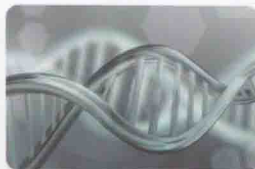




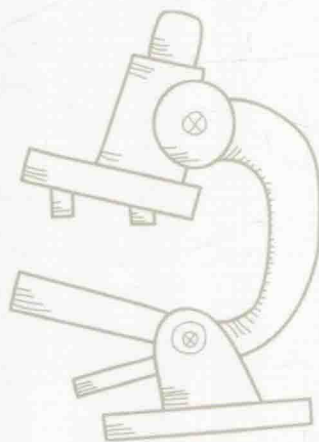
普通高等教育“十三五”规划教材



生物工程导论

供生物工程、生物技术等相关专业用

主 编 张 晶
副主编 杨 磊 王 菲 范晓光



中国石化出版社

[HTTP://WWW.SINOPEC-PRESS.COM](http://www.sinopec-press.com)

普通高等教育“十三五”规划教材

生物工程导论

供生物工程、生物技术等相关专业用

主 编 张 晶

副主编 杨 磊 王 菲 范晓光

中国石化出版社

内 容 提 要

本书将生物工程所涉及的五大工程,即发酵工程、细胞工程、基因工程、酶工程和生物反应器工程等相关内容进行有机融合和精心编撰,从生物工程学科的重要理论基础入手,最后例举了该学科的前沿内容。全书内容共分为八章:第1章绪论,第2章微生物与发酵工程,第3章细胞工程,第4章基因工程,第5章酶与酶工程,第6章生物反应工程,第7章生物工程设备,第8章生物工程学科前沿。本书体系新颖、内容全面、语言通顺、简明、理论与应用并重。

本书可作为高等学校工科生物工程相关专业的教材或教学参考书,也可作为工科非生物专业普及生物工程基础知识的教学参考书,同时还可供从事生物工程生产、科研、管理人员参考阅读。

图书在版编目(CIP)数据

生物工程导论 / 张晶主编. —北京:中国石化出版社,2018.2

ISBN 978-7-5114-4345-8

I. ①生… II. ①张… III. ①生物工程-高等学校-教材 IV. ①Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2018)第 030541 号

未经本社书面授权,本书任何部分不得被复制、抄袭,或者以任何形式或任何方式传播。版权所有,侵权必究。

中国石化出版社出版发行

地址:北京市朝阳区吉市口路9号

邮编:100020 电话:(010)59964500

发行部电话:(010)59964526

<http://www.sinopec-press.com>

E-mail:press@sinopec.com

北京科信印刷有限公司印刷

全国各地新华书店经销

*

787×1092 毫米 16 开本 21 印张 522 千字

2018 年 2 月第 1 版 2018 年 2 月第 1 次印刷

定价:50.00 元

《生物工程导论》编委会

主 编 张 晶

副 主 编 杨 磊 王 菲 范晓光

编写人员 王战勇 吴 闯 李菊娣 韩秋菊

姚秀清 顾贵洲

编 委

前 言

生物工程是21世纪高新技术革命的核心内容,其历史悠久。近年来随着分子技术、代谢工程等技术的融合,生物工程得以快速发展,内涵也日益丰富,蛋白质工程、酶工程、组织工程、生物能源、生物材料、生物医药等新兴学科和技术不断涌现和成熟,使得现代生物工程成为当今高新科技的重要组成部分。一些生物工程技术的建立和发展已经或即将带来新的技术革命,导致新产品的不断出现。

在人类所面临的粮食短缺问题、健康问题、环境问题、资源问题、人口问题和能源问题等方面,生物工程显示出其强大的作用。生物工程广泛应用于食品、医药、化工、环境保护和能源等领域,可促进传统产业的技术改造和新兴产业的形成,对人类社会生活将产生深远的影响。生物工程与人们的日常生活、经济和社会的发展关系密切,它几乎渗透到所有的学科。在21世纪各行各业、各个学科领域将会涌现出更多杰出的人才,参与到与生命科学交叉的边缘领域的研究和开发中来。由此可见编写本书的意义所在。

本书由张晶主编。其中第1章和第2章由张晶编写;第3章和第6章由杨磊和张晶编写;第4章和第5章由王菲和张晶编写;第7章由范晓光写;第8章由杨磊、王菲、王战勇、姚秀清、李菊娣、吴闯、韩秋菊和顾贵州等人编写。

本书在编写时力求使之适应教学改革、培养学生自主学习能力的需要,但限于生物工程技术的飞速发展以及编写者自身水平的限制,书中会存在错误或不足之处,敬请各位老师与同学提出宝贵意见,全体编著人员不胜感激,谢谢!

编 者

目 录

1 绪论	(1)
1.1 生物工程的概念及特点	(1)
1.2 生物工程的研究内容	(2)
1.2.1 发酵工程	(2)
1.2.2 细胞工程	(3)
1.2.3 基因工程	(4)
1.2.4 酶工程	(6)
1.2.5 生物反应工程	(7)
2 微生物与发酵工程	(9)
2.1 微生物概述	(9)
2.1.1 什么是微生物	(9)
2.1.2 微生物的特性	(9)
2.1.3 微生物按结构特征的分类	(11)
2.2 微生物的培养条件与培养基	(11)
2.2.1 微生物的培养条件	(11)
2.2.2 培养基	(15)
2.3 常见的工业微生物	(19)
2.3.1 细菌	(19)
2.3.2 放线菌	(20)
2.3.3 真菌	(21)
2.4 微生物常见的发酵过程	(26)
2.4.1 分批发酵	(26)
2.4.2 补料-分批发酵	(28)
2.4.3 半连续发酵	(28)
2.4.4 连续发酵	(28)
2.5 发酵条件的影响及其控制	(29)
2.5.1 培养基对发酵的影响及其控制	(29)
2.5.2 培养基的灭菌情况对发酵的影响	(30)
2.5.3 种子的培养对发酵的影响	(30)
2.5.4 温度对发酵的影响	(31)
2.5.5 pH 对发酵的影响	(32)
2.5.6 溶解氧对发酵的影响	(33)
2.5.7 发酵终点的判断	(34)
参考文献	(35)

3 细胞工程	(36)
3.1 细胞工程简介	(36)
3.1.1 细胞工程发展简史	(36)
3.1.2 细胞工程主要应用	(38)
3.2 植物细胞培养技术	(38)
3.2.1 植物细胞的培养条件	(39)
3.2.2 植物细胞的悬浮培养	(39)
3.2.3 植物细胞或原生质体的固定化培养	(45)
3.2.4 植物细胞培养与次级代谢产物制备	(46)
3.3 植物组织培养技术	(48)
3.3.1 植物组织的培养方式	(49)
3.3.2 植物组织培养的问题分析	(51)
3.3.3 植物组织培养与次级代谢产物制备	(52)
3.4 动物细胞培养技术	(54)
3.4.1 动物细胞的培养条件	(54)
3.4.2 动物细胞的原代与传代培养	(57)
3.4.3 动物细胞的培养方式	(61)
3.4.4 动物细胞的冻存和复苏	(63)
3.4.5 动物细胞生物制药	(65)
3.5 细胞工程操作技术	(69)
3.5.1 细胞融合	(69)
3.5.2 细胞核移植	(72)
3.5.3 染色体工程	(75)
3.5.4 胚胎工程	(79)
参考文献	(82)
4 基因工程	(83)
4.1 基因工程概述	(83)
4.1.1 基因工程的概念	(83)
4.1.2 基因工程的发展简史	(83)
4.1.3 基因工程的研究内容	(87)
4.1.4 基因工程的研究意义	(87)
4.2 基因工程的工具酶	(88)
4.2.1 限制性核酸内切酶	(88)
4.2.2 DNA 连接酶	(93)
4.2.3 DNA 聚合酶	(95)
4.2.4 修饰酶类	(97)
4.3 基因工程的载体	(99)
4.3.1 质粒克隆载体	(100)
4.3.2 噬菌体载体	(102)
4.3.3 柯斯质粒载体	(103)

4.3.4	YAC 载体	(103)
4.4	DNA 重组技术的基本过程	(104)
4.4.1	目的基因的制取	(105)
4.4.2	目的基因与载体 DNA 的连接	(107)
4.4.3	DNA 重组体导入受体细胞	(109)
4.4.4	重组体的筛选	(111)
4.5	基因工程的技术及应用	(114)
4.5.1	外源基因在大肠杆菌中的表达	(114)
4.5.2	外源基因在酵母中的表达	(116)
4.5.3	转基因动物	(119)
4.5.4	转基因植物	(122)
4.5.5	基因治疗	(124)
	参考文献	(126)
5	酶与酶工程	(127)
5.1	酶工程概述	(127)
5.1.1	酶与酶工程的概念	(127)
5.1.2	酶的分类、命名和结构特征	(127)
5.1.3	酶的活力和活力单位	(129)
5.2	酶的生产	(130)
5.2.1	动植物细胞培养产酶	(130)
5.2.2	微生物发酵产酶	(134)
5.2.3	提高酶产量的方法	(137)
5.3	酶的分离纯化	(138)
5.3.1	酶分离纯化的一般程序	(138)
5.3.2	酶分离提取的条件	(139)
5.3.3	酶溶液的制备	(139)
5.3.4	酶的分离纯化	(140)
5.3.5	酶的结晶	(143)
5.3.6	酶的制剂与保存	(144)
5.4	酶的固定化	(145)
5.4.1	固定化酶概述	(145)
5.4.2	酶的固定化方法	(146)
5.4.3	固定化酶的形态和性质	(148)
5.5	酶的分子修饰	(149)
5.5.1	酶的化学修饰	(149)
5.5.2	酶的物理修饰	(152)
5.6	酶的应用	(152)
5.6.1	酶在轻工领域的应用	(152)
5.6.2	酶在食品领域的应用	(154)
5.6.3	酶在医药领域的应用	(154)

5.6.4	酶在环境污染治理领域的应用	(157)
5.6.5	酶在能源开发领域的应用	(158)
	参考文献	(160)
6	生物反应工程	(161)
6.1	酶催化反应动力学	(161)
6.1.1	均相酶催化反应动力学	(161)
6.1.2	抑制作用的酶催化反应动力学	(167)
6.1.3	固定化酶催化反应动力学	(172)
6.1.4	影响酶催化活性的因素	(175)
6.2	细胞生长反应动力学	(178)
6.2.1	细胞反应过程计量学	(179)
6.2.2	细胞生长动力学的非结构模型	(182)
6.2.3	底物消耗与产物生成动力学	(189)
6.2.4	细胞反应动力学的结构模型	(194)
6.3	生物反应器的操作模型	(196)
6.3.1	反应器操作基础	(197)
6.3.2	分批式操作	(197)
6.3.3	流加式操作	(200)
6.3.4	连续式操作	(201)
6.4	生物反应器的传递过程	(205)
6.4.1	生物反应体系的流变学特性	(205)
6.4.2	生物反应器的传递过程	(209)
6.4.3	体积传质系数的测定及其影响因素	(212)
6.4.4	溶氧方程与溶氧速率的调节	(219)
	参考文献	(219)
7	生物工程常见基础设备	(220)
7.1	灭菌除菌设备	(220)
7.1.1	连消塔	(220)
7.1.2	维持罐	(222)
7.1.3	空气过滤器	(222)
7.2	分离提纯设备	(225)
7.2.1	精馏装置	(226)
7.2.2	萃取装置	(229)
7.2.3	蒸发装置	(233)
7.2.4	干燥装置	(238)
7.2.5	过滤装置	(242)
7.2.6	离心装置	(244)
7.3	微生物发酵设备	(246)
7.3.1	通风发酵设备	(247)
7.3.2	嫌气发酵设备	(252)

7.4 酶生物反应器	(259)
7.4.1 搅拌罐式反应器	(259)
7.4.2 填充床式反应器	(260)
7.4.3 流化床式反应器	(261)
7.4.4 鼓泡式反应器	(262)
7.4.5 膜式反应器	(262)
参考文献	(263)
8 生物工程学科前沿	(264)
8.1 生物降解塑料及其生物降解	(264)
8.1.1 生物降解塑料	(264)
8.1.2 塑料降解概述	(264)
8.1.3 脂肪族聚酯的生物降解	(265)
8.1.4 可再生资源合成塑料的生物降解	(267)
8.1.5 共混聚合物塑料的生物降解	(268)
8.1.6 热固性塑料的生物降解	(269)
8.1.7 总结与展望	(269)
8.2 生物质能概述	(270)
8.2.1 生物质能简介	(270)
8.2.2 生物质能利用的主要技术	(270)
8.2.3 几种重要的生物质能	(271)
8.2.4 生物质能展望	(276)
8.3 天然生物活性物质开发	(277)
8.3.1 生物活性物质简介	(277)
8.3.2 多糖类天然活性物质的开发	(277)
8.3.3 黄酮类化合物的开发	(278)
8.4 干细胞与组织工程	(285)
8.4.1 干细胞	(285)
8.4.2 胚胎干细胞	(285)
8.4.3 成体干细胞	(287)
8.4.4 组织工程	(289)
8.5 酶制剂在食品工业的应用	(292)
8.5.1 食品酶在食品生产中的应用	(292)
8.5.2 酶技术在食品安全检测中的应用	(297)
8.6 生物芯片技术	(298)
8.6.1 生物芯片的分类	(298)
8.6.2 生物芯片技术的应用现状	(299)
8.6.3 生物芯片技术的发展趋势	(302)
8.7 生物制药	(303)
8.7.1 生物药物的定义	(303)
8.7.2 生物药物的特性	(303)

1 绪 论

21 世纪，生物工程是推动社会经济发展和进步的一项关键技术，不论是发达国家还是发展中国家都把生物工程纳入科学技术发展的重点。一般认为，现代生物工程是 20 世纪 70 年代初，在分子生物学、细胞生物学等基础上发展起来的一个新兴技术领域。由于基因重组、细胞融合、固定化酶、细胞大规模培养和生物大分子分离、分析新技术的出现，人们运用生命科学的这些新成就，结合发酵和生化工程原理，定向设计组建新品种，或加工生物原料，为社会提供商品和服务，形成了现代生物工程。

1.1 生物工程的概述及特点

生物工程是 20 世纪 70 年代初兴起的一门新兴的综合性应用学科，90 年代诞生了基于系统论的生物工程，即系统生物工程的概念。所谓生物工程，一般认为是以生物学(特别是其中的微生物学、遗传学、生物化学和细胞学)的理论和技術为基础，结合化工、机械、电子计算机等现代工程技术，充分运用分子生物学的最新成就，自觉地操纵遗传物质，定向地改造生物或其功能，短期内创造出具有超远缘性状的新物种，再通过合适的生物反应器对这类“工程菌”或“工程细胞株”进行大规模的培养，以生产大量有用代谢产物或发挥它们独特生理功能的一门新兴技术。生物工程包括五大工程，即遗传工程(基因工程)、细胞工程、微生物工程(发酵工程)、酶工程和生物反应工程，如图 1-1 所示。它们各有其特点和相对独立的技术学科体系，同时彼此之间又是互相渗透，互相结合，相辅相成，相得益彰，共同构成现代生物工程学科领域。

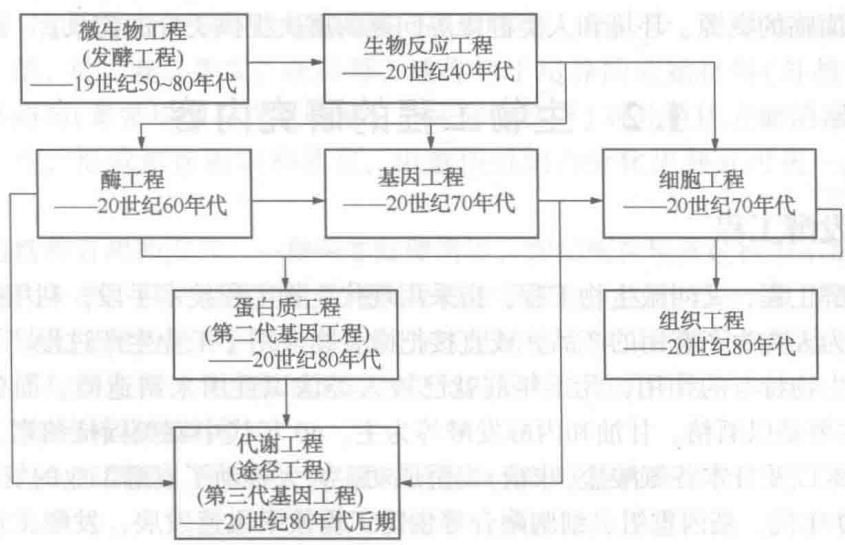


图 1-1 生物工程技术发展及相互关系

(1) 基因工程是现代生物工程的核心或前沿学科，酶工程、细胞工程以及微生物工程或

发酵工程的新发展都需借助于基因工程的手段。

(2) 细胞工程是应用细胞生物学方法,按照人们预定的设计,有计划地保存、改变和创造细胞遗传物质的技术。细胞工程包括细胞融合或体细胞杂交技术、细胞大规模培养技术、植物组织培养快速繁殖技术等。

(3) 酶是最重要的生命物质之一,是生物体内进行新陈代谢、自我复制以及物质的合成、分解和转化所不可缺少的生物催化剂。酶工程根据研究和解决问题的手段不同可分为两大部分,即化学酶工程和生物酶工程,它们是生物工程的重要组成部分,与细胞工程和基因工程密切相关。

(4) 微生物工程是利用微生物的特定性状,通过现代生化工程技术,使微生物产生有用物质或直接用于工业化生产的技术。主要包括菌种选育、菌体生产、代谢产物的发酵和微生物功能的应用等技术。它是将传统的发酵与 DNA 重组、细胞融合、酶分子修饰、基因调控等新技术结合起来的现代微生物发酵,所以微生物工程也称发酵工程。在整个生物工程技术领域,微生物工程是一个非常重要的组成部分,基因工程、细胞工程和酶工程的研究成果,一定要通过微生物工程,才能转化为生产力,获得经济效益和社会效益。

(5) 生物化学工程是研究生物发酵及酶反应生产过程中的一些带共性的工程技术问题和基础理论问题的学科,它以化学工程原理和方法研究含有生物体系或生化反应的工业生产中的有关技术问题。这些问题的解决,对生物工程技术,特别是基因工程、细胞工程、酶工程和微生物工程新成果的开发和产业化,将起着重要的保障作用,同时对已有的发酵工业技术改造也将产生积极作用。

在这五大领域中,前两者作用是将常规菌(或动植物细胞株)作为特定遗传物质受体,使它们获得外来基因,成为能表达超远缘性状的新物种——“工程菌”或“工程细胞株”。后三者的作用则是为这些有巨大潜在价值的新物种创造良好的生长与繁殖条件,进行大规模的培养,以充分发挥其内在潜力,为人们提供巨大的经济效益和社会效益。生物工程技术的应用范围十分广泛,主要包括医药卫生、食品轻工、农牧渔业、能源工业、化学工业、冶金工业、环境保护等几个方面,它必将对人类社会的政治、经济、军事和生活等方面产生巨大的影响,为世界面临的资源、环境和人类健康等问题的解决提供美好的前景。

1.2 生物工程的研究内容

1.2.1 发酵工程

现代的发酵工程,又叫微生物工程,指采用现代生物工程技术手段,利用微生物的某些特定的功能,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。

发酵是微生物特有的作用,几千年前就已被人类认识且用来制造酒、面包等食品。20 世纪 20 年代主要是以酒精、甘油和丙醇发酵等为主。40 年代中期美国抗菌素工业兴起,大规模生产青霉素以及日本谷氨酸盐(味精)发酵成功,大大推动了发酵工业的发展。

20 世纪 70 年代,基因重组、细胞融合等生物工程技术飞速发展,发酵工业进入现代发酵工程的阶段。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。

从广义上讲,发酵工程由三部分组成:上游工程、发酵工程和下游工程。其中上游工程包括优良种株的选育,最适发酵条件(pH、温度、溶解氧和营养组成)的确定,营养物的准备等。发酵工程主要指在最适发酵条件下,发酵罐中大量培养细胞和生产代谢产物的工艺技术。下游工程指从发酵液中分离和纯化产品的技术。

发酵工程的步骤一般包括:

第一步,菌种的选育。

第二步,培养基的制备和灭菌。

第三步,扩大培养和接种。

第四步,发酵过程。

第五步,分离提纯。

发酵工程在医药工业、食品工业、农业、冶金工业、环境保护等许多领域得到广泛应用。

1.2.2 细胞工程

一般认为,细胞工程是根据细胞生物学和分子生物学原理,采用细胞培养技术,在细胞水平进行的遗传操作。

1.2.2.1 细胞培养技术

细胞培养技术是细胞工程的基础技术。所谓细胞培养,就是将生物有机体的某一部分组织取出一小块,进行培养,使之生长、分裂的技术。近20年来细胞生物学的一些重要理论研究的进展,例如细胞全能性的揭示,细胞周期及其调控,癌变机理与细胞衰老的研究,基因表达与调控等,都与细胞培养技术分不开。

体外细胞培养中,供给离开整体的动植物细胞所需营养的是培养基,培养基中除了含有丰富的营养物质外,一般还含有刺激细胞生长和发育的一些微量物质。培养基一般有固态和液态两种,它必须经灭菌处理后才可使用。此外,温度、光照、振荡频率等也都是影响培养的重要条件。

植物细胞与组织培养的基本过程包括如下几个步骤:第一步,从健康植株的特定部位或组织,如根、茎、叶、花、果实、花粉等,选择用于培养的起始材料(外植体);第二步,用一定的化学药剂(最常用的有次氯酸钠、升汞和酒精等)对外植体表面消毒,建立无菌培养体系;第三步,形成愈伤组织和器官,由愈伤组织再分化出芽并可进一步诱导形成小植株。

动物细胞培养有两种方式。一种叫非贴壁培养,即细胞在培养过程中不贴壁,条件较为复杂,难度也大一些,但是容易同时获得大量的培养细胞。这种方法一般用于淋巴细胞、肿瘤细胞和一些转化细胞的培养。另一种培养方式是贴壁培养,贴壁后的细胞呈单层生长,所以此法又叫单层细胞培养。大多数哺乳动物细胞的培养必须采用这种方法。

1.2.2.2 细胞核移植技术

由于克隆是无性繁殖,所以同一克隆内所有成员的遗传构成完全相同,如此有利于保持原有品种的优良特性。人们开始探索用人工的方法来进行高等动物的克隆。哺乳动物克隆的方法主要有胚胎分割和细胞核移植两种。其中,细胞核移植是发展较晚但富有潜力的一门新技术,是指用机械方式把一个被称为“供体细胞”的细胞核移入另一个除去了细胞核被称为“受体”的细胞中,然后重组细胞进一步发育、分化。核移植的原理是基于动物细胞的细胞

核的全能性。

采用细胞核移植技术克隆动物的设想，最初由一位德国胚胎学家在 1938 年提出。从 1952 年起，科学家们首先采用两栖类动物开展细胞核移植克隆实验，先后获得了蝌蚪和成体蛙。1963 年，我国童第周教授领导的科研组，以金鱼等为材料，研究了鱼类胚胎细胞核移植技术，获得成功。到 1995 年为止，在主要的哺乳动物中，胚胎细胞核移植都获得成功，但成体动物已分化细胞的核移植一直未能取得成功。1996 年，英国爱丁堡罗斯林研究所，Ian Wilmut 研究小组成功地利用细胞核移植的方法培养出一只克隆羊——多莉，这是世界上首次利用成年哺乳动物的体细胞进行细胞核移植而培养出的克隆动物。

在核移植中，并不是所有的细胞都可以作为核供体。作为供体的细胞有两种：一种是胚胎细胞，一种是某些体细胞。研究表明，卵细胞、卵母细胞和受精卵细胞都是合适的受体细胞。核移植的研究，不仅在探明动物细胞核的全能性、细胞核与细胞质关系等重要理论问题方面具有重要的科学价值，而且在畜牧业生产中有着非常重要的经济价值和应用前景。

1.2.2.3 细胞融合技术

细胞融合技术是一种新的获得杂交细胞以改变细胞性能的技术，是指在离体条件下，利用融合诱导剂，把同种或不同物种的体细胞人为融合，形成杂合细胞的过程。细胞融合技术是细胞遗传学、细胞免疫学、病毒学、肿瘤学等研究的一种重要手段。

(1) 动物细胞融合的主要步骤是：

第一步，获取亲本细胞。将取样的组织用胰蛋白酶或机械方法分离细胞，分别进行贴壁培养或悬浮培养。

第二步，诱导融合。

(2) 植物细胞融合的主要步骤是：

第一步，制备亲本原生质体。

第二步，诱导融合。

微生物细胞的融合步骤与植物细胞融合基本相同。

从 20 世纪 70 年代开始，已经有许多种细胞融合成功，有植物间、动物间、动植物间甚至人体细胞与动植物间的成功融合的杂交植物，如“西红柿马铃薯”、“拟南芥油菜”和“蘑菇白菜”等。从目前的技术水平来看，人们还不能把许多远缘的细胞融合后培养成杂种个体，尤其是动物细胞难度更大。

1.2.3 基因工程

基因工程是指在基因水平上，按照人类的需要进行设计，然后按设计方案创建出具有某种新的性状的生物新品系，并能使之稳定地遗传给后代。基因工程采用与工程设计十分类似的方法，既具有理学的特点，同时具有工程学的特点。生物学家在了解遗传密码是 RNA 转录表达以后，还想从分子水平去干预生物的遗传。1973 年，美国斯坦福大学的科恩教授，把两种质粒上不同的抗药基因“裁剪”下来，“拼接”在同一个质粒中。当这种杂合质粒进入大肠杆菌后，这种大肠杆菌就能抵抗两种药物，且其后代都具有双重抗菌性，科恩的重组实验拉开了基因工程的大幕。

DNA 重组技术是基因工程的核心技术。重组，顾名思义，就是重新组合，即利用供体生物的遗传物质，或人工合成的基因，经过体外切割后与适当的载体连接起来，形成重组 DNA 分子，然后将重组 DNA 分子导入到受体细胞或受体生物构建转基因生物，该种生物就

可以按人类事先设计好的蓝图表现出另外一种生物的某种性状。

1.2.3.1 DNA 重组技术的物质基础

(1) 目的基因。基因工程是一种有预期目的的创造性工作，它的原料就是目的基因；所谓目的基因，是指通过人工方法获得的符合设计者要求的 DNA 片段。在适当条件下，目的基因将会以蛋白质的形式表达，从而实现设计者改造生物性状的目标。

(2) 载体。目的基因一般都不能直接进入另一种生物细胞，它需要与特定的载体结合，才能安全地进入受体细胞中。目前常用的载体有质粒、噬菌体和病毒。

质粒是在大多数细菌和某些真核生物的细胞中发现的一种环状 DNA 分子，它位于细胞质中。许多质粒含有在某种环境下可能是必不可少的基因。

噬菌体是专门感染细菌的病毒，由蛋白质外壳和中心的核酸组成。在感染细菌时，噬菌体把 DNA 注入到细菌里，以此 DNA 为模板，复制 DNA 分子，并合成蛋白质，最后组装成新的噬菌体。当细菌死亡破裂后，大量的噬菌体被释放出来，去感染下一个目标。

质粒、噬菌体和病毒的相似之处在于，它们都能把自己的 DNA 分子注入到宿主细胞中并保持 DNA 分子的完整，因而，它们成为运载目的基因的合适载体。因此，基因工程中的载体实质上是一些特殊的 DNA 分子。

(3) 工具酶。基因工程需要有一套工具，以便从生物体中分离目的基因，然后选择适合的载体，将目的基因与载体连接起来。DNA 分子很小，其直径只有 2nm。基因工程实际上是一种“超级显微工程”，对 DNA 的切割、缝合与转运，必须有特殊的工具。

1968 年，科学家第一次从大肠杆菌中提取出了限制性内切酶。限制性内切酶最大的特点是专一性强，能够在 DNA 上识别特定的核苷酸序列，并在特定切点上切割 DNA 分子。70 年代以来，人们已经分离提取了 400 多种限制性内切酶。有了它，人们就可以随心所欲地进行 DNA 分子长链切割。1976 年，5 个实验室的科学家几乎同时发现并提取出一种酶，作 DNA 连接酶。从此，DNA 连接酶就成了“黏合”基因的“分子黏合剂”。

1.2.3.2 DNA 重组技术的一般操作步骤

一个典型的 DNA 重组包括五个步骤：

(1) 目的基因的获取。目前，获取目的基因的方法主要有三种：反向转录法、从细胞基因组直接分离法和人工合成法。

反向转录法是利用 mRNA 反转录获得目的基因的方法。现在用这种方法人们已先后合成了家兔、鸭和人的珠蛋白基因、羽毛角蛋白基因等。

从细胞基因组中直接分离目的基因常用“鸟枪法”，因为这种方法犹如用散弹打鸟，所以又称“散弹枪法”。用“鸟枪法”分离目的基因，具有简单、方便和经济等优点。许多病毒和原核生物、一些真核生物的基因，都用这种方法获得了成功的分离。

化学合成目的基因是 20 世纪 70 年代以来发展起来的一项新技术。应用化学合成法，可在短时间内合成目的基因。科学家们已相继合成了人的生长激素释放抑制素、胰岛素、干扰素等蛋白质的编码基因。

(2) DNA 分子的体外重组。体外重组是把载体与目的基因进行连接。例如，以质粒作为载体时，首先要选择出合适的限制性内切酶，对目的基因和载体进行切割，再以 DNA 连接酶使切口两端的脱氧核苷酸连接。于是目的基因被镶嵌进质粒 DNA，重组形成了一个新的环状 DNA 分子(杂种 DNA 分子)。

(3) DNA 重组体的导入。把目的基因装在载体上后，就需要把它引入受体细胞中。导

入的方式有多种,主要包括转化、转导、显微注射、微粒轰击和电击穿孔等方式。转化和转导主要适用于细菌一类的原核生物细胞和酵母这样的低等真核生物细胞,其他方式主要应用于高等动植物细胞。

(4) 受体细胞的筛选。由于 DNA 重组体的转化成功率不是太高,因而,需要在众多的细胞中把成功转入 DNA 重组体的细胞挑选出来。应事先找到特定的标志,证明导入是否成功。例如,我们常用抗生素来证明导入的成功。

(5) 基因表达。目的基因在成功导入受体细胞后,它所携带的遗传信息必须通过合成新的蛋白质才能表现出来,从而改变受体细胞的遗传性状。目的基因在受体细胞中要表达,需要满足一些条件。例如,目的基因是利用受体细胞的核糖体来合成蛋白质,因此目的基因上必须含有能启动受体细胞核糖体工作的功能片段。

这五个步骤代表了基因工程的一般操作流程。人们掌握基因工程技术的时间并不长,但已经获得了许多具有实际应用价值的成果。基因工程作为现代生物技术的核心,将在社会生产和实践中发挥越来越重要的作用。

1.2.4 酶工程

酶工程又称酶技术。随着酶学研究的迅速发展,特别是酶应用的推广,使酶学基本原理与化学工程相结合,从而形成了酶工程。酶工程是酶制剂的大批量生产和应用的技术。它从应用的目的出发,将酶学理论与化学工程相结合,研究酶,并在一定的反应装置中利用酶的催化特性,将原料转化为产物的一门新技术。就酶工程本身的发展而言,包括下列主要内容:

(1) 酶的产生。酶制剂的来源,有微生物、动物和植物,但主要来源是微生物。由于微生物比动植物具有更多的优点,因此,一般选用优良的产酶菌株,通过发酵来产生酶。为了提高发酵液中的酶浓度,选育优良菌株、研制基因工程菌、优化发酵条件。工业生产需要特殊性能的新型酶,如耐高温的 α -淀粉酶、耐碱性的蛋白酶和脂肪酶等,因此,需要研究、开发生产特殊性能新型酶的菌株。

(2) 酶的制备。酶的分离提纯技术是当前生物技术“后处理工艺”的核心。采用各种分离提纯技术,从微生物细胞及其发酵液,或动植物细胞及其培养液中分离提纯酶,制成高活性的不同纯度的酶制剂,为了使酶制剂更广泛用于国民经济各个方面,必须提高酶制剂的活性、纯度和收率,需要研究新的分离提纯技术。

(3) 酶和细胞固定化。酶和细胞固定化研究是酶工程的中心任务。为了提高酶的稳定性,重复使用酶制剂,扩大酶制剂的应用范围,采用各种固定化方法对酶进行固定化,制备了固定化酶,如固定化葡萄糖异构酶、固定化氨基酰化酶等,测定固定化酶的各种性质,并对固定化酶作各方面的应用与开发研究。目前固定化酶仍具有强大的生命力,它受到生物化学、化学工程、微生物、高分子、医学等各领域的高度重视。

固定化细胞是在固定化酶的基础上发展起来的。用各种固定化方法对微生物细胞、动物细胞和植物细胞进行固定化,制成各种固定化生物细胞。研究固定化细胞的酶学性质,特别是动力学性质,研究与开发固定化细胞在各方面的应用,是当今酶工程的热门课题。

固定化技术是酶技术现代化的一个重要里程碑,是克服天然酶在工业应用方面的不足之处,而又发挥酶反应特点的突破性技术。可以说,没有固定化技术的开发,就没有现代的酶技术。