

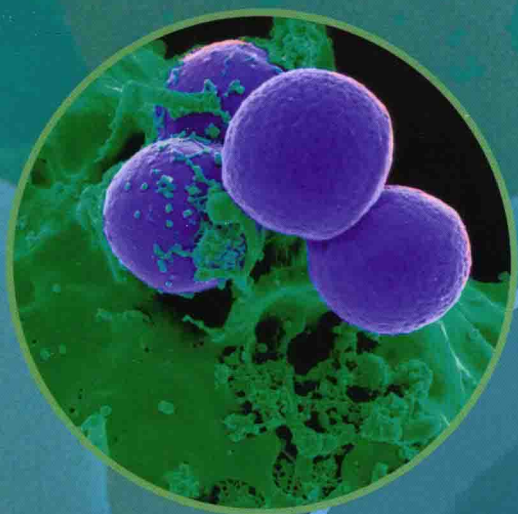
案例版

生物工程系列规划教材

现代生物技术与生物工程导论

(第二版)

贺小贤 主 编



科学出版社

案例版生物工程系列规划教材

现代生物技术与生物工程导论

(第二版)

主 编 贺小贤

副主编 胡鹏刚 丁 勇



科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书在第一版的基础上进行修订,突出典型案例与理论教学相结合的特色,实用性强。在保持原有结构体系的基础上,增加了学科内新的知识点,删除了部分过时内容。本书全面介绍了现代生物技术与生物工程的基本概念和原理,以及在食品工业、医药工业、轻化工业、环境保护方面的应用,同时对生物安全及现代生物技术的社会伦理进行分析,内容丰富、新颖,可读性强。教材内容的编排力求基础与前沿并重,深入浅出,每章后附有复习思考题,便于读者学习理解。

本书可作为非生物类专业生物工程技术的公共课教材,也可作为相关专业学生和关注生物工程技术发展、学习生命科学知识的读者的基本读物。

图书在版编目(CIP)数据

现代生物技术与生物工程导论/贺小贤主编. —2版. —北京:科学出版社, 2016

案例版生物工程系列规划教材

ISBN 978-7-03-050006-9

I. ①现… II. ①贺… III. ①生物工程-教材 IV. ①Q81

中国版本图书馆CIP数据核字(2016)第225578号

责任编辑:席慧/责任校对:李影

责任印制:赵博/封面设计:铭轩堂

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>

保定市中国画美凯印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016年12月第 二 版 开本:787×1092 1/16

2016年12月第一次印刷 印张:22 1/2

字数:576 000

定价:58.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《现代生物技术与生物工程导论》编委会名单

主 编 贺小贤

副 主 编 胡鹏刚 丁 勇

编写人员 (按姓氏汉语拼音排序)

丁 勇 杜 飞 高秀芝 贺小贤

胡 瑾 胡鹏刚 刘 欢 刘筱霞

潘亚磊 王雪青 魏洁茹 张 雯

张慧玲

第二版前言

《现代生物工程技术导论》自第一版出版以来已有 11 年时间，其间经历了多次重印，国内许多高等院校选择本书作为相关专业本科生教材或参考书。本书第一版于 2009 年获得陕西省普通高等学校优秀教材二等奖，于 2012 年作为科学出版社“走出去”战略工程图书之一被引入英国，2014 年 1 月英文版 *Contemporary Biotechnology and Bioengineering* 在英国 Alpha Science International Ltd 正式出版。

自本书问世以来，有关学科发展迅速，新技术、新成果、新产品不断涌现。兄弟院校在使用过程中也提出了一些修改意见和建议，为了能够及时吸收科技发展的新技术、新成果，引入新资料，反映新动态，因此，我们决定在第一版的基础上进行修订。在保持原有结构体系和写作风格的基础上，增加学科内新的知识点，删除部分过时内容。例如，删除第一版的现代生物工程基础、现代生物工程技术与农业、传染与免疫等内容，将基因与基因组、基因工程两章内容合并为一章，将生物多样性与环境保护改写为现代生物工程技术与环境保护，增加了生物能源、生物炼制及蛋白质工程等新知识点。对第一版中的图、表、标点及表达欠妥的文字内容做了订正，增加或删减一些图表，从而使修订后的内容更加新颖和丰富，适应性更强。内容上突出典型案例与理论教学相结合的特色，实用性强，每章均附有“典型案例”或“延伸阅读”，章后有复习思考题，便于学习和复习。

全书共 11 章内容，由陕西科技大学贺小贤统稿、审校，并负责编写第一章、第四章、第五章（第四节）、第六章（第一、第二和第四节）、第七章（第一、第二和第三节），参与编写第三章、第十章和第十一章的部分内容；陕西科技大学丁勇编写第二章，并参加第九章、第十章文稿的校对工作；天津商业大学王雪青编写第三章；北京农学院高秀芝编写第五章（除第四节）；陕西科技大学杜飞编写第六章（第三节）；陕西科技大学刘欢编写第七章（第四、第五和第六节）；陕西科技大学张雯编写第八章；陕西中医药大学潘亚磊编写第九章；贵州大学胡鹏刚编写第十章；宁夏大学张慧玲编写第十一章。全书案例由贺小贤、刘欢等搜集整理，研究生胡谨、魏洁茹参与部分案例初稿的搜集；陕西科技大学刘筱霞参与部分插图的绘制。另外，在编写的过程中，参考了国内外专家、学者及同行的研究成果或著作、论文，受益很大，在此谨表衷心谢意。对在本书编写过程中给予帮助和支持的朋友、同事、同学及家人等表示衷心的感谢。

在编写的过程中，虽然编者力求内容全面而新颖，概念准确，语言精练，深入浅出，通俗易懂，能够反映生物技术各领域的最新研究进展，但由于生物技术发展日新月异，许多新技术、新方法、新成果还来不及消化吸收编入本教材，加上编者知识水平、写作能力及时间有限，书中不妥之处在所难免，敬请广大读者批评指正。

编 者

2016 年 9 月

第一版前言

生物工程技术是 21 世纪高新技术革命的核心内容, 生物技术产业是 21 世纪的支柱产业。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, 生物工程技术显示出强大的作用。生物技术广泛应用于医药卫生、农林牧渔、轻工食品、化工和能源等领域, 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。

在教育部“高等教育面向 21 世纪教学内容和课程体系改革计划”和“新世纪初高等教育教学改革工程”的推动下, 全国各类院校已陆续为非生物工程专业本科生开设了生命科学方面的课程, 其主要目的是为了加强和提高学生的高科技意识, 培养造就高素质人才, 使进入大学的学生在更高层次上意识到生物工程技术对今后工作和生活的意义, 了解生物工程技术 and 国内外生命科学的研究现状、发展方向。通过学习使学生对 21 世纪生命科学的发展趋势和热点有一个基本的认识, 对未来生物工程技术发展的重大学科方向和领域的有关知识能有所涉猎, 以便在专业学习中能找到生物工程技术知识与所学专业知识的结合点, 能够将生物工程技术合理地运用到自己所学的专业中, 启发思维, 开拓创新, 为今后的发展奠定基础。基于这样的目的, 编者在总结了十几所院校关于本课程的教学经验的基础上, 广泛收集并借鉴了近年来国内外同类教材的优点及科技文献资料, 组织编撰了这本《现代生物工程技术导论》, 作为高等院校非生物工程专业本科教科书。

本书共有 13 章, 既有现代生物工程技术的基本知识和基本理论, 又有生物工程技术在各个领域的应用及其对人类社会的影响, 基础与应用并重。在课时受限的情况下, 教授内容应该简练而不必面面俱到, 可给学生留下自学的空间。教材第一章、第二章、第三章(除第六节外)、第四章、第五章[第一节(一、二)、第二节]、第六章、第八章、第十一章、第十二章(第一、二、七节)由贺小贤编写, 第三章第六节、第九章由杨辉编写, 第五章[除第一节(一、二)、第二节外]由王平诸编写, 第七章由刘慧编写, 第十章由齐香君编写, 第十二章的第三节到第六节由孙宏民编写, 第十三章由张惠玲编写。薛海燕参加第八章的校对工作。

在参考了多部国内外优秀教材和诸多教学实践的基础上, 经过近三年的辛苦工作, 《现代生物工程技术导论》终于编写完成, 谨此向为本教材的编写和出版提供鼓励、支持、指导和帮助的各级领导、同行表达衷心的感谢。由于现代生物工程技术进展甚快, 涉及的知识领域较广, 又限于作者的知识水平和写作能力, 书中不妥之处在所难免, 恳请广大读者提出宝贵意见, 全体编著人员将不胜感激。

编 者

2005 年 1 月

目 录

第二版前言

第一版前言

第一章 绪论..... 1

第一节 现代生物工程的内容与特点 1

一、现代生物工程的概念 1

二、现代生物工程研究的主要内容 2

三、现代生物工程技术的特点 10

第二节 现代生物工程技术及其对社会 发展的影响 11

一、现代生物工程技术的崛起 11

二、人类社会面临的重大问题和挑战 ... 12

三、现代生物工程技术对当代社会的影响 13

四、现代生物工程技术与可持续发展 ... 14

复习思考题 23

第二章 基因与基因工程 24

第一节 基因及基因组 24

一、基因的概念及其本质 24

二、基因突变与遗传疾病 28

三、基因组与后基因组计划 35

第二节 基因工程工具酶 38

一、限制性内切核酸酶 39

二、DNA 连接酶 42

三、DNA 聚合酶 43

四、其他酶类 44

第三节 基因工程载体 44

一、质粒克隆载体 45

二、噬菌体载体 47

三、柯斯质粒载体 48

四、YAC 载体 48

第四节 基因工程菌构建 49

一、目的基因的来源和途径 50

二、重组 DNA 分子的构建 52

三、重组 DNA 分子导入宿主细胞 53

第五节 重组子的筛选、鉴定和分析 55

一、含目的基因重组子的筛选 56

二、重组 DNA 的序列分析 57

第六节 克隆基因的表达与调控 58

一、原核细胞表达与调控的特点 58

二、真核细胞表达与调控的特点 59

三、基因工程菌表达效率的调节 61

第七节 蛋白质工程 64

一、蛋白质工程的研究内容 65

二、蛋白质分子设计及改造 66

三、蛋白质工程的研究进展 69

复习思考题 71

第三章 细胞与细胞工程 72

第一节 细胞工程基础 72

一、细胞的基本组成 72

二、细胞分裂与分化 75

三、细胞的全能性 75

第二节 细胞工程基本技术 75

一、细胞培养技术 76

二、细胞融合技术 76

三、细胞克隆技术 79

四、细胞重组技术 80

五、细胞固定化技术 81

六、转基因技术 82

第三节 动植物细胞的培养特征和营养 需求 85

一、动植物细胞的培养特征 85

二、动植物细胞的营养需求 86

第四节 植物细胞工程 88

一、植物细胞工程的意义 88

二、植物细胞培养的操作方法 90

三、植物组织与细胞大规模培养 90

四、植物细胞大规模培养的应用	92	第二节 发酵工程的概况	146
第五节 动物细胞工程	93	一、发酵工程的发展简史	146
一、动物细胞工程的意义	93	二、发酵工程产品的类型	148
二、动物细胞的形态及培养方法	95	三、发酵过程及其特点	150
三、动物细胞大规模培养技术	97	四、发酵工程的应用	150
四、动物细胞大规模技术的应用	99	五、发酵工程的发展前景	152
第六节 细胞工程研究进展	102	第三节 微生物发酵过程及其优化控制	152
一、干细胞研究	102	一、微生物发酵类型及发酵操作方式	152
二、胚胎工程	104	二、发酵过程的工艺控制	155
三、染色体工程	105	第四节 微生物反应动力学和反应器	159
复习思考题	106	一、基本概念	159
第四章 酶与酶工程	107	二、微生物反应动力学	161
第一节 酶与酶工程的基本知识	107	三、微生物反应器	162
一、酶和酶工程概述	107	第五节 发酵产品的下游处理	168
二、酶工程研究的主要内容	108	一、发酵液的预处理	168
三、酶的分类、命名与结构特点	110	二、发酵产品的分离提取	169
四、酶的活力与活力单位	112	复习思考题	174
五、酶的催化机制	113	第六章 现代生物工程技术 with 轻化工业	175
六、酶的来源与酶的生产方法	114	第一节 现代生物工程技术 with 化学工业	175
第二节 酶的发酵生产	115	一、生物催化剂与化学工业	176
一、酶生物合成的基本理论	115	二、发酵法生产化工产品	178
二、酶生物合成的模式	116	三、现代生物工程技术在化学工业中的	183
三、酶发酵生产工艺	118	应用前景	183
四、提高酶产率的措施	121	第二节 现代生物工程技术 with 食品工业	184
第三节 酶分子的修饰及酶分子的定向进化	122	一、利用现代生物工程技术开发新资源食品	184
一、酶分子的修饰	123	二、利用现代生物工程技术改善和提高	186
二、酶分子的定向进化	124	食品品质	186
第四节 酶工程研究进展	128	三、利用现代生物工程技术进行食品检测	189
一、核酸酶	128	四、转基因食品	192
二、极端酶	130	第三节 现代生物工程技术 with 造纸工业	193
三、抗体酶	131		
四、人工合成酶和模拟酶	131		
复习思考题	133		
第五章 微生物与发酵工程	134		
第一节 微生物的基本知识	134		
一、微生物细胞的结构特点	135		
二、微生物对营养物质的吸收方式	140		
三、工业生产中常见的微生物	142		

一、改良造纸纤维原料	193	第五节 仿生智能材料	229
二、生物法制浆	195	一、仿生智能材料的概念	229
三、生物漂白	197	二、仿生智能材料的结构与特征	229
四、纸浆的酶改性	199	三、人工细胞外基质智能化	230
五、二次纤维的酶促脱墨及改性	200	四、工程化组织表型控制	231
六、生物处理制浆工业废水	201	第六节 纳米生物材料	233
七、纸机运行过程的生物环境及腐浆控制	202	一、纳米材料的基本特性	233
八、造纸生物技术研究进展	203	二、纳米生物材料的应用	234
第四节 现代生物工程技术在皮革、 纺织工业	204	三、纳米生物材料的制备	236
一、现代生物工程技术在皮革工业中的应用	204	四、纳米生物材料的安全性评价	237
二、现代生物工程技术在纺织工业中的应用	205	复习思考题	238
三、特种酶在纺织加工中的应用	207	第八章 现代生物工程技术在生物制药	239
复习思考题	207	第一节 生物技术药物的分类及特点	239
第七章 现代生物工程技术在现代生物 材料	208	一、生物技术药物的分类	239
第一节 概述	208	二、生物技术药物的特点	241
一、生物材料及其发展	208	三、生物技术药物的特征	242
二、生物材料应满足的条件	209	四、生物制药的发展趋势	243
三、生物材料的分类	210	第二节 现代生物工程制药技术	244
四、生物材料的检测与评价	210	一、基因工程制药	244
第二节 天然生物材料	211	二、细胞工程制药	247
一、天然生物材料的结构特征	211	三、酶工程制药	249
二、天然生物材料的活性	211	四、发酵工程制药	252
三、几种重要的天然生物材料	212	五、蛋白质工程制药	254
四、天然生物材料的应用前景	215	第三节 基因工程疫苗	256
第三节 生物医用材料	216	一、肿瘤疫苗	256
一、凝胶类生物材料	216	二、艾滋病疫苗	258
二、生物可降解材料	218	三、其他疫苗	261
三、药物控制释放材料	220	第四节 基因诊断和基因治疗	261
第四节 组织工程材料	222	一、基因诊断	262
一、组织工程学的定义和意义	222	二、基因治疗	264
二、组织工程材料的性能和特点	223	第五节 现代生物工程技术在新药研 究中的应用	266
三、组织工程材料	225	一、革新药物筛选模型	266
四、组织工程材料的研究进展	228	二、开发药物新资源	268
		三、合成新的先导化合物	268
		复习思考题	270

第九章 现代生物工程技术与环境

.....	271
第一节 环境保护的意义.....	271
一、生物多样性的价值.....	272
二、生物多样性的丧失.....	273
三、保护生物多样性的策略.....	275
第二节 环境的生物监测与评价.....	276
一、环境的生物监测与评价的意义.....	277
二、环境的生物监测的分类.....	278
三、环境的生物监测与评价方法.....	278
第三节 环境污染的修复与治理.....	282
一、污染环境的生物修复.....	283
二、环境治理中常见的微生物种群.....	285
三、水质污染的治理.....	287
四、大气污染的生物净化.....	294
五、污染物的生物富集与转化.....	298
复习思考题.....	299
第十章 现代生物工程技术	
.....	300
第一节 生物炼制.....	301
一、生物炼制的概念.....	301
二、生物炼制技术特点.....	302
三、生物炼制细胞工厂的关键问题.....	303
第二节 生物炼制的体系及内容.....	307
一、生物炼制的体系.....	307
二、生物炼制的内容.....	308
第三节 生物炼制技术的应用.....	310
一、生物基化学品.....	310

二、生物基材料.....	314
三、生物质能源.....	314
四、生物可再生原料的修饰.....	321
复习思考题.....	322
第十一章 现代生物工程技术的安全性	
与社会伦理.....	323
第一节 生物安全的概念与意义.....	323
一、生物安全的概念及其表现形式.....	323
二、生物安全性评价.....	324
三、生物安全性控制措施.....	326
四、生物安全性管理体系.....	326
第二节 转基因技术的安全性.....	328
一、转基因生物的安全性.....	328
二、转基因食品的安全性.....	330
三、生物多样性的安全性.....	332
第三节 生物恐怖的危害与防御.....	333
一、生物恐怖的基本概念及特点.....	334
二、生物恐怖的袭击方式.....	335
三、生物恐怖的危害.....	335
四、生物恐怖的防御措施.....	336
五、生物恐怖的防御体系.....	337
六、检测生物剂的技术.....	338
第四节 现代生物技术与社会伦理问题	
.....	340
一、克隆技术的社会伦理.....	340
二、后基因组计划及社会伦理.....	344
复习思考题.....	347
主要参考文献.....	348

第一章 绪 论

现代生物工程技术由生物类学科与工程类学科交叉发展而成，是一门将现代生物学的最新成就（包括生物化学、微生物学、分子遗传学、细胞生物学及免疫学）与先进工程技术手段紧密联系于一体的应用性学科，在化工、医药卫生、农林牧渔、轻工食品、能源和环境等领域都发挥着重要的作用，并促进了传统产业的改造和新兴产业的形成，成为带动 21 世纪经济发展的关键技术之一。在世界各国普遍重视高科技发展的今天，人们越来越关注生物工程技术对经济建设和社会进步带来的深远影响。

现代生物工程技术起源于古代，形成于近代，高速发展于现代，其渊源可以追溯到公元前的酿造技术，凝结着人类早期的发明和现代创造，代表着当代社会文明。现代生物工程技术的诞生基于理论上的三大发现和技术上的三大发明及四大要素，是在分子生物学发展的基础上成长起来的。当代生物技术为什么会引起世界各国如此普遍的关注和重视？首先，生物技术是解决全球性经济问题的关键技术。在迎接食物、资源、能源、环境和人口五大危机的挑战中将大显身手。其次，生物技术广泛应用于医药卫生、农林牧渔、轻工食品、化工和能源等领域，促进传统产业的技术改造和新兴产业的形成，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。所以，现代生物技术是当今高技术革命的核心内容，生物技术产业也是当代社会的支柱产业，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。

第一节 现代生物工程的内容与特点

一、现代生物工程的概念

现代生物工程简单地说就是按照预先设计的蓝图，在分子、细胞和个体等不同层次上进行构思而对生物进行创造和设计，结合工程学科的知识，大规模地生产出各种对人类有益的生物产品。由于生物工程涉及范围广泛，内容庞杂，世界各国学者对其称谓多有不同，对其含义的理解也有不同。美国人曾称为“biotechnology and bioengineering”，意即“生物技术与生物工程”；欧洲人则称为“biomolecular engineering”，即分子生物工程；法国人称为“génie biologique”，即生物工程学；英国人则用“biotechnology”一词既表示生物工程的技术内容，也代表工程内容，但又不同于“bioengineering”。“工程”一词是指完成某项商品生产或向社会提供劳务获得效益的过程，其特点是规模大，复杂性强，又需多学科知识和技术的协调配合；而“技术”一词习惯上是强调在实施过程中所运用的某项具体技巧，故两者迥然不同。生物工程是生物技术的产业化，在生物工程领域中，“技术”与“工程化”过程不可分割，但“工程”与“技术”各自又有相对的独立性。尽管各国对其概念的定义表述有

差异,但大体涵盖的内容基本是相同的。一般认为,现代生物工程是以生物学(特别是其中的微生物学、遗传学、生物化学和细胞学)的理论和工程技术为基础,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,以生产大量有用的代谢产物或发挥它们独特生理功能的一门新兴技术。也有人认为,生物工程是指“人们以现代生命科学为基础,结合先进工程技术手段和其他基础学科的科学原理,按照预先的设计改造生物体或加工生物原料,为人类生产出所需产品或达到某种目的”。先进工程技术是指基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程和蛋白质工程。改造生物体是指通过基因重组或细胞工程获得优良品质的动物、植物和微生物品系。生物原料有淀粉、纤维素、糖蜜等物质,通过一系列的生物化学反应获得生物基化学品和生物燃料等。达到某种目的是指疾病的预防、诊断与治疗,环境污染检测和治理等造福人类的活动。

现在普遍能够接受的是1982年国际经济合作和发展组织给生物工程所下的定义,即“生物工程是应用自然科学及工程学的原理,依靠生物催化剂(biocatalyst)的作用,将物料进行加工,以提供产品或为人类服务的技术”。生物催化剂可以是天然生物包括微生物、组织培养的动植物细胞等,也可以是采用重组DNA技术(recombinant DNA technology)和细胞融合技术(cell fusion technology)人工组建的、具有特定性状的新类型生物及由天然生物和新类型生物产生的酶或其他成分。

二、现代生物工程研究的主要内容

现代生物工程技术是由多学科的理论、技术与工程原理综合而成的边缘学科,内容庞杂,按操作对象及目的可分为基因工程(gene engineering,也称遗传工程)、细胞工程(cell engineering)、发酵工程(fermentation engineering,有时称为微生物工程)、酶工程(enzyme engineering)和生物反应器工程(bioreactor engineering)。前两者的作用是将常规菌(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一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。但广义上的生物工程还包括生物医学工程(如人体信息的检测与分析、康复医学等),甚至仿生学。

1. 基因工程 基因是脱氧核糖核酸(DNA)分子上的一个特定片段。不同基因的遗传信息,存在于各自片段上的碱基排列顺序之中。基因的精确复制,保证了遗传信息的代代相传;基因通过转录出的信使核糖核酸(mRNA),指导合成特定的蛋白质,使基因得以表达,去完成特定的生命活动。因此,基因是遗传之本,是控制生命活动的“蓝图”。利用微生物能产生出对人类有用的抗生素(antibiotic)、氨基酸(amino acid)和酶制剂(enzyme preparation),是因为微生物中含有合成这些物质的基因;家蚕能吐出蚕丝,是因为家蚕含有丝素蛋白基因;豆科植物能固定大气中的氮,因而可在肥料不多的土壤里茁壮成长,这是因为与豆科植物根部共生的微生物中含有固氮基因,从而使这些生物各得其所,各有千秋。但是微生物不能生产出人类胰脏才能产生的胰岛素(insulin)、人类免疫细胞分泌的干扰素(interferon)等这些医学上极其珍贵的药物,因为微生物中没有人的这些基因。多少世纪以

来,人类通过人工选择、杂交育种等方法,培育出许许多多集父母本的优良性状于一身的生物新品种。但这些常规的育种方法不能按照人们预定的目的,定向地改变生物的遗传特征,特别是杂交育种在不同物种之间还存在着不可逾越的鸿沟,人们一直渴望着一种能定向培育生物新品种的方法。

1973年,Cohen等创立了定向改造生物的新科学——基因工程,这一年被科学界定为“基因工程元年”,而Cohen成为基因工程发展史上的创始人。然而,基因工程的诞生不是偶然的,它是数十年无数科学家辛勤劳动和智慧的结晶,在现代分子学领域理论上的三大发现及技术上的三大发明对基因工程的诞生起到了决定性的作用。早在1934年,艾弗里(O. Avery)在美国的一次学术会上首次报道了著名的肺炎双球菌转化实验,发现了生物的遗传物质是DNA,这一超越时代的科学成就,时隔10年才得以公开、认可。事实上,O. Avery不仅证明了DNA是生物的遗传物质,还证明了DNA可以把一个细菌的性状转移给另一细菌,这一分子学领域的三大发现之一,曾被某位诺贝尔奖获得者认为是现代生命科学的开端,也是基因工程的先导。1953年,Watson和Crick搞清楚了DNA的双螺旋结构,提出了DNA半保留复制机制,对生命科学发展的影响足以和达尔文学说、孟德尔遗传定律相提并论。生物遗传信息是以密码方式传递的,每三个核苷酸组成一个密码子,代表一个氨基酸。1966年,美国科学家尼伦伯格(M. W. Nirenberg)与美籍印裔科学家霍拉纳(H. G. Khorana)破译了64个密码子,编排了一本密码字典,建立了中心学法则,确定了遗传信息的传递方式。从此,千百年来神秘的遗传现象,在分子水平上得到了揭示。20世纪40~60年代,在理论研究的基础上,科学家也为基因工程设计了一幅美好的蓝图。但是,面对庞大的双链DNA(dsDNA),尤其是真核生物DNA,人们仍然束手无策,不能把它切成单个的基因片段,尽管那时酶学知识已经得到相当的发展,但没有任何一种酶能对DNA进行有效的切割。直到1970年,Smith和Wilcox在流感嗜血杆菌中分离并纯化了限制性内切核酸酶Hind III,使DNA分子的切割成为可能。1972年Boyer实验室又发现了限制性内切核酸酶EcoRI,该酶每遇到GAATTC序列,就会将双链DNA分子切开形成DNA片段。以后,又相继发现了类似于EcoRI这样的限制性内切核酸酶,从而使DNA分子的剪切成为可能,为基因工程的诞生提供了技术基础。1967年,世界上有5个实验室几乎同时发现了DNA连接酶,这种酶能够参与DNA缺口的修复。1970年,美国的Khorana实验室发现了一种具有更高连接活性的T4 DNA连接酶,这使DNA连接成为可能。由于DNA片段不具备复制能力,因此,为了能够在寄主细胞中进行繁殖,必须将DNA片段连接到一种特定的、具有自我复制能力的DNA分子上,即基因工程载体(vector)。事实上,基因工程载体的研究先于限制性内切核酸酶,1964年,Lederberg开始研究细菌的性因子——F因子,之后相继发现其他因子,如抗药性因子(R因子)、大肠杆菌素因子(CoE)。1973年,Cohen将质粒作为基因工程的载体使用。由于诸多科学巨匠的辛苦工作和卓越的成就,基因工程诞生的条件已经成熟。两位科学“助产士”Lederberg和Cohen把基因工程接到了人间。

基因工程的诞生使生命科学发生了革命性变化,标志着人类已进入改造和创建新生命形态的时代,并展现出其光辉的未来。基因工程的原理是应用人工方法把生物的遗传物质,通常是脱氧核糖核酸(DNA)分离出来,在体外进行切割、拼接和重组,然后将重组的DNA导入某种宿主细胞或个体,从而改变它们的遗传品性;有时还使新的遗传物质(基因)在新的宿主细胞或个体中大量表达,以得到基因产物(多肽或蛋白质)。这种通过体外DNA重

组技术创造新生物,并给予特殊功能的技术称为基因工程,有时也称重组 DNA 技术。

基因工程诞生 40 多年来,研究工作成果主要体现在基因工程医药方面。例如,通过“工程菌”生产干扰素、白细胞介素、肿瘤坏死因子等人类重要的医药产品;通过转基因动物生产医药品和优质营养品;基因技术获得的农作物能够抵抗各种病虫害等。随着后基因组计划的进行,基因结构与功能的研究,不仅为疾病的诊断和治疗提供了支持,还为重组 DNA 新药、新疫苗、新诊断试剂的设计与研发提供新途径,并为临床医学诊断、预防和治疗带来新的变革。

蛋白质工程是指在基因工程的基础上,结合蛋白质结晶学、计算机辅助设计和蛋白质化学等多学科的基础知识,通过对基因的人工定向改造等手段,对蛋白质进行修饰、改造和拼接以生产出能满足人类需要的新型蛋白质的技术。1983 年,美国 GENE 公司的 Ulmer 博士首先提出了蛋白质工程,它是指按照特定的需求,对蛋白质分子进行设计和改造的工程,实现从氨基酸序列预测蛋白质的空间结构和生物功能,设计合成具有特定生物功能的全新蛋白质,这也是蛋白质工程最根本的目标之一。蛋白质工程的实践依据是 DNA 指导蛋白质的合成,因此,人们可以根据需要对负责编码某种蛋白质的基因进行重新设计,使合成出来的蛋白质结构符合人们的要求。自此以后,蛋白质工程迅速发展,已成为现代生物工程技术的重要组成部分。由于蛋白质工程是在基因工程的基础上发展起来的,在技术方面有诸多同基因工程技术相似的地方,因此蛋白质工程也被称为第二代基因工程。蛋白质工程第一个十分成功的范例是在世界上首次人工合成牛胰岛素,成为轰动世界的大事件。

定点诱变(site-directed mutagenesis)的成功,人们将可更自如地改造蛋白质和生物。有人设想通过蛋白质工程,有可能获得更加耐热、耐酸或耐碱、酶活更高、专一性更强和空间结构更加稳定的酶,有可能研制出新一代的疫苗,科学家通过对胰岛素的改造,已使其成为速效型药品。如今生物和材料科学家正在积极探索将蛋白质工程应用于微电子方面,用蛋白质工程方法制成的电子元件,具有体积小、耗电少和效率高的特点,因此蛋白质工程有极为广阔的发展前景。

代谢工程(metabolic engineering)被称为第三代基因工程,是生物工程的一个新的分支,即通过基因工程的方法改变细胞的代谢途径。依据对生物代谢途径及其调控机制的认识,通过对影响代谢产物分配的主要因素(酶基因机器调节因子)及代谢产物形成量关系的分析,确定遗传修饰的分子靶标,对这些分子靶标的遗传修饰可使目标代谢物形成量有一定的提高甚至达到所期望的程度。因此,代谢工程是一门利用重组 DNA 技术对细胞物质代谢、能量代谢及调控网络信号进行修饰与改造,进而优化细胞生理代谢、提高或修饰目标代谢产物及合成全新目标产物的新学科。它把量化代谢流及其控制的工程分析方法和用以精确制订遗传修饰方案并付诸实施的分子生物学综合技术结合起来,以“分析-综合”反复交替操作、螺旋式逼近目标的方式,在较广范围内改善细胞性能,以满足人类对生物的特定需求。1991 年,美国加州理工学院化学工程系教授 Bailey 首先提出代谢工程这个概念,它来自于反应工程和用于生化反应途径分析的热力学,强调整体的代谢途径而不是个别酶反应,常用的名词术语有:推理性代谢工程(constructive metabolic engineering)、逆代谢工程(inverse metabolic engineering)、途径(pathway)、通量/物流(flux)、代谢网络(metabolic network)、节点(node)、代谢物流分析(metabolic flux analysis)、弹性系数(elastic coefficient)、物流分担比(flux split ratio)、代谢控制分析(metabolic control analy-

sis)、物流控制系数 (flux control coefficient)、物流求和理论 (flux summation theory) 等。随着对代谢物图谱和代谢途径互作效应进行全方位分析的新技术的建立和应用,人们对代谢过程的理解将更加深入和完善。

2. 细胞工程 自人类第一次发现细胞到现在已有三百多年的历史。随着科学技术和实验手段的进步,人们对细胞的认知由浅入深、由表及里、逐步深入。1665年,英国的物理学家胡克(R. Hooke)用自制的显微镜观察了软木(栎树皮)和其他植物组织,发表了《显微图谱》(*Micrographia*)一书,描述了软木由许多小室组成,状如蜂窝,称为“细胞”(cell原意为小室)。实际上,R. Hooke在软木组织中所看到的仅是植物死细胞的细胞壁,但这是人类第一次看到细胞轮廓,人们对生物体形态的认知首次进入了细胞这个微观世界。1675年,A. V. Leeuwenhoek用自制的高倍放大镜先后观察了池塘水中的原生动物和动物的精子,在蛙、鱼的血液发现了红细胞,之后他又在牙垢中看到了细菌。1831年,布朗(R. Brown)在兰科植物的叶片表皮细胞中发现了细胞核。1835年,迪雅尔丹(E. Dujardin)在低等动物根足虫和多孔虫的细胞内首次发现了透明胶状物质的内含物,称为“肉样质”(sarcoid)。1836年,瓦朗丁(Valentin)在结缔组织细胞核内发现了核仁。1838~1839年,德国植物学家施莱登(M. J. Schleiden)和动物学家施旺(T. Schwann)根据自己的研究和总结前人的工作,首次提出了细胞学说(cell theory)。他们认为“一切生物从单细胞到高等动植物都是由细胞组成的;细胞是生物形态结构和功能活动的基本单位”。由此论证了生物界的统一性和共同起源。由于这一发现,人们不仅知道了一切高等有机体都是按照一个共同规律发育和生长的,而且认为细胞具有变异能力。由此明确提出细胞是生物有机体的结构和生命活动单位,又是生物个体发育和系统发育的基础,此后细胞学很快发展成为一门新的独立学科,并成为细胞生物学发展的起点。在1885年,德国病理学家魏尔啸(R. Virchow)把细胞理论应用于病理学,证明病理过程在细胞和组织中进行,提出了“疾病为外力引起细胞间内战”的著名论断,发展了细胞病理学,支持与丰富了细胞学说。

从19世纪中叶到20世纪初叶,由于许多科学家应用特定的染色技术及先进的仪器设备,人们逐渐观察到细胞形态和微观结构,并且发现了细胞直接分裂和间接分裂。之后相继发现了中心体、线粒体和高尔基体,诸多发现使大家对细胞结构的复杂性有了较为深入的理解。从此,细胞学的研究从形态结构的观察深入到生理功能、生物化学、遗传发育机制的研究,使用新技术和新方法,特别是体外培养技术的应用,使实验细胞学得到迅速发展,细胞学和相关学科的相互渗透,从而形成一些分支学科。1933年,Ruska设计制造了第一台电子显微镜,许多学者用电镜技术观察了细胞内各种细胞器的亚显微结构,对细胞质的结构和功能的认识又深入了一步,使细胞学的研究得到全面发展。随着生物化学、微生物学与遗传学的相互渗透和结合,分子生物学开始萌芽。随着分子生物学的新成就、新概念、新技术渗入到细胞学的各个领域,从而使从分子水平、亚细胞水平和细胞整体水平来研究细胞的各种生命活动,如生长、发育、遗传、变异、代谢、免疫、起源与进化成为现实,形成细胞生物学。生物体的细胞具有使后代细胞形成完整个体的潜能,其物质基础是每一个细胞都含有本物种所有的全套遗传物质,细胞具有全能性。细胞分化实质上是基因在特定的时间和空间条件下选择性表达的结果。

20世纪60年代,法国的国家病毒学和细胞融合实验室在进行两种小鼠肿瘤细胞的研究实验时,意外地观察到一种新类型细胞的形成,特别是这种新型细胞的核所含的染色体数目

等于亲本细胞染色体数的总和,这个结论被进一步的重复实验观察所证实,但是,这些细胞的融合率非常低。后来,日本研究者做出了大的突破,采用灭活仙台病毒诱发细胞的融合能力,诱发人体 HeLa 细胞和小鼠肿瘤细胞融合,并取得成功,这属于不同目的脊椎动物细胞之间发生的融合,这一细胞工程技术的重大突破为遗传育种、人为促进生物快速进化找到了一条新路。1975 英国科学家米尔斯坦 (Milstein) 研制成功了淋巴细胞杂交瘤技术,杂交瘤细胞株产生的抗体称为单克隆抗体 (monoclonal antibody)。单克隆抗体问世后很快就应用于临床实践,被称为 20 世纪 80 年代的“生物导弹”。因为它能够引导药物定向和有选择性地攻击靶细胞,目前已用于治疗癌症、艾滋病等多种疑难疾病及人类、动物和农作物病害等的快速诊断,成为细胞工程在医学上最重要的成就之一。

所谓的细胞工程 (cell engineering) 是指以细胞为基本单位,在体外条件下进行培养、繁殖或人为地使细胞的某些生物学特征按人们的意愿发生改变,从而达到改良品种和创造新品种,或加速繁育动物、植物个体,或获得某种有用物质的目的。细胞工程属于广义的遗传工程,是将一种生物细胞中携带的全套遗传信息的基因或染色体整个导入另一种生物细胞,从而改变细胞的遗传性,创造新的生物类型。所以,细胞工程应包括动植物细胞的体外培养、细胞融合、细胞重组、细胞器移植、克隆和干细胞、染色体工程、固定化细胞和动植物细胞的大规模培养等技术。但也有人认为,固定化细胞应归入酶工程,动植物细胞的大规模培养应列入发酵工程。

近年来,细胞工程领域中最引人瞩目的是细胞融合技术及细胞杂交,并取得一些突破性研究进展。细胞融合技术是应用经紫外线灭活的病毒(如仙台病毒)或聚乙二醇和溶血卵磷脂处理体外培养的细胞,使其细胞膜发生改变,导致细胞相互合并而成多核体。同种细胞融合称为同核体,不同种细胞的融合称为异核体。后者在以后的分裂过程中,不同遗传型染色体混合产生单核合核体。应用这一技术可以分析细胞的质核关系、基因表现的调节和基因在染色体上的定位。细胞杂交是应用细胞融合技术,使不同种细胞的细胞质和细胞核合并。由不同种的体细胞经过细胞融合后形成双核细胞,染色体在分裂过程中互混后产生的杂交单核子细胞便是杂交细胞,也称合核体。应用细胞融合技术可以培育新型生物物种,打破只有同种生物杂交才能育种的限制,实现了种间也可育种的突破。目前细胞融合技术不但可以把不同种类的植物细胞、不同来源的动物细胞进行融合,而且可以把动植物细胞融合在一起,这一创举对于创造动物、植物、微生物新品种及在医学领域都具有重要的应用价值。

利用细胞工程进行作物育种是迄今人类受益最多的一个方面,已经培育出新品种或品系的有水稻、小麦、玉米等,有希望通过这一技术改良作物的品质,使其更适合人类的营养需求。要实现上述育种目标,就必须采用科学、先进与创新的育种新技术。通过以上染色体工程技术、原生质体培养、花药培养与无性系变异筛选、组织与体细胞杂交技术在农作物育种上开发应用所取得新进展的综述,充分展示了植物细胞工程技术对加快农作物新品种的育种进程,缩短育种年限,扩大变异范围,拓宽育种领域,打破种间杂交障碍,提高育种水平所起到的重要作用。因此,可以预测并展望细胞工程技术在加速 21 世纪各种农作物育种进程,促进农业生产的发展与农业高新技术的产业化等方面,必将具有更为广阔的开发应用前景。

3. 酶工程 酶 (enzyme) 是由生物细胞产生的具有催化功能的生物催化剂,具有特异性高、专一性强及条件温和等特点。调控新陈代谢是酶的重要特征,生物的一切生命活动

都是由细胞代谢的正常运转来维持的，而生物体代谢的各种化学反应都是在酶的作用下进行的。没有酶，就没有生命活动。酶还是分子生物学研究的重要工具，专一性工具酶的出现，为基因工程奠定了坚实的理论基础。

从我国已有的记载资料得知，4000 多年前的夏禹时代酿酒已盛行，酒是酵母发酵的产物，是细胞内酶作用的结果。国外知道酶的存在是与发酵和消化现象联系在一起的。1833 年，Payen 和 Person 从麦芽的水抽提物中用乙醇沉淀得到了一种对热不稳定的活性物质，称为淀粉酶制剂（diastase），所以有人认为 Payen 和 Person 首先发现了酶。1835 年，伯齐利厄斯（Berzelius）提出了催化作用概念之后，起催化作用的物质才被称为 ferment（酵素）或 biocatalyst（生物催化剂）。1878 年，德国 Kuhne 首先把这类物质称为 enzyme，原意为“在酵母中”。1896 年，德国学者 Buchner 兄弟研究酵母细胞，发现了酒化酶（zymase），此发现促进了酶的分离和对其理化性质的探讨，也促进了对有关各种生命过程中酶系统的研究，有人认为这是酶学研究的开始。20 世纪初，一方面发现了更多的酶，另一方面还发现了辅酶。1913 年，Michaelis Menton 总结了前人的工作，根据中间产物学说提出了酶促反应动力学原理——米氏学说，这是一个重要的突破。1926 年，Sumner 从刀豆中得到脲酶结晶（这是第一个酶结晶），并证实这种结晶催化尿素水解，产生 CO_2 和氨，提出酶本身就是一种蛋白质。之后相继获得了胃蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶的结晶，并获得 1946 年的诺贝尔化学奖。20 世纪 50~60 年代，发现酶有相当的柔性，因而 Koshland 提出了“诱导契合”理论，以解释酶的催化理论和专一性，同时也搞清了某些酶的催化活性与生理条件变化有关。1961 年，Monod 及其同事提出了“变构模型”，用以定量解释有些酶的活性可以通过结合小分子物质，即效应物（激活剂或抑制剂）进行调节，从而提供了认识细胞中许多酶调控作用的基础。1971 年，第一次国际酶工程会议在美国举行，当时酶制剂已广泛用于工业和临床。例如，千畑等将固定化氨基酸酰化酶拆分氨基酸技术用于工业化生产 L-氨基酸，开创了固定化酶应用的局面，千畑也因此成为 1983 年酶工程会议的获奖人。此后，固定化天冬氨酸酶（合成 L-天冬氨酸）、固定化葡萄糖异构酶（生产高果糖浆）等的工业化生产取得成功。1982 年 Cech 小组发现，四膜虫的 rRNA（核糖体核糖核酸）前体能在完全没有蛋白质的情况下进行自我加工，催化得到成熟的 rRNA 产物。就是说，RNA 本身是生物催化剂，Cech 称其为“ribozyme”，这是对酶的传统概念的严重挑战，认为酶并不一定都是蛋白质，也可能是核酸。1986 年，Schultz 和 Learner 两个小组同时报道了，用事先设计好的过渡态类似物作半抗原，按标准单克隆抗体制备法获得了具有催化活性的抗体，即抗体酶（abzyme）。这一重要突破为酶的结构功能研究和抗体与酶的应用开辟了新的研究领域。

现代生物科学发展已深入到分子水平。从生物大分子的结构与功能关系来说明生命现象的本质和规律，从酶分子水平去探讨酶与生命活动、代谢调节、疾病、生长发育等的关系，无疑具有重大科学意义。酶鲜明地体现了生物体系的识别、催化、调节等奇妙功能。天然酶在生物体中含量一般较低，难于提取和大量制备，限制了它的实际应用。重组 DNA 技术的建立，使人们可以较容易地克隆各种各样天然的酶基因，并将其在微生物或其他生物中高效表达，从而在很大程度上摆脱了对天然酶源的依赖。近年来，结构生物学和基因操作技术的发展使得科学家能够对酶分子进行有效的改造，甚至开始为“目的”而设计，从而导致了分子酶工程学（molecular enzyme engineering）的发展。概括地说，分子酶工程学就是采用基因工程和蛋白质工程的方法和技术，研究酶基因的克隆和表达、酶蛋白的机构与功能的关系及