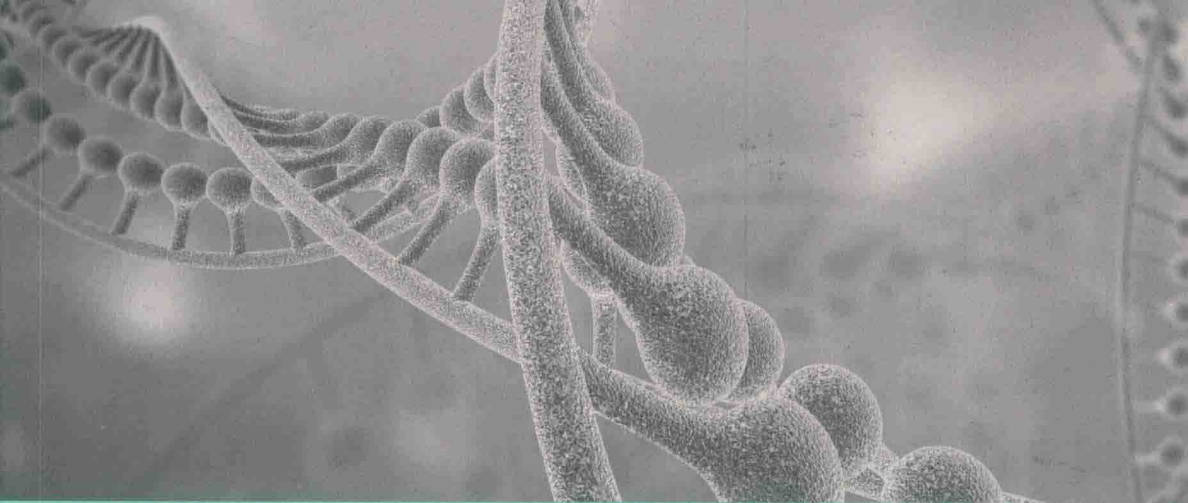




现代生物技术与 中医药学

XIANDAI SHENGWU JISHU YU
ZHONGYIYAOXUE

周 凯 编



浙江工商大学出版社
ZHEJIANG GONGSHANG UNIVERSITY PRESS

现代生物技术与中医药学

周 凯 编



浙江工商大学出版社 | 杭州
ZHEJIANG GONGSHANG UNIVERSITY PRESS

图书在版编目(CIP)数据

现代生物技术与中医药学 / 周凯编. —杭州: 浙江工商大学出版社, 2019. 1

ISBN 978-7-5178-3091-7

I. ①现… II. ①周… III. ①生物工程—应用—中国医药学 IV. ①R2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2018)第 294993 号

现代生物技术与中医药学

XIANDAI SHENGWU JISHU YU ZHONGYIYAOXUE

周 凯 编

责任编辑 吴岳婷

责任校对 牟杨茜

封面设计 林朦朦

责任印制 包建辉

出版发行 浙江工商大学出版社

(杭州市教工路 198 号 邮政编码 310012)

(E-mail: zjgsupress@163.com)

(网址: <http://www.zjgsupress.com>)

电话: 0571-88904980, 88831806(传真)

排 版 杭州朝曦图文设计有限公司

印 刷 杭州恒力通印务有限公司

开 本 710mm×1000mm 1/16

印 张 8.25

字 数 135 千

版 印 次 2019 年 1 月第 1 版 2019 年 1 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-5178-3091-7

定 价 32.00 元

版权所有 翻印必究 印装差错 负责调换

浙江工商大学出版社营销部邮购电话 0571-88904970

前 言

现代生物技术的发展日新月异,成为当今世界高科技尖端技术的代表领域,而中医药学作为我国的古老文化,面临着现代化发展的问题。现代先进技术与传统中医药领域研究工作的结合必将产生新的思维增长点,也将对中医药的现代化进程起到积极的推动作用。本教材将现代生物技术与中医药学联系起来,主要介绍现代生物技术的基本方法与中医药研究相结合的知识,以通俗易懂的语言阐述现代生物技术的基础理论和中医药学的发展历程,重点介绍现代生命科学与中医药学的联系,以及现代生物技术在中医药研究中的应用。

生物技术本身的发展十分迅速,不断积累了各种方法和手段,单就某一技术也有不同的改良和变化,同时生物技术已经逐步向中医药研究的各个领域渗透,不同的研究人员从不同角度开展了大量的研究工作,积累了宝贵的经验。本教材参考收集了近年来生物技术在中医药研究领域应用的大量成果,并进行了梳理,希望能够为读者呈现研究工作的总体面貌。

本教材主要面向高等中医药院校中生物科学、生物技术、生物工程、医学检验等专业学生,使学生在低年级阶段的基础课程学习中奠定一定的中医药学知识基础,为高年级阶段的专业课程学习打好基础,同时扩展知识面,启发创新思维,了解一些交叉学科的基础知识,为今后的进一步发展打下基础。

本教材为2013年度浙江省科协育才工程资助项目,在此对其支持表示感谢。

由于水平有限,内容难免有不尽如人意之处,希望专家学者和读者朋友提出宝贵意见,以便不断完善和提高。

目 录

第一章 现代生物技术概述	001
第一节 现代生物技术基本概念	001
第二节 现代生物技术主要内容	006
第三节 现代生物技术发展状况	010
第二章 中医学概述	015
第一节 中医理论体系的形成与发展	015
第二节 中医理论主要学说	019
第三节 中医药现代化	023
第三章 现代生命科学与中医学的联系	036
第一节 分子生物学与中医阴阳学说	036
第二节 生物形态学与中医藏象学说	045
第三节 生物全息论与中医诊断学	051
第四节 生物环境因素与中医病因学	055
第四章 现代生物技术在中医药研究中的应用	059
第一节 现代生物技术在中医药动物模型研究中的应用	059
第二节 现代生物技术在中医证候实质研究中的应用	065
第三节 现代生物技术在中药学研究中的应用	073
第四节 现代生物技术在经络实质研究中的应用	092
第五章 中医药研究常用现代生物技术实验方法	098
第一节 基因组 DNA 提取	098
第二节 DNA 印迹杂交	099

第三节	聚合酶链式反应	101
第四节	RNA 印迹杂交	103
第五节	反转录聚合酶链式反应	105
第六节	基因芯片	106
第七节	蛋白质印迹杂交	108
第八节	酶联免疫吸附实验	109
第九节	免疫组织化学	111
第十节	蛋白质双向电泳	114
参考文献		116

第一章 现代生物技术概述

第一节 现代生物技术基本概念

一、生物技术的概念

“生物技术”这个词最初是由匈牙利工程师卡尔·厄瑞凯(Karl Ereky)于1917年提出的。当时,他提出的生物技术这一名词的含义是:“用甜菜作为饲料进行大规模养猪,即利用生物将原材料转变为产品。”国际上沿用1982年提出的概念,生物技术是指“应用生物科学及工程学原理,依靠生物体系作反应器,将物料进行加工改造,获得人类所需产品的技术”。

现代生物技术的定义为以现代生命科学为基础,把生物体系与工程技术有机结合在一起,按照预先的设计,定向地在不同水平上改造生物遗传性状或加工生物原料,产生对人类有用的新产品(或达到某种目的)的综合性科学技术。

现代生物技术的概念包含了以下几个要点:

(1)其研究的对象是具有遗传特性的生命物质。包括病毒、细菌、植物、动物,以及人类。

(2)其研究对象包含各个不同水平的生物体系。包括大分子(DNA、RNA、蛋白质、酶)、亚细胞、细胞、组织、器官,以及整个机体。

(3)其研究过程需要应用工程学原理。经由人类思维设计研究方案,对生物体系进行定向修饰和加工制作,并经过体外环节产生新产品。

(4)研究过程有确定的目的产品。目的产品有“三新”特征,即新遗传功能、新遗传性状、新物种,并具有合乎人类需求的工业、农业、医疗和食品产品。

(5)研究过程中高新技术起到重要作用。众多跨学科领域的高新技术

都能在生物技术应用方面找到用武之地。

根据具体研究对象的不同,生物技术又可分为植物生物技术、动物生物技术、微生物生物技术、医学生物技术、药学生物技术、农业生物技术、海洋生物技术等。

二、生物技术发展的三个阶段

生物技术的发展大致可以分为三个阶段:传统生物技术、近代生物技术、现代生物技术。

1. 传统生物技术

距今 8000 多年前的石器时代后期,中国先民开始制曲酿酒,这是世界公认最早的发酵技术。6000 年前,古巴比伦人开始进行啤酒发酵。4000 年前埃及人开始制作面包。2500 年前,春秋战国时代,中国人开始制造酱油和醋。公元 10 世纪,宋朝时期,中国人发明预防天花疾病的活疫苗。

1676 年,荷兰人列文·虎克(Antonyvan Leeuwenhoek)(见图 1-1)发明显微镜,并首次观察到了微生物。1885 年,法国微生物学家、化学家巴斯德(Pasteur)(见图 1-2)首先证实了发酵由微生物引起,并由此建立了微生物纯种培养技术。1897 年,德国人布切尼(Bucher)利用酵母菌压榨汁中的酒化酶对葡萄糖进行酒精发酵,并成功开创微生物生化研究的新时代。传统生物技术主要包括酿造、酶的使用、抗生素、发酵、味精和氨基酸工业技术等,并被广泛应用于生产多种食品,如面包、奶酪、啤酒、葡萄酒、酱油、米酒和发酵乳制品等。

2. 近代生物技术

1929 年,英国人亚历山大·弗莱明(Alexander Fleming)发现青霉素,并在“二战”期间得到广泛应用,工业上开始采用大规模发酵产生抗生素酶制剂和其他化工原料,这是近代生物技术建立和全盛时期。20 世纪 60 年代,随着遗传学的建立和应用产生了遗传育种学,细胞学的广泛应用产生了细胞工程,同时发酵工程的发展取得了辉煌成就,此期间被誉为“第一次绿色革命”。

传统和近代生物技术的特点和局限性如下:(1)主要通过微生物初级发酵获得产品,仅仅局限在微生物发酵和化学工程领域;(2)没有改变微生物的遗传物质,也没有出现新的微生物遗传性状;(3)生产过程简单,上游主要



图 1-1 荷兰显微镜学家、微生物学开拓者列文·虎克



图 1-2 法国微生物学家、化学家巴斯德

是培养大量的微生物、对材料进行加工,即进行发酵和转化,通过诱变选育良种,下游主要对产品进行纯化;(4)生产周期长,费用高,产量低,效率差。

3. 现代生物技术

1953年,沃森(Watson)和克里克(Crick)(见图 1-3)发现 DNA 双螺旋结构基础。1973年,美国加利福尼亚大学旧金山分校的赫伯特·波伊尔(Herbert Boyer)教授和斯坦福大学的斯坦利·科恩(Stanley Cohen)教授

共同完成了一项著名的实验——DNA 重组实验,这是人类历史上第一次有目的的基因重组尝试,并获得成功。虽然这两位科学家在这次实验中并没有涉及任何有用的基因,但是他们还是敏感地意识到了这一实验的重大意义,并据此提出了“基因克隆”的策略。



图 1-3 美国生物学家沃森(左)和英国生物学家克里克(右)

DNA 重组技术对生物技术产生了深远影响。(1)DNA 重组技术使得生物技术过程中生物转化环节的优化过程变得更为有效,它所提供的方法不仅可以分离到那些高产量的微生物菌株,还可以人工制造高产量的菌株,原核生物细胞和真核细胞都可以作为生物工厂来生产胰岛素、干扰素、生长激素、病毒抗原等大量外源蛋白;DNA 重组技术还可以简化许多有用化合物和大分子的生产过程。(2)植物和动物也可以作为天然的生物反应器,用来生产新的或改造过的基因产物。(3)DNA 重组技术大大简化了新药的开发和检测系统。(4)DNA 重组技术在很大程度上得益于分子生物学、细菌遗传学和核酸酶学等领域的发展,反过来 DNA 重组技术的逐步成熟和发展对生命科学其他领域都产生了革命性的影响,这些领域包括生物行为学、发育生物学、分子进化学、细胞生物学和遗传学等,从而使生命科学日新月异,成为 20 世纪以来发展最快的学科之一。(5)受 DNA 重组技术影响最为深刻的生物技术领域,迅速完成了从传统生物技术向现代生物技术的飞跃转变,从原来的一项鲜为人知的传统产业一跃而成为代表 21 世纪发展方向、具有远大发展前景的新兴学科和产业。同时,使发酵、食品、轻工业等传

统工业发生了深刻的革命,为解决人类的人口膨胀、食物短缺、能量匮乏、疾病防治和环境污染等问题带来了新的希望。

目前,传统生物技术已被现代生物技术所取代,“生物技术”一词目前实质上已成为现代生物技术的简称。现代生物技术作为一个新兴的技术产业,对世界经济发展、社会进步、人类生活质量改善、生态环境保护等方面发挥了越来越重要的作用。加强对现代生物技术及其特点和规律的认识将有助于人类进一步进行开发,推进现代生物技术产业的发展。现代生物技术的基本特点可归纳为以下五个方面。

第一,技术要求高。现代生物技术所应用的技术大部分属于该领域的尖端性技术,其生产工艺、生产管理等也都具有很高的知识含量,对技术的要求苛刻,同时现代生物技术对人才的需求量比较大,特别是高素质、高技能的人才。当前世界各国都在生物技术领域寻求新的发展动力,竞相在生物工程技术、基因操作技术、生物信息技术和现代农业技术等关键技术领域加强攻关,注重对核心技术人员培养,目的就是要抢占该产业发展的制高点。

第二,经费投入高。同传统技术产业相比,现代生物技术产业除了是一个知识密集型的产业外,对资金的要求也较高,特别是在研究开发初期阶段。以医药行业的药品开发为例,据了解,在开发投入经费上,目前国内外开发一种新药耗费的资金在3—5亿美元。

第三,投资风险高。现代生物技术产业在其发展的过程中所面临的风险主要来自两个方面:一是可把握性因素,主要是经营管理方面的风险,包括资金短缺、管理不力、人才流失严重等,可以利用有效的制度来降低这些风险;二是不可把握性因素,主要包括技术更新速度快、市场接受能力和接受时间的不可预测性等因素。而且,在生物技术产业化初期,投资者们可能需要应对低收益甚至无收益的尴尬局面。例如世界著名生物制药企业辉瑞,其投资10亿美元研发Exubera(第一种吸入性胰岛素)并向市场推广,并且其CEO亨利·马金龙(Henry McKinnell)认为Exubera将是医药界的一大突破,预计该药销售额将超过15亿美元。但是Exubera上市后第一季度的销售额仅为400万美元,这一数字还不如马金龙退休后的年薪。可见现代生物技术产业的发展需要有足够的心理准备来承担高风险。

第四,投资收益高。与高技术要求、高投入、高风险并存的还有高投资收益,这也是让无数企业尽管面临诸多不确定因素,仍然争相进入现代生物

技术产业领域的根本原因。从产业发展的角度来看,由于运用生物技术生产出来的产品性能、生产工艺和生产手段先进,竞争对手相对较少。因此,现代生物技术产业投资回报率也远高于传统产业。据统计,从整个层面来看,生物技术对世界经济的发展贡献率已经超过 18%,市场前景巨大,潜力有待进一步激发。

第五,投资回报周期长。现代生物技术产业化的特点是,它除了生产阶段外,还包括研发阶段和应用阶段。当前,利用生物技术开发新型治疗药物是生物产业最活跃和发展最迅猛的领域。由于药品是一种特殊的商品,其产业化一般要经历几个过程:理论的研究和技术开发、中试生产、产品及规模化生产、临床试验、审批过程。据了解,目前国内外开发一种新药平均需要 10—15 年。在现代社会快节奏、高质量的发展形势下,对回报周期的考量也是让诸多企业对进入该产业权衡再三的一个重要因素。

第二节 现代生物技术主要内容

一、基因工程

基因工程(Genetic Engineering)又称基因拼接技术和 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,将不同来源的基因按预先设计的蓝图,在体外构建杂种 DNA 分子,然后导入活细胞,以改变生物原有的遗传特性,获得新品种,生产新产品的生物工程技术。开展基因工程研究所需的具体支撑技术有核酸凝胶电泳技术、核酸分子杂交技术、细菌转化转染技术、DNA 序列分析技术、寡核苷酸合成技术、基因定点突变技术、聚合酶链反应技术等。

二、细胞工程

细胞工程(Cell Engineering)是指应用现代细胞生物学、发育生物学、遗传学和分子生物学的理论与方法,按照人们的需要和设计,在细胞水平上进行遗传操作,重组细胞结构和内含物,以改变生物的结构和功能,即通过细胞融合、核质移植、染色体或基因移植以及组织和细胞培养等方法,快速繁殖和培养出人们所需要的新物种的生物工程技术。如世界上第一只克隆羊

“多利”(见图 1-4)。

细胞工程的研究内容包括动植物细胞与组织培养、细胞融合、细胞核移植、染色体工程、转基因生物与生物反应器等。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,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。



图 1-4 世界上第一只体细胞克隆动物——克隆羊“多利”

三、蛋白质工程

蛋白质工程(Protein Engineering)是以蛋白质分子的结构规律及其生物功能作为基础,通过化学、物理和分子生物学的手段进行基因修饰或基因合成,对现有蛋白质进行改造,或制造一种新的蛋白质,以满足人类对生产和生活的需求的新技术。

蛋白质工程是在基因重组技术、生物化学、分子生物学、分子遗传学等学科的基础之上,融合蛋白质晶体学、蛋白质动力学、蛋白质化学和计算机辅助设计等多学科发展起来的新兴研究领域。其内容主要有两个方面:根据需要合成具有特定氨基酸序列和空间结构的蛋白质;确定蛋白质化学组成、空间结构与生物功能之间的关系。在此基础上,蛋白质工程实现了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的目标,这也是蛋白质工程最根本的目标。

四、酶工程

酶工程(Enzyme Engineering)是将酶或者微生物细胞、动植物细胞、细胞器等放置在一定的生物反应装置中,利用酶所具有的生物催化功能,借助工程手段将相应的原料转化成有用物质并应用于社会生活的一门科学技术。酶工程包括酶制剂的制备、酶的固定化、酶的修饰与改造、酶反应器等方面内容。酶工程的应用主要集中于食品工业、轻工业和医药工业。

五、发酵工程

发酵工程(Fermentation Engineering)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、发酵过程和产物分离提纯等方面。

发酵工程是用来解决按发酵工艺进行工业化生产的工程学问题的学科。发酵工程从工程学的角度把实现发酵工艺的发酵工业过程分为菌种、发酵和提炼三个阶段,这三个阶段都有各自的工程学问题,一般分别把它们称为发酵工程的上游、中游和下游工程。其中上游工程包括优良种株的选育、最适发酵条件的确定、营养物的准备等。中游工程主要指在最适发酵条件下,在发酵罐中大量培养细胞和生产代谢产物的工艺技术,这里要有严格的无菌环境,包括发酵开始前采用高温高压对发酵原料、发酵罐和各种连接管道进行灭菌的技术,在发酵过程中不断向发酵罐中注入干燥无菌空气的空气过滤技术,在发酵过程中根据细胞生长要求控制加料速度的计算机控制技术,还有种子培养和生产培养的不同工艺技术。下游工程是指从发酵液中分离和纯化产品的技术,包括固液分离技术、细胞破壁技术、蛋白质纯化技术、产品包装处理技术等。

六、抗体工程

抗体工程(Antibody Engineering)是指利用重组 DNA 和蛋白质工程技术,对抗体基因进行加工改造和重新装配,经转染适当的受体细胞后表达抗体分子,或用细胞融合、化学修饰等方法改造抗体分子的工程。这些经抗体工程手段改造的抗体分子按人类设计重新组装的新型抗体分子,可保留(或增加)天然抗体的特异性和主要生物学活性,去除(或减少,或替代)无关结

构,因此比天然抗体更具有潜在的应用前景。

七、组织工程

组织工程(Tissue Engineering)是指运用工程学和生命科学的原理和方法,在了解正常和病理学组织结构与功能关系的基础上,研制生物学组织器官替代品,并通过移植达到重建、恢复、维持和改进组织功能的技术。

组织工程学是20世纪80年代提出的一个崭新概念,融合了工程学和生命科学的基本原理、基本技术和基本方法,在体外构建一个有生物活性的种植体,植入体内修复组织缺损,替代器官功能;或作为一种体外装置,暂时替代器官功能,达到提高生存质量,延长生命活动的目的。其科学意义不仅在于为解除病人痛苦提供了一种新的治疗方法,更主要的是提出了复制“组织”“器官”的新思想,开创了“再生医学”的新时代,是一场深远的医学革命。

八、干细胞工程

干细胞工程(Stem Cell Engineering)是利用干细胞在一定条件下进行分化,形成任何类型的组织和器官,实现组织器官等的无排斥移植。其研究内容包括干细胞及其相关产品的研发,产品中试工艺流程设计,临床前动物实验,临床试验和新的临床移植技术研究等工作。

九、胚胎工程

胚胎工程(Embryo Engineering)是指把新的遗传信息(DNA序列)用特定技术导入胚胎早期受精卵,经发育后,将外源遗传信息分布到所有体细胞生殖细胞中去,这种使动物带有新遗传信息的基因转移技术称为胚胎工程,所得动物称为基因动物。

十、生物医学工程

生物医学工程(Biomedical Engineering)是指从工程学角度研究人体结构、功能及生命现象,为防治疾病提供新技术、新方法、新仪器和新材料的科学。其研究内容包括生物材料、康复工程、医学成像、生物传感、监护系统等。

生物医学工程学是在电子学、微电子学、计算机技术、化学、高分子化学、力学、物理学、光学、射线技术、精密机械等高新技术发展的基础上,在与

医学结合的条件下发展起来的。它的发展与世界高新技术的发展密切相关,它同时采用了几乎所有的高新技术成果。

十一、生物制药工程

生物制药工程(Biochemical Pharmaceutical Engineering)是指利用现代生物技术,以生物反应器(微生物、动物细胞、植物及动物个体)大规模制备高纯度药物的技术。

生物制药工程利用生物活体来生产药物,如利用转基因玉米生产人源抗体、转基因牛乳腺表达人 α -1抗胰蛋白酶等。生物制药行业前景广阔,全世界的医药品有一半是生物合成的,广泛用于治疗癌症、艾滋病、冠心病、贫血、发育不良、糖尿病等多种疾病。医药领域已广泛应用的抗生素绝大多数来自微生物,例如注射用的青霉素、链霉素、庆大霉素等。

十二、生物化学工程

生物化学工程(Biochemistry Engineering)是生物化学反应的工程应用,是指为活细胞和酶提供适宜的反应环境,进行大规模自动化生产、分离、精制出所需产品的技术。其内容包括生物反应器的设计、传感器的制造、电泳、离心、层析、免疫层析等。

第三节 现代生物技术的发展状况

一、现代生物技术的应用

现代生物技术在医药、农业、食品、环保、化工和能源等领域都得到了广泛应用,其中尤以医药行业应用发展得最快、最好。生物技术引入医药产业,使得生物医药业成为极活跃、发展极快的产业之一。目前人类60%以上的生物技术成果集中应用于医药工业,用以开发特色新药或对传统医药进行改良。前不久发布的《2015年全球制药和医疗前瞻性报告》指出,2015年全球制药市场规模将超过10000亿美元,增幅将达到4.5%—5.5%,且新兴药品市场将继续保持两位数的增幅。此外,现代生物技术应用在农业技术,如转基因动植物、生物农药等;在食品领域主要应用于酿造、发酵工业

等;在环保上的应用主要集中在废物处理方面;在化工和能源等领域应用相对较少,但前景却十分广阔。

二、世界各国生物技术的发展

进入 21 世纪,随着能源、资源、环境问题的日趋严峻,现代生物技术已经成为世界各国的战略性研究方向,在全球范围被广泛接收和迅速发展。美国是现代生物技术产业的发祥地,美国的 Genetech 公司是全球第一家生物技术公司。美国对现代生物技术早已进行了布局和产业准备,美国政府通过国会立法、科技投资、财政立项等手段给予生物技术及产业重点推动,美国白宫和国会均设立了专门的生物技术委员会。1993 年美国生物技术行业组织成立,它代表着美国境内的生物技术公司、学术机构、国家生物技术中心和相关机构的利益,推动了美国生物技术产业的发展。2002 年美国又提出了《发展和推进生物质基产品和生物能源》报告和《生物质技术路线图》,成立了生物质项目办公室和生物质技术咨询委员会,其中生物炼制的研发投入为 3.39 亿美元。

欧洲也不甘落后,积极开发现代生物技术,德国、瑞典、丹麦、挪威等国都将现代生物技术产业发展提上了政府日程。德国对生物技术历来都比较重视,20 世纪 60 年代末,德国政府就开始动用财政支持生物技术的研发。2002 年 6 月,欧盟第六个框架计划(FP6,2002—2006)将 45%的研究开发经费用于生物技术及其相关领域,欧盟还着手实施“欧洲可持续能源战略”,大幅度提高生物乙醇的产量,并大力建设生物质资源处理工厂和沼气工厂。日本于 1991 年 1 月制定了《开创生物技术产业基本方针》,提出“生物技术产业立国战略”,为此日本政府成立了以首相为首的生物技术战略委员会,并于 2002 年颁布了《生物技术战略大纲》。此外,印度也出台了《绿色能源工程计划》,加速发展生物技术。

随着现代生物技术与其他产业之间的融合不断深入,在一定程度上生物经济在整个经济形态中占据的比重越来越大,对整体经济的贡献越来越大,生物经济时代的到来不可阻挡。生物经济(Bioeconomy)是以生命科学与生物技术研究开发与应用为基础、建立在生物技术产品和产业之上的经济,是一个与农业经济、工业经济、信息经济相对应的新的经济形态。基于对生物技术产业发展前景的肯定和发展趋势的认同,当前世界各国政府都将规划生物技术产业发展、促进生物技术研发等工作提上日程。生物经济