选	242
7.2.7 酶的发酵技术	244
7.2.8 发酵后处理技术	250
7.2.9 酶活力的测定	253
7.2.10 酶的制剂与保存	255
7.2.11 酶质量的控制及标准	256
7.3 饲用酶制剂	257
7.3.1 饲用酶制剂的作用及其机理	257
7.3.2 饲用酶制剂的分类及其特点	258
7.3.3 饲用酶制剂的应用技术	264
参考文献	269
第8章 肽营养理论与肽类饲料添加剂	271
8.1 氨基酸、肽和蛋白质概述	272
8.1.1 氨基酸	272
8.1.2 蛋白质	274
8.1.3 肽键、肽、多肽、寡肽、小肽和生物活性肽	275
8.1.4 肽的命名	276
8.2 肽的理化特性	278
8.2.1 肽的一般理化特性	278
8.2.2 大豆肽的理化特性	279
8.3 肽的分类及特性	281
8.3.1 根据生物活性肽的来源分两大类	281

8.3.2 根据肽的生物学功能分四大类	281
8.4 肽的吸收、代谢与机制	287
8.4.1 肽的吸收机制	287
8.4.2 影响肽吸收的因素	290
8.4.3 肽的代谢	290
8.5 肽的生物学功能	292
8.5.1 肽促进蛋白质(或氨基酸)的吸收利用和组织蛋白的合成	292
8.5.2 肽的营养作用	293
8.5.3 肽的生理活性作用	294
8.6 影响肽释放、吸收、利用的因素	295
8.6.1 小肽本身的理化性质	295
8.6.2 日粮蛋白质的含量与品质	295
8.6.3 日粮采食水平	296
8.6.4 加工、储藏条件	296
8.6.5 其他因素	296
8.7 肽的开发、制造与应用	296
8.7.1 制肽原材料及特性	296
8.7.2 制备活性肽的方法及工艺流程	300
8.8 生物活性肽在饲料工业中的应用	303
8.8.1 改善饲料风味,提高饲料的适口性,具有饲料诱食剂的功能	303
8.8.2 具有促生长保健和提高免疫力作用,可作为抗生素替代品	303
8.8.3 满足幼龄畜禽对蛋白质的需求,提高生产性能	303
8.8.4 具有强的抗氧化作用,可作为天然抗氧化剂,保护活性成分,提高饲料品质	304
8.8.5 调节脂肪代谢,改善胴体品质	304
8.8.6 作为矿物元素的螯合剂,提高机体对矿物质元素的利用率	305
8.8.7 促进类胡萝卜素转运和在蛋黄中的沉积,改善禽蛋品质	305
8.8.8 促进幼龄动物肠道黏膜发育,减少腹泻的发生	305
8.8.9 促进胃肠道菌群生长,改善肠胃健康状况	305
8.8.10 带动蛋白质的吸收和转运,提高饲料利用率	306
8.8.11 寡肽对反刍动物的特殊作用	306
8.9 展望	307
参考文献	307
第9章 免疫调节剂及其生物加工	316
9.1 概述	316
9.1.1 免疫调节剂	316
9.1.2 分类	317
9.2 免疫调节剂的理论基础	317
9.2.1 动物的免疫系统及其生物学功能	317
9.2.2 动物营养免疫学研究进展与应用	323
9.3 免疫调节剂的开发与制备技术	333
9.3.1 免疫调节剂的来源	333
9.3.2 免疫调节剂的制备技术	347
9.4 免疫调节剂的应用	351
参考文献	352

第 10 章 海洋生物资源与新型饲料和添加剂开发	357
10.1 海洋生物资源种类及特性	357
10.1.1 海洋生物资源概述	357
10.1.2 海洋生物资源种类及特性	357
10.1.3 海洋生物资源的合理开发与利用	365
10.2 海洋生物资源饲料化与新型饲料添加剂	368
10.2.1 海洋生物资源饲料化	368
10.2.2 海洋生物资源与新型饲料添加剂开发利用	373
10.3 海洋单细胞蛋白的生产及在饲料工业中的应用	378
10.3.1 概述	378
10.3.2 海洋单细胞蛋白的生产	378
10.3.3 单细胞蛋白在水产养殖业的应用	384
10.3.4 海洋单细胞蛋白利用所面临的问题与对策	384
参考文献	385
第 11 章 饲料生物质资源的开发和应用	387
11.1 概述	387
11.1.1 生物质的概念	387
11.1.2 生物质资源开发和利用的重大意义	387
11.2 生物质能源开发和利用	390
11.2.1 国内生物质资源能源在能源领域中的开发和利用	390
11.2.2 国外生物质资源在能源领域中的开发和利用	390
11.3 植物源性生物质饲料的开发和利用	391
11.3.1 秸秆生物质饲料资源的开发和利用	391
11.3.2 糟渣类生物质饲料资源的开发和利用	392
11.4 动物源性生物质饲料资源的开发和利用	393
11.4.1 畜禽血液生物质资源的开发和利用	393
11.4.2 家禽羽毛生物质资源的开发和利用	397
参考文献	403

第 1 章 饲料生物技术概述

1.1 生物技术的内涵、组成、研究领域和应用

1.1.1 生物技术的内涵

生物技术是一门历史悠久又含有现代科学和工程的科学技术，特别是从 20 世纪六七十年代起，由于原生质体融合技术及 DNA 重组技术的发展，更赋予生物技术以崭新的内容而被列为当前高新技术领域。这是因为目前人们已经能从细胞水平以致分子水平改造已有的生物品种和组建新的生物品种，并将它们用于工业、农牧业等多领域生产和为人民的保健和社会福利服务。

生物技术 (biotechnology) 或称生物工程 (bioengineering)，是以生命科学（特别是遗传学、微生物学、生物化学和细胞学）理论和技术为基础，结合各种现代工程技术（化工、机械、电子计算机等），充分运用分子生物学的最新成就，按人类需要提供商品（生产生物制品和创造新物种）和社会服务的综合性科学技术体系，主要包括基因工程（DNA 重组技术）、细胞工程（细胞杂交技术）、酶工程、发酵工程（微生物工程）和蛋白质工程五个领域。

关于生物技术的定义，也有不少学者或学术组织对其赋予各种观点。

国际经济合作及发展组织在 1982 年提出生物技术是“应用自然科学及工程学的原理，依靠生物作用剂的作用将物料进行加工以提供产品或为社会服务”的技术，这里所谓的生物作用剂可以是酶、整体细胞或多细胞生物体，一般也称为生物催化剂。

国际纯粹及应用化学联合会在 1981 年对生物技术作了如下定义：生物技术是将生物化学、生物学、微生物学和化学工程应用于工农业生产过程，包括医药卫生、能源及农业的产品及环境保护的技术。

由 Moo-Young 主编的《综合生物技术》中提出：生物技术是对生物作用和生物物料加以评价和应用，并进行工业生产的技术。

由 Higgins 等编写的《生物技术的原理及应用》中认为：生物技术是生物系统或生物过程的工业利用，它在很大程度上取决于对生物系统及其催化作用专门知识的认识。

上述关于生物技术的不同定义以及其他各种有关定义的基本内容大致是相同的，归纳起来有三个特点：

- ① 生物技术是一门多学科、综合性的科学技术；
- ② 反应中需要有生物催化剂的参与；
- ③ 它的最后目的是建立工业化生产过程。

生物技术之所以受到世界各国的重视，因为其具有三大特征，非一般科技所能比拟：

- ① 在基础学术研究方面，生物技术已经成为研究生命科学的基本工具；
- ② 在经济发展方面，生物技术具有广泛深远的应用潜力，广泛应用于医药产业、食品产业、环保产业、海洋产业、能源产业、农牧产业和饲料产业等；

③ 在增进国民福祉方面, 生物技术的应用除了有助于经济发展外, 更重要的是提升国民生活水准, 解决若干环保问题, 对国民健康尤具重要的贡献。

生物技术因其应用性广、污染性低、能源依存度低, 为一技术密集、经济效益高的新兴科技, 已成为继石化、航空、电子、电信产业后最具发展潜力的产业。

1.1.2 生物技术发展简史

生物技术包括传统生物技术和现代生物技术两部分。传统的生物技术是指旧有的制造酱、醋、酒、面包、奶酪、酸奶及其他食品的传统工艺; 现代生物技术则是指 20 世纪 70 年代末 80 年代初发展起来的以现代生物学研究成果为基础、以基因工程为核心的新兴学科。目前一般所称的生物技术基本上都是指现代生物技术。

美国的科学家和企业家在美国 BIO (biotechnology industry organization) Bulletins 上发表的生物技术发展史, 其资料 (表 1-1) 的来源具有一定的局限性, 对于其他国家对生物技术上的重要贡献方面的资料收集得不够全面, 但对了解生物技术发展史具有一定的帮助。从中可看出, 我国对现代生物技术的发展也曾做出过巨大贡献。

表 1-1 生物技术发展大事记

年 代	生物技术发展史上的重要突破或大事
公元前 8000 年	(1) 人类驯化种植谷物和饲养家畜 (2) 土豆首次培养成食物
公元前 4000~前 2000 年	(3) 生物技术首次被人类利用: 埃及人用酵母发酵制作面包和啤酒 (4) 中国、埃及和闪族人生产奶酪发酵葡萄酒 (5) 巴比伦人选择性地某些雄性树的花粉授予雌性树来培育棕榈树 (6) 中国在石器时代的早期已能种植谷物, 并实行轮作制度; 石器时代的后期能进行酒精发酵
公元前 500 年	(7) 中国首次使用抗生素: 用发霉的大豆凝乳治疗疖子
公元前 221 年	(8) 中国周代后期, 制作豆腐、酱油和酿醋
公元前 220 年	(9) 中国采用厌氧菌进行亚麻浸渍处理
公元 100 年	(10) 中国人首次应用杀虫剂——菊花粉 (11) 中国人采用天花活病毒预防接种, 预防天花
1322 年	(12) 一名阿拉伯酋长首次应用人工授精法培育良种马
1590 年	(13) Janssen 发明显微镜 (14) 中国医生阐明: 被疯狗咬伤可以传播狂犬病
1663 年	(15) Hooke 发现细胞的存在
1675 年	(16) Leeuwenhoek 发现细菌
1761 年	(17) Koelreuter 报告在不同谷物植物之间成功地地进行杂交
1797 年	(18) Jenner 用活病毒接种一名儿童, 预防天花
1830~1833 年	(19) 1830 年发现蛋白质 (20) 1833 年首次发现酶, 并分离成功
1835~1855 年	(21) Schleiden 和 Schwann 提出所有机体由细胞组成, Virchow 还声称“每个细胞均来自细胞”
1857 年	(22) Pasteur 提出发酵是由微生物引起的
1859 年	(23) Charles Darwin (达尔文) 发表自然界淘汰选择的生物进化理论。这一小心选择亲本的概念在 19 世纪 80 年代后期大大影响了植物和动物的育种, 尽管当时对基因还一无所知
1865 年	(24) 诞生了科学基础上的遗传学: 奥地利的修道士 Gregor Mendel (孟德尔) 研究豌豆的遗传规律, 发现遗传性状是根据可预测的遗传学定律通过双亲传给子代的
1870~1890 年	(25) 采用 Darwin 的理论, 植物育种者培育出杂交棉花, 开发出数百种优良性状 (26) 农民首次在田间应用固氮菌, 增加产量 (27) William James Beal 在实验室首次生产出杂交玉米 (28) 1877 年 Koch 首先研究出一种用染色法来鉴定细菌的方法 (29) 1878 年 Laval 研制出第一台离心机 (30) 1879 年 Fleming 发现染色质, 存在细胞核中的棒状结构, 后来称为染色体

续表

年 代	生物技术发展史上的重要突破或大事
1900 年	(31)果蝇被用于早期的基因研究
1902 年	(32)首次使用微生物学这一学科名称
1906 年	(33)应用遗传学这一术语
1911 年	(34)Rous 首次发现致癌病毒
1914 年	(35)在英国的 Manchester, 细菌首次被用来处理污水
1915 年	(36)发现细菌的病毒,即噬菌体
1919 年	(37)在出版物中首次应用生物技术(biotechnology)这一术语
1920 年	(38)Evans 和 Long 发现人生长激素
1928 年	(39)Alexander Fleming 发现作为抗生素的青霉素 (40)在欧洲进行用 <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt) 控制谷物的虫害的小规模试验;这一杀虫剂的商用生产始于 1938 年,在法国 (41)Karpechenko 在萝卜和甘蓝之间进行杂交,培育出可育的子代 (42)Laibach 首次应用杂交技术在不同谷物间进行育种
1930 年	(43)美国国会通过植物专利法案,给予育种植物产品专利保护
1933 年	(44)在 20 世纪 20 年代由 Henry Wallace 开发的杂交玉米谷物进行商业化。到 1945 年,杂交玉米占美国玉米的 78%
1938 年	(45)出现了分子生物学(molecular biology)这一术语
1941 年	(46)丹麦的微生物学家 A. Jost 在波兰 Lwow 的技术研究所的一次关于酵母繁殖的演讲中使用了基因工程(genetic engineering)这一术语
1942 年	(47)使用电子显微镜来鉴定噬菌体 (48)利用微生物大量生产青霉素
1944 年	(49)Avery 等证明 DNA 携带遗传信息 (50)Waksman 分离出链霉素,有抗结核杆菌的作用
1946 年	(51)发现从不同病毒来的遗传物质可以重新组合形成新的病毒 (52)认识到丢失遗传多样性引起的威胁,美国国会提供基金支持系统和广泛地对植物品种的收集、保存和介绍
1947 年	(53)McClintock 发现在玉米中存在可移动的遗传物质,或称为“跳跃基因”
1949 年	(54)Pauling 证明镰刀细胞性贫血是一种“分子病”,由于血红蛋白质的基因突变所造成
1951 年	(55)成功地用冷冻精子进行牲畜的人工授精
1953 年	(56)Nature 杂志发表 James Watson(华生)和 Francis Crick(克里克)的论文,描述了 DNA 双螺旋结构,标志着现代遗传学时代的开始
1955 年	(57)首次分离出一种涉及核酸合成的酶
1956 年	(58)Kornberg 发现 DNA 聚合酶 I,导致 DNA 复制理论的形成
1957 年	(59)发现了干扰素
1958 年	(60)镰刀细胞性贫血是由于血红蛋白单一氨基酸的突变所造成 (61)首次在试管内制造出 DNA
1959 年	(62)开发了杀真菌剂;描绘了蛋白质生物合成的步骤
1960 年	(63)利用碱基配对原理,产生了 DNA-RNA 分子杂交技术 (64)发现信使 RNA(mRNA)
1961 年	(65)美国农业部 USDA 首次登记杀虫剂—— <i>Bacillus thuringiensis</i> (苏云金杆菌)或 Bt 菌
1963 年	(66)Norman Borlaug 培育出新的小麦品种,产量增加 70%
1964 年	(67)在菲律宾的国际水稻研究所采用新的水稻开始进行绿色革命,如有足够多肥料,产量可增加一倍
1965 年	(68)Harris 和 Watkins 成功地将人和小鼠的细胞融合
1966 年	(69)基因密码解码,证明三个核苷酸序列(密码子)各自决定 20 种必需氨基酸

续表

年 代	生物技术发展史上的重要突破或大事
1967 年	(70)完成第一台蛋白质序列自动分析仪
1969 年	(71)首次在试管内合成一种酶
1970 年	(72)Norman Borlaug 获得诺贝尔奖(见 1963 年的研究成果) (73)发现限制性内切酶,能切开特定的 DNA 序列,打开了基因操作的新方法
1971 年	(74)首次完成了基因的合成
1972 年	(75)发现人类基因的组成 99% 与黑猩猩和大猩猩相似 (76)胚胎转移的起始工作
1973 年	(77)Stanley Cohen 和 Herbert Boyer 完善 DNA 切割和粘贴技术(采用限制酶和连接酶),在细菌中复制新的 DNA
1974 年	(78)美国 NIH 组成一个重组 DNA 顾问委员会,以监视基因重组的研究
1975 年	(79)政府首次迫切要求制订一个重组 DNA 管理条例:加州 Asilomar 会议 (80)首次产生单克隆抗体
1976 年	(81)DNA 重组技术首次应用于人类遗传病 (82)分子杂交技术应用于胎儿出生前的 α 地中海贫血病的诊断 (83)酵母基因在大肠杆菌(<i>E. Coli</i>)中表达 (84)首次进行对特定基因的序列测定(A,C,T,G) (85)美国 NIH 重组 DNA 顾问委员会首次出版重组 DNA 实验指导方针
1977 年	(86)人的基因首次在大肠杆菌中表达 (87)开发了采用电泳技术测定长片段 DNA 序列的操作程序
1978 年	(88)首次鉴定高水平的病毒结构 (89)首次生产重组人胰岛素 (90)北卡科学家证明,在 DNA 分子的特定部位可导入特异性突变
1979 年	(91)首次合成人生长激素
同期还有	(92)成立首家商业性公司,开发基因重组产品 (93)发现聚合酶 (94)完善了快速进行核苷酸序列的测定技术 (95)基因靶子 (96)RNA 剪接
1980 年	(97)美国最高法院批准重组生命体专利保护的法则,授予 Exxon 石油公司的一种能降解石油的微生物的专利权 (98)Cohen 和 Boyer 获得美国基因克隆专利 (99)开发出第一台 DNA 合成仪 (100)研究者成功地将人干扰素基因导入大肠杆菌 (101)诺贝尔化学奖授予 Berg、Gilbert、Sanger 等人,表彰他们创造出第一个重组分子方面的成就
1981 年	(102)在 Ohio 大学的科学家生产出首头转基因动物,将来自其他动物的基因转移入小鼠 (103)中国科学家首次克隆鲫鱼基因
1982 年	(104)Applied Biosystems 公司首次推出商业性气相蛋白质测序仪,大大降低了需要进行测序的蛋白质量 (105)首次开发了兽用重组 DNA 疫苗 (106)FDA 批准第一个生物技术药物:重组人胰岛素,用基因改造的细菌进行生产 (107)首次在植物细胞进行的基因转移:矮牵牛花
1983 年	(108)提出了聚合酶链反应(PCR)技术,通过耐热的聚合酶可将特定的基因无限扩增,随后成为在全球生物技术研究和生物技术产品开发方面的重要工具 (109)通过 TI 质粒首次完成植物细胞的基因转移 (110)首次合成人工染色体 (111)发现特殊遗传病的遗传标记 (112)采用生物技术首次长出矮牵牛花植株 (113)首次证明基因改造植物的新的形状可以传给子代:矮牵牛花
1984 年	(114)开发了 DNA 指纹技术 (115)HIV 的全基因克隆和测序
1985 年	(116)发现肾病和囊性纤维的遗传标记 (117)基因指纹作为证据进入法庭的案件审理 (118)首次进行抗虫、抗病毒和抗细菌的转基因植物的田间试验 (119)美国 NIH 批准从事人体基因治疗试验的指导方针

续表

年 代	生物技术发展史上的重要突破或大事
1986 年	(120)第一个人用的重组疫苗问世:乙型肝炎 (121)通过生物技术生产第一个抗癌药物:干扰素 (122)美国政府出版“生物技术规则的协调框架”,建立了更为严厉的进行 rDNA 生命体规章制度 (123)California-Berkeley 大学的化学家描述了如何将抗体与酶结合成抗体酶(abzymes)以创造新药 (124)转基因烟草首次进行田间试验 (125)环境保护机构批准释放第一个转基因植物:烟草
1987 年	(126)首次批准转基因食物的田间试验:抗病毒番茄 (127)Frostban,一种基因重组的细菌,它能抑制农作物霜的形成,用草莓和土豆在加州进行田间试验,这是首次权威人士认同的重组细菌的野外试验
1988 年	(128)Harvard 的分子遗传学家研制的基因改变的转基因小鼠首次获得美国专利 (129)一种用于洗衣粉的抗氧化的蛋白酶获美国专利 (130)美国国会资助人类基因组计划:人类全基因组和其他生命体基因组的解码
1989 年	(131)首次批准转基因(Bt)抗虫棉花进行田间试验 (132)开始进行植物基因组计划
同期还有	(133)采用 DNA 测定进化历史的研究 (134)在欧洲批准使用兽用重组 DNA 疫苗

1.1.2.1 传统生物技术

酿酒制醋是人类最早通过实践掌握的利用生物进行生产的技术之一。据考古发掘证实我国在龙山文化已经有酒器出现。

传统生物技术,以产品特点以及理论和技术水平分两个阶段。

(1) 第一代生物技术产品

传统生物技术的制作和有关技术的应用虽已有悠久的历史,但是人们有很长时期内只知其然不知其所以然,直至物理、化学和生物学等自然科学的不断发展,其奥秘才被逐渐揭开。16 世纪末期制成了显微镜之后,人们才知道微生物的存在。1857 年巴斯德用试验证实了酒精发酵是由活酵母引起的,其他不同的发酵产物则由不同微生物的作用而形成。1897 年毕希纳进一步发现磨碎的酵母仍然能使糖发酵而形成酒精,并将此具有发酵能力的物质称为酶,这样发酵现象才开始被人们了解。

由于上述科学研究的启示,从 19 世纪末到 20 世纪 30 年代,不少工业发酵过程陆续出现,开创了工业微生物的新纪元。在这个时期出现的发酵产品有乳酸、酒精、面包酵母、丙酮、柠檬酸、淀粉酶等。上述产品的特点是大多数属于嫌气发酵过程的产物,产物的化学结构比起原料来更为简单,属于初级代谢产物,生产过程比较简单,对设备的要求不高,规模一般不大。

(2) 第二代生物技术产品

近代生物技术产品出现于 20 世纪 40 年代。第二次世界大战爆发后,医生需要一种比磺胺药物更为有效的而副作用较小的抗细菌感染的药物,用于治疗伤员和平民因为创伤而引起的感染及继发性疾病。于是人们对 1928 年由英国弗莱明发现而在 1940 年由佛罗里及钱恩等所提取,经过临床证实具有卓越疗效和低毒的青霉素抱有极大的希望。1941 年美国 and 英国合作对它进行进一步研究和开发。一方面在美国的四个工厂用表面培养法生产青霉素,另一方面着手进行沉浸培养法的研究开发。1943 年经过美英两国科学家和工程师的努力,一个崭新的青霉素沉浸培养工艺终于诞生了,它包括用带有机机械搅拌和通气的密闭式发酵罐,对适用于沉浸技术的青霉菌进行培养并用离心萃取机和冷冻干燥机把青霉素从发酵液中提取和精制,使青霉素的产量和质量大幅度提高。

不久链霉素、金霉素、新霉素等相继问世,抗生素工业的兴起,标志着工业微生物的生产进入了一个新的阶段,抗生素生产的经验很快地促进了其他发酵产品的发展,最突出的是20世纪50年代氨基酸发酵工业,60年代酶制剂工业的发展以及一些原来用表面培养的产品都改成沉浸培养法进行生产。这一个时期的特点是:①产品类型多,不但有初级代谢产物,也出现了次级代谢产物,还有生物转化、酶反应等产品;②技术要求高,主要是生产过程要求在纯种或无菌条件下进行,大多数为好气发酵,在发酵过程中需要通入无菌空气;③规模巨大,如发酵罐可以大至 500m^3 ,单细胞工厂的气升式发酵罐的容积已经超过 3000m^3 ;④技术发展速度快,如菌种的活力和性能等都获得了惊人的提高。

(3) 传统生物技术的产品及年代

公元前20世纪:面包发酵、果汁酿造、醋等;

公元前10世纪:酱油;

公元前6世纪:以霉治疗外伤;

公元11世纪:人痘接种;

公元12世纪:酒精;

公元17世纪:人工培育蘑菇;

公元18世纪:牛痘接种;

1880~1920年:乳酸,面包酵母,乙醇,转化酶等;

1920~1940年:柠檬酸,葡萄糖酸,蛋白酶,核黄素,山梨糖等;

1940~1950年:青霉素,短杆菌肽,链霉素,金霉素,新霉素,两性霉素,衣康酸,纤维素酶等;

1950~1960年:谷氨酸,赖氨酸,土霉素,四环素,新生霉素,红霉素,制霉菌素,卡那霉素,葡萄糖酸等;

1960~1970年:葡萄糖异构酶,糖化酶,氨基酰化酶,脂肪酶,乳糖酶,头孢霉素,庆大霉素,林可霉素,利福霉素,万古霉素,核糖霉素,甾体生物转化物等;

1970~1980年:博莱霉素,阿霉素,杀念珠菌素,交沙霉素,西梭霉素,有效霉素,天冬氨酸,苏氨酸,普鲁兰多糖等;

1980年以后:阿维菌素,苯丙氨酸,环氧乙烷,丙烯酰胺,聚羟基丁酸酯等。

1.1.2.2 现代生物技术

现代生物技术及其产品的特点是运用了DNA重组技术和细胞融合技术等成果。1953年美国的詹姆斯·沃森(James Watson)和弗朗西斯·克里克(Francis Crick)发现了DNA的双螺旋结构,为DNA的重组奠定了基础。1974年美国的波依耳和科恩首次在实验室中实现了基因的转移,为基因工程开启了通向现实的大门,而使人们有可能在实验室中组建按照人们意志设计的新生命体。基因工程是把外源基因在体外与载体DNA连接后导入宿主细胞,使之能复制和表达外源基因的克隆,从而可以获得所需要的目标产品。

目前,用于基因工程的宿主除了大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、酵母等微生物之外,动物细胞的应用受到了广泛的注意,虽然动物细胞的培养要比微生物的培养复杂,但是以微生物为宿主而获得的目标产物蛋白质的立体结构常常有误而没有活性,由动物细胞获得的目标产物没有这种缺点,因此基因工程推动了动物细胞培养技术的发展,植物细胞的大规模培养早于动物细胞,利用植物细胞可以生产某些稀贵植物的次生代谢产物,如生物碱、甾体化合物等。现代生物技术产品还很有限,但是潜力是巨大的,是充满生机的高新技术产业,现代生物技术不但可以用来生产特殊功能的药物,也将主要在农业和化工原料的应用开发中发挥重