

分子生物学与生物技术

MOLECULAR BIOLOGY AND
BIOTECHNOLOGY

[英] J. M. 沃克 R. 拉普勒 编



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

分子生物学与生物技术

MOLECULAR BIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY

[英] J.M. 沃克 R. 拉普勒 编
谭天伟 黄留玉 苏国富 等译

化 学 工 业 出 版 社

现代生物技术与医药科技出版中心

·北 京·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

分子生物学与生物技术/[英] J.M.沃克, R.拉普勒
编; 谭天伟, 黄留玉, 苏国富等译. —北京: 化学工业
出版社, 2003.1

ISBN 7-5025-3702-3

I. 分… II. ①沃…②拉…③谭…④黄…⑤苏…
III. 分子生物学-进展-作用-生物技术-进展 IV. ①Q7
②Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2002) 第 096123 号

Molecular Biology and Biotechnology (4th Edition)

Edited by J. M. Walker and R. Rapley

ISBN 0-85404-606-2

Copyright © 2000 by The Royal Society of Chemistry. All Rights Reserved.

本书中文简体翻译版由 The Royal Society of Chemistry 授权化学工业出版社出版发行。

未经出版者许可, 不得以任何方式复制和抄袭本书的任何部分。

北京市版权局著作权合同登记号: 01-2001-2431

分子生物学与生物技术

[英] J.M. 沃克 R. 拉普勒 编

谭天伟 黄留玉 苏国富 等译

责任编辑: 郎红旗 傅四周

责任校对: 郑捷

封面设计: 潘峰

*

化学工业出版社 出版发行
现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里3号 邮政编码 100029)

发行电话: (010)64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京市彩桥印刷厂印刷

三河市前程装订厂装订

开本 787 毫米×960 毫米 1/16 印张 27 $\frac{3}{4}$ 字数 497 千字

2003 年 1 月第 1 版 2003 年 1 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-3702-3/Q·17

定 价: 50.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

译 者 序

生物技术近年来发展很快，涉及领域由最初的医药和农业生物技术扩展为环境生物技术、能源生物技术和新材料生物技术等，特别是以基因工程为代表的现代生物技术已成为高新技术的支撑技术之一，涌现出许多新的方法和技术如转基因植物、分子克隆、生物信息学、蛋白质工程、分子诊断和基因治疗等。因此迫切需要一本能全面介绍这些新技术、新方法的入门读物或普及性教材。

由英国 Hertfordshire 大学 J.M. 沃克教授和 R. 拉普勒教授编写的《分子生物学与生物技术》对分子生物学和生物技术进行了系统和全面的总结，而且对生物技术的最新进展也进行了介绍。内容包括：发酵技术，重组 DNA 技术，细菌、酵母和哺乳动物细胞的 DNA 克隆表达技术，植物生物技术，分子诊断，疫苗，蛋白质工程，生物催化和下游过程等。特别适合于大学非生物学专业学生用于学习现代生物技术有关知识的教科书，而且也可以作为具有高中以上文化的企业和事业单位的同志了解生物技术的辅助教材。因此我们组织了军事医学科学院、北京化工大学、北京大学的年轻博士对该书进行了翻译。希望通过本书的翻译，促进广大对生物技术爱好或有兴趣的同志对分子生物学和生物技术的全面了解，并起到入门作用。

由于我们译者的知识水平有限，在本书的译稿中肯定会有不少错误或不准确的译法。恳请各位读者提出宝贵的意见。

谭天伟
2002.12

2002.12

原著编写人员名单

J. R. Adair, Cambridge, UK

G. F. Bickerstaff, Department of Biological Sciences, University of Paisley, Paisley
PA1 2BE, UK

V. C. Bugeja, Department of Biosciences, University of Hertfordshire, College Lane,
Hatfield, Hertfordshire AL10 9AB, UK

M. F. Chaplin, School of Applied Science, South Bank University, 103 Borough
Road, London SE1 0AA, UK

B. P. G. Curran, School of Biological Sciences, Queen Mary and Westfield College,
University of London, Mile End Road, London E1 4NS, UK

P. Debenham, University Diagnostics, South Bank Technopark, 90 London Road,
London SE1 6LN, UK

C. J. Dean, formerly of McElwain Laboratories, Institute of Cancer Research, UK

E. Green, South Thames Regional Genetics Centre, Division of Medical and Molecu-
lar Genetics, Guys Hospital, St Thomas Street, London SE1 9RT, UK

P. M. Hammond, Centre for Applied Microbiology and Research, Porton Down, Sal-
isbury, Wiltshire SP4 0JG, UK

M. G. K. Jones, Western Australian State Agricultural Biotechnology Centre, Mur-
doch University, Loneragan Building, Perth 6150, Western Australia

M. Mackett, CRC Department of Molecular Biology, Molecular Genetics Section,
Paterson Institute of Cancer Research, Christie Hospital NHS Trust, Manchester
M20 9BX, UK

P. D. Martin, University Diagnostics, South Bank Technopark, 90 London Road,
London SE1 6LN, UK

J. J. Mullins, The Molecular Physiology Laboratory, The Wilkie Building, Universi-
ty of Edinburgh Medical School, Teviot Place, Edinburgh EH8 9AG, UK

L. J. Mullins, The Molecular Physiology Laboratory, The Wilkie Building, Univer-
sity of Edinburgh Medical School, Teviot Place, Edinburgh EH8 9AG, UK

E. J. Murray, Roche Products, Broadwater Road, Welwyn Garden City, Hertford-
shire AL7 3AY, UK

R. K. Pawsey, School of Applied Science, South Bank University, 103 Borough

Road, London SE1 0AA, UK

R. Rapley, Department of Biosciences, University of Hertfordshire, College Lane, Hatfield, Hertfordshire AL10 9AB, UK

T. K. Sawyer, ARIAD Pharmaceuticals, 26 Landsdowne Street, Cambridge, Massachusetts 02139, USA

M. D. Scawen, Centre for Applied Microbiology and Research, Porton Down, Salisbury, Wiltshire SP4 0JG, UK

R. J. Slater, Department of Biosciences, University of Hertfordshire, College Lane, Hatfield, Hertfordshire AL10 9AB, UK

P. F. Stanbury, Department of Biosciences, University of Hertfordshire, College Lane, Hatfield, Hertfordshire AL10 9AB, UK

J. M. Walker, Department of Biosciences, University of Hertfordshire, College Lane, Hatfield, Hertfordshire AL10 9AB, UK

D. R. Williams, Department of Biosciences, University of Hertfordshire, College Lane, Hatfield, Hertfordshire AL10 9AB, UK

P. M. Woollard, Genomics Unit, UK Genetics, Glaxo Wellcome, Gunnells Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY, UK

谨以此书献给完成本书写作后匆匆谢世的 Christopher J. Dean 先生

前 言

在分子生物学领域中非常令人振奋的一个方面就是新的实验方法及这些方法的实际应用不断地迅速发展。事实上，正是这些发展使我们产生了编写《分子生物学与生物技术》第一版的想法，并且后续的版本中也反映了这个领域迅速发展的特点。为了与不断扩大的技术变化同步，我们把分子生物学的基本内容从最初的一章增加到最新版本的两章。近几年互联网呈指数发展，这为分子生物学者们提供了一个重要的信息来源和数据库的使用途径。所以我们认为将生物信息学这个主题作为新的一章增加到本书中是合适而且及时的。其他章的标题与前一版保持一致，但是这并不能掩盖我们为了反映发生在这些领域的重大进展而对这几章内容所做的明显的更新。实际上，为了能够反映出这些研究进展，这几章的大部分内容都需要完全重写而不仅仅是简单的更新。

PCR（在前一版仅仅作为单独的一章进行了介绍）已经被牢固地确立为日常的研究工具，其内容贯穿本书的始终证明了它对这个领域的革命性影响。分子生物学继续深远地影响着诸如植物工程，食品工程（特别是在对基因修饰食品的争论），单克隆抗体疫苗的开发、使用和应用，临床治疗和诊断，转基因动植物的生产以及许多其他与制药工业相关的研究领域的进展。在这一版中所有关于这些领域的内容都得到了全面更新。另外，我们一贯坚持认为生物技术不能仅被认为在基因水平，在发酵工艺、下游加工和固定化生物催化剂的应用这几章中我们对其在大规模生产和制备方面予以了全面论述。

我们一直认为这本书应主要作为教学用书。同样地，本书应该证明它不仅对生物或化学专业的本科生是合适的，而且也适合那些需要对这个迅速发展的领域有一个完整了解的研究生和其他科研工作者们。

John M. Walker

Ralph Rapley

6/11/11

内 容 提 要

《分子生物学与生物技术》英文版原著由英国皇家化学会(RSC)出版,是一本获得广泛赞誉的教科书。现在的第4版进行了全面修订和更新,力求体现这个快速发展领域的最新进展。

本书由知名专家撰写,共19章,全面反映分子生物学的发展及其对生物技术的推动。涵盖的内容包括基因工程、细胞工程、蛋白质工程、酶工程、发酵工程等各个方面,并适时增加了医药生物技术(如免疫接种、抗体工程、遗传疾病分子诊断、法医学应用)及生物传感器、生物信息学相关内容。

本书以浅显易懂的形式阐述分子生物学相关理论和应用技术,是生物学和化学相关专业理想的本科教材或参考书,也适用于其他领域从事生物技术研究、生产人员参考。

目 录

第 1 章 发酵技术..... 1

Peter F. Stanbury

1 引言	1
2 微生物生长	1
3 发酵的应用	4
3.1 微生物生物量	4
3.2 微生物代谢物	4
3.3 微生物酶	7
3.4 转化过程	7
3.5 重组产品	7
4 发酵过程	7
5 产物形成的基因改良.....	10
5.1 诱变.....	10
5.2 重组.....	13
6 总结.....	15
参考文献	15

第 2 章 分子分析及扩增技术 18

Ralph Rapley

1 引言.....	18
1.1 分子生物学研究中常用的酶.....	18
2 核酸的提取和分离.....	20
2.1 DNA 提取技术	20
2.2 RNA 提取技术	21
3 核酸电泳.....	21
4 DNA 片段酶切图谱	23
5 核酸印迹和杂交.....	24
5.1 杂交和严谨性.....	24
6 基因探针的制备.....	25
6.1 DNA 基因探针的标记	26
6.2 非放射性 DNA 标记	27

6.3	DNA 末端标记	27
6.4	DNA 的随机引物标记	28
6.5	DNA 的切口平移标记	29
7	多聚酶链式反应	29
7.1	PCR 的构成和操作过程	31
7.2	热稳定 DNA 聚合酶	33
7.3	PCR 引物的设计	33
7.4	PCR 扩增的模板	34
7.5	PCR 的灵敏度	35
7.6	PCR 技术的改良	35
7.7	PCR 的应用	36
8	其他扩增技术	37
9	DNA 的核苷酸序列分析	38
9.1	双脱氧核苷酸链终止子测序法	40
9.2	直接 PCR 测序法	40
9.3	循环测序法	40
9.4	自动荧光 DNA 测序法	41
9.5	Maxam 和 Gilbert 测序	42
10	生物信息学与因特网	43
	参考文献	44
第 3 章	重组 DNA 技术	47
	<i>Ralph Rapley</i>	47
1	引言	47
2	基因文库的构建	47
2.1	基因组 DNA 分子的消化	47
2.2	DNA 分子的连接	48
2.3	制备基因文库应考虑的因素	50
2.4	基因组 DNA 文库	50
2.5	cDNA 文库	51
2.6	接头和衔接体	53
2.7	RNA 的浓缩方法	54
2.8	消减杂交法	54
2.9	克隆 PCR 产物	54
3	克隆载体	55
3.1	源于质粒的克隆载体	56

3.1.1	质粒筛选系统	57
3.1.2	pUC 质粒克隆载体	59
3.2	以病毒为基础的克隆载体	60
3.2.1	插入型和置换型克隆载体	61
3.3	M13 和以噬菌粒为基础的克隆载体	63
3.3.1	克隆入单链噬菌体载体	64
3.4	以黏粒为基础的克隆载体	66
3.5	具有插入大片段能力的克隆载体	67
3.6	酵母人工染色体克隆载体	67
3.7	真核细胞中使用的载体	67
4	基因探针与杂交	69
4.1	克隆 DNA 探针	69
4.2	RNA 基因探针	69
5	基因文库的筛选	70
5.1	菌落与噬菌斑杂交	70
5.2	通过 PCR 筛选基因文库	71
5.3	筛选表达 cDNA 文库	71
5.4	杂交选择/扣留翻译	72
6	基因克隆的应用	73
6.1	克隆 DNA 的测序	73
6.2	体外诱变	73
6.3	寡核苷酸指导的诱变	74
6.4	基于 PCR 的诱变	74
7	外源基因的表达	75
7.1	产生融合蛋白	76
7.2	在哺乳动物细胞中表达	78
7.3	噬菌体蛋白展示	78
8	基因分析与基因表达	79
8.1	鉴定和分析 mRNA	79
8.2	逆转录 PCR	80
8.3	原位基因分析	81
8.4	转基因学和基因打靶	82
9	微型阵列与 DNA 芯片	82
10	整个基因组分析	83
10.1	基因组物理图谱	84

10.2 基因的发现和定位	85
10.3 人类基因组作图计划	87
参考文献	87
第4章 外源 DNA 在细菌中的表达	90
<i>Robert J. Slater, D. Ross Williams</i>	
1 引言	90
2 基因表达的调控	92
2.1 原核生物	92
2.2 真核生物	94
3 真核基因在细菌中的表达	96
3.1 内含子	96
3.2 启动子	97
3.3 核糖体结合位点	98
3.4 外源 DNA 以融合蛋白的形式表达	98
3.5 天然蛋白的表达	101
4 外源基因表达的检测	103
5 最大水平地表达外源 DNA	103
5.1 大肠杆菌中表达的优化	105
6 采用其他宿主菌	107
7 展望	108
8 推荐读物	109
参考文献	109
第5章 酵母克隆和生物技术	113
<i>Brendan P. G. Curran, Virginia C. Bugeja</i>	
1 引言	113
2 酿酒酵母的基因操作	113
2.1 将 DNA 引入酵母	113
2.2 酵母选择性标志	113
2.3 载体系统	114
3 外源蛋白生成	116
3.1 外源 DNA 的来源	116
3.2 细胞中外源 mRNA 的水平	116
3.3 蛋白的产量	117
3.4 所需产物的特征	118
4 用酵母分析基因组、基因和蛋白与蛋白的相互作用	119

4.1 YAC 技术	119
4.2 基因敲除	122
4.3 新的报告系统	125
5 未来的展望	126
参考文献	127
第 6 章 在哺乳动物细胞系中克隆基因	130
<i>Edward J. Murray</i>	
1 引言	130
2 DNA 转染方法	131
2.1 磷酸钙共沉淀	132
2.2 DEAE 葡聚糖	132
2.3 电穿孔	132
2.4 原生质体融合	133
2.5 脂染	133
2.6 Polybrene-DMSO 处理	134
2.7 显微注射	134
2.8 刮染	134
3 基因表达的要求	135
4 DNA 组分	137
4.1 载体的使用	137
4.2 质粒类载体	138
4.3 病毒类载体	138
4.4 腺病毒载体	139
4.5 逆转录病毒载体	139
4.6 痘病毒载体	140
4.7 杆状病毒载体	141
5 选择细胞系的一些设想	142
6 瞬时表达与稳定表达	143
6.1 通过宿主细胞缺陷互补筛选	143
6.2 显性选择技术	143
6.3 可扩增的选择系统	145
参考文献	145
第 7 章 植物生物技术	148
<i>Michael G. K. Jones</i>	
1 引言	148

2	应用分子生物学加快作物品种改良过程	148
2.1	作物植物的分子图谱	148
2.2	分子标记物	149
2.3	分子标记物类型	149
2.4	分子标记物的辅助选择	150
2.5	分子标记物辅助选择举例	151
2.6	分子诊断	151
2.7	DNA 指纹图谱、变异鉴定	152
2.8	DNA 微阵列	152
2.9	生物信息学	152
3	转基因技术	153
3.1	农杆菌介导的转化	153
3.2	选择标记和报告基因	153
3.3	粒子轰击法	153
4	转基因技术的应用	154
5	抗除草剂的工程作物	155
6	对病虫害的抗性工程	156
6.1	昆虫抗性工程	156
6.2	植物病毒抗性工程	157
6.3	真菌致病菌抗性	158
6.4	自然抗性基因工程	159
6.5	真菌致病菌抗性工程	161
6.6	细菌致病菌抗性工程	161
6.7	线虫致病菌抗性工程	162
7	人工雄性不育	162
8	胁迫耐受性	163
9	性状控制	163
9.1	延长贮存期	164
9.2	营养和技术性状	164
9.2.1	蛋白	164
9.2.2	植物油	164
9.2.3	淀粉性状改良	165
9.2.4	果糖	166
9.3	代谢分配调节	166
10	植物聚合物和生物可降解塑料的生产	166

11 植物生物反应器、生物药物和营养品	167
11.1 可食用植物疫苗	167
11.2 利用植物生产抗体	167
11.3 植物营养品	167
12 植物生物技术在林业中的应用	168
13 知识产权	168
14 公众接受程度	169
15 展望	170
参考文献	170

第 8 章 药学研究中的分子、结构和化学生物学

Tomi K. Sawyer

1 引言	174
2 疾病和体内转基因模型的分子生物学	174
3 基因组蛋白质靶位与重组治疗学	176
4 结构生物学与合理化药物设计	180
5 化学生物学与分子多样性	184
6 基因治疗与 DNA/RNA 靶向治疗	187
7 药物研究的发展前景	188
8 小结	189
参考文献	189

第 9 章 遗传修饰食物

Rosa K. Pawsey

1 引言	196
2 新食品生产与加工所需的法律依据	196
3 食用农作物	201
4 食用动物	203
5 制造类食品的发展趋势	204
6 消费者认可与市场压力	206
参考文献	208

第 10 章 遗传病的分子诊断

Elizabeth Green

1 引言	210
2 基因突变的直接检测	211
2.1 基因缺失、倍增和插入的检测	211
2.2 扩展突变的检测	212

2.3 点突变的检测	215
2.3.1 等位基因特异的寡核苷酸杂交分析	215
2.3.2 限制性酶切位点分析	215
2.3.3 ARMS	216
2.3.4 寡核苷酸连接试验	216
2.3.5 荧光标记 DNA 测序分析	218
3 用连锁性遗传标记进行间接诊断	220
4 前景展望	220
参考文献	221
第 11 章 DNA 在法医学中的应用	222
<i>Paul Debenham, Peter D. Martin</i>	
1 引言	222
2 多位点探针和单位点探针	223
2.1 MLP/SLP 方法	225
2.1.1 DNA 的提取和纯化	225
2.1.2 定量	226
2.1.3 DNA 的限制性核酸内切酶消化	226
2.1.4 电泳分离	226
2.1.5 杂交	226
2.2 结果分析	227
3 PCR 技术	228
3.1 最初以 PCR 为基础的法医系统	228
4 短串联重复序列	229
4.1 方法	229
4.1.1 DNA 的提取	229
4.1.2 DNA 的定量	230
4.1.3 DNA 的扩增	231
4.1.4 产物分离	231
5 数据库	231
6 结果解释	233
7 线粒体 DNA	234
8 Y 染色体分析	235
9 展望	235
9.1 毛细管电泳	235
9.2 DNA 芯片技术	236

参考文献	237
第 12 章 免疫接种和基因操作	239
<i>Michael Mackett</i>	
1 引言	239
2 目前的免疫接种策略	240
2.1 灭活疫苗	241
2.2 减毒活疫苗	242
2.3 活疫苗与死疫苗的相对优缺点	242
3 遗传工程在疫苗的鉴定、分析和生产过程中的作用	243
3.1 具有疫苗潜力的抗原的鉴定和克隆	243
3.1.1 DNA/寡核苷酸杂交	244
3.1.2 杂交筛选和无细胞翻译	244
3.1.3 表达克隆	244
3.1.4 基因组测序	245
3.2 疫苗抗原的分析	246
3.2.1 B 细胞表位	246
3.2.2 T 细胞表位	247
3.3 亚单位疫苗的产生	248
4 改进和研究新的减毒活疫苗	250
4.1 对现有的减毒活疫苗进行改进	250
4.1.1 新的假狂犬病毒疫苗	250
4.1.2 改善霍乱弧菌的减毒作用	251
4.1.3 增强稳定性——脊髓灰质炎病毒 (Poliovirus)	252
4.2 重组活载体	252
4.2.1 重组牛痘病毒	252
4.2.2 重组卡介苗	253
4.2.3 减毒沙门菌作为活菌苗	254
4.2.4 脊髓灰质炎病毒的嵌合体	254
4.2.5 交叉接种、“活/死”疫苗	254
4.2.6 其他病毒载体	255
4.2.7 重组大肠杆菌	255
5 构建疫苗的其他方法	255
5.1 DNA 疫苗 (遗传免疫)	255
5.1.1 优化反应	256
5.1.2 RNA 免疫	257