

现代生物技术对环境法的挑战

生物安全法律问题研究

王小军 著



陕西人民出版社

本书由宁波大学学术著作出版基金资助出版

现代生物技术对环境法的挑战

——生物安全法律问题研究

王小军 著

陕西人民出版社

前 言

我们生活在一个科学昌明的时代,科学技术以前所未有的速度高歌猛进。技术进步在成为人类经济持续增长的主要动力的同时,也使我们享受到它所带来的日益增多的惠益。幸运的是,这种陶醉并没有蒙住我们的双眼,现时代的人们在对科学技术这柄“双刃剑”的功德大唱颂歌的时候,对其潜在的风险也给予了足够的重视。生物安全(biosafety)这一问题的提出正是基于人类对现代生物技术的生态和健康风险所具有的前所未有^①的清醒认识。

自20世纪70年代以来,以重组DNA技术为核心的现代生物技术^②蓬勃发展,生物技术产品销售额迅速增长,特别是在农牧业、食品等方面,已经出现了巨大的经济效益和社会效益。但是现代生物技术带给人类的并不仅仅是福音。在它妩媚的笑脸背后,蕴涵着相当大甚至是致命的危险。尤其是其对生态环境和人类健康的潜在危害,引起了有识之士的广泛忧虑,由此提出了生物安全的概念。通常意义上的生物安全是指“由现代生物技术开发和应用所能造成的对生态环境和人体健康产生的潜在威胁,及对其所采取的一系列有效预防和控制措施”^③。伴随着转基因农作物^④全球种植面积的连年扩大^⑤以及现代生物技术的高速发展,生物安全问题引起了世界各国的极度关注,2001年生物安全问题被中国中央电视台评为“年度世界十大新闻”之一。为了达到趋利避害的目的,许多国家和国际组织在积极发展生物技术的同时,也在积极进行生物安全管理方面的研究,制定、发布和实施了生物安全管理法规,并建立了相应的管理机制。我国的生物安全立法工作起步较晚,生物安全管理法规还很不完

① 作者注:之所以这么说,是因为人类在其经济发展史上,对环境问题经历过一个“先污染,后治理”的阶段。在人类为这种思想付出重大的代价后,环境法的基本原则之一“预防原则”才浮出水面,并逐渐深入人心。

② 此处现代生物技术的含义采用《生物安全议定书》第3条中对该词的定义,即仅指基因工程技术。

③ 《生物安全》,见: <http://biosafety.in.ac.cn>,2003-12-10日访问。

④ 转基因农作物是现代生物技术的重要结晶之一,又译为转基因生物(GMO)、基因复制生物(genetically manipulated organisms)等。

⑤ 据统计,转基因农作物的全球种植面积在1996年为170万公顷,到2000年这一数字则是4420万公顷。五年间全球转基因农作物的种植面积增长了25倍之多。

善,生物安全管理体系还正在建设之中。然而更加令人担忧的是,到目前为止,我们环境法学界对生物安全这个问题的研究和探讨还很不够,有关的成果屈指可数。所以,以法学理论为基础对生物安全这个问题进行研究,为以后的相关立法工作提供尽可能坚实的理论基础和智力支持,成为我们环境法学界的当务之急。

笔者认为,目前在环境法学领域探讨生物安全法律问题具有重要的理论意义和现实意义。

首先,实践上有利于促进我国的环境保护事业的健康发展。生物安全问题是我国环境保护事业的新领域。近十年来,我国的转基因生物技术的研究和转基因生物的商品化有了长足的发展,一些国外的生物技术研究 and 开发公司纷纷以独资或合资形式在我国开展转基因研究和实验。据统计,目前我国转基因农作物田间实验和商品化的面积居世界第四位(第一美国,第二加拿大,第三阿根廷)。另外我国每年从国外进口的农产品中,已包括大豆等品种转基因活生物体^①。如不采取生物安全法律法规的形式对现代生物技术活动及转基因生物的商品化加以监督管理,仅转基因活生物体的环境释放(田间实验和商品化生产),即可能对我国生物多样性、生态环境和人体健康构成巨大的潜在风险和威胁。法律是人类以规范方式规避风险的重要工具。法学领域开展生物安全相关问题研究,可以为我国制定、健全生物安全管理体系法律法规提供理论支持,保证生物安全管理体系法律法规的科学性和合理性,从而促进我国环境保护事业的健康发展。

其次,在理论上有利于完善我国的环境法律体系,推动环境法学的发展。环境法体系的建立和完善是影响环境法学发展的一个重要因素。目前,生物安全管理已成为我国环境保护工作的新领域,国家也于近两年制定了一系列规范现代生物技术研究开发及其商业化活动的行政法规和部门规章,并初步建立了相应的管理机构。可以预见,随着我国生物安全管理的进一步加强,更多的法律法规会相继出台,相关法律法规互相衔接、补充并最终形成内部协调一致的生物安全管理体系已不可避免。与之形成鲜明对比的是,到目前为止,我国已有的环境法学论著在论及国内环境法时,对我国生物安全管理体系法律还未有述及。这不能不说是一个遗憾。因此,在目前国际上关于生物安全的讨论日趋激烈、国家对生物安全管理逐渐重视、相关法律法规相继出台的大环境下研究生物安全管理体系法律问题,有利于在理论上完善我国环境法律体系,并保持环境法学与时俱进的品质。

^① 马述忠、黄祖辉著:《我国转基因农产品国际贸易标签管理现状、规则及其对策建议》[J],《外贸经济·国际贸易》(人大复印资料),2002年第4期,第33—39页。

由于生物安全是环境法学界的一个新课题,现有的研究成果并不多见。在本著作中,作者从生物安全这一基本概念入手,就生物安全立法的指导原则、国外生物安全立法实践、生物安全的国际行动、生物安全与 WTO 的关系、现行生物安全管理法律法规内容和特点、生物安全管理法规体系以及生物安全管理基本制度等几方面,对我国生物安全管理的相关法律问题进行了深入探讨。本书共分为以下九部分:

第一章“生物技术概述”。着重回顾生物技术的产生和发展,并界定本书中“生物技术”的含义及范围。

第二章“现代生物技术的风险与生物安全”。阐述现代生物技术产品尤其是转基因活生物体(Genetically Modified Organisms, GMOs 或 LMOs)商品化现状、现代生物技术的生态风险及其对人类健康的威胁、生物安全法出现的必然性,并在综合学术界各种见解的基础上厘清生物安全的内涵和外延。

第三章“生物安全法的法理分析——从‘预防原则’到‘谨慎原则’”。本部分欲结合国际环境法与国内环境法的互动式发展,阐述生物安全管理的理论基础。

第四章“外国生物安全管理现状”。这一部分介绍国际上生物安全管理的发展和几个主要国家或国际组织(欧盟)在生物安全管理方面的法制现状。

第五章“生物安全保护国际行动”。这一部分介绍国际层面对于生物安全的认识历程以及所采取的相应性措施。

第六章“生物安全议定书与 WTO”。生物安全法的制定与实施对农产品的国际贸易格局有着深刻的影响,本部分作者着力分析两者的关系,探讨生物安全管理与多边贸易规则之间的冲突。

第七章“生物安全与品种资源保护”。作者联系我国实际,介绍了生物多样性保护大背景下的生物安全管理挑战,提出应对措施,并对品种资源保护的法律问题进行了较为深入的探讨。

第八章“我国生物安全法的现状与评析”。这一部分从实证的角度对我国现行生物安全管理法律法规进行了评析。

第九章“完善我国生物安全法的思考”。这一部分作者在上文论述的基础上首先讨论了我国生物安全立法的指导原则;其次,着眼于我国生物安全管理的体系化,笔者对我国生物安全管理法规体系的构建提出了初步设想;再次,笔者讨论了环境影响评价(EIA)制度、生物安全管理标识制度;最后,作者分析了我国转基因生物侵权民事责任的法律适用问题。

本著作沿袭传统的法学研究范式,主要采用历史考察、实证分析、价值分析、经济分析以及法律推理的方法,试图得出尽可能科学的结论。另外,在写作过程中,笔者

采用了翔实的数据来证明自己的观点,并且文中穿插介绍的背景资料增加了文章的可读性,这也可以被视为本书的特色。

本书的创新之处表现在以下五个方面:第一,笔者对“生物安全”这个概念进行了比较科学的界定,并深入探讨了其与“环境安全”、“国家安全”、“生态安全”等相近术语的区别与联系;第二,笔者在对人类环境思想发展考察的基础上,探求了生物安全管理法的理论根源,并进而指出,生物安全管理立法体现了人类在对付环境问题上所能达到的最高理性;第三,笔者在对生物安全法形成的社会背景分析的基础上,探讨了我国生物安全立法的指导原则,希望能对以后的立法工作和生物安全法的体系化有所裨益;第四,笔者就环境法的基本法律制度——环境影响评价制度如何应用于生物安全评价进行了较为深入的思考;第五,笔者就转基因生物侵权民事责任的法律适用问题做了深入探讨,并提出了创新性见解。

王小军

2006年9月20日

摘 要

生物安全法是环境法学研究的一个全新领域。

自 20 世纪 70 年代以来,以重组 DNA 为核心的现代生物技术蓬勃发展。生物技术在农牧业、食品等方面得到广泛应用,其产品销售额迅速增长,已经出现了巨大的经济效益和社会效益。由于现代生物技术对生态环境和人体健康存在巨大风险,科学家提出了生物安全的概念。目前,学界对生物安全的理解众说纷纭,莫衷一是。笔者认为生物安全是指生物正常的生存和发展不受转基因活生物体 (Genetically Modified Organism, GMOs 或 LGOs) 的商品化及人类现代生物技术活动侵害和损害的状态。而生物安全法则是指国家为控制、避免现代生物技术的生态健康风险而制定或认可的,并由国家强制力保证实施的关于现代生物技术的研发与应用及其产品商品化的(环境)法律规范的总称。

生物安全立法是人类对处环境问题遵循“谨慎原则”的产物。国际上,从 80 年代中期开始广泛关注生物安全问题,发达国家的相关立法则更早。相比而言,我国起步较晚,鉴于我国国情、我们所面临的严峻的环境状况以及入世对我国农业的巨大挑战,政府近几年紧急出台了数部农业转基因生物安全法规,从而在我国初步建立了农业转基因生物安全法规体系,并确立了一系列的生物安全管理法律制度:如生物技术及其制品安全等级评定与分类管理制度、转基因生物体使用、处置、释放的申报登记制度和许可证制度、转基因生物体越境转移审批制度、转基因生物产品生产、销售许可证制度、转基因生物进出口知情同意 (AIA) 制度等。我国的生物安全法规体现了全过程控制的原则、适度控制原则,并且贸易保护倾向日益明显。

总体而言,我国的生物安全管理法律法规还很不健全,生物安全管理领域立法落后于我国现代生物技术的发展现状。随着我国生物技术和国家对生物安全管理的加强,更多的法规将相继出台,生物安全法律法规体系将更趋完善。

笔者认为我国的生物安全法规体系由下列各部分构成: ①综合性的国家层次生物安全管理法; ②有关部门制定的各自领域内的生物安全管理专项部门规章,包括配套的生物安全管理的程序性规定; ③生物安全技术标准; ④其他法律法规中与生物安全管理有关的规定。在这个法规体系中,目前最亟须制定和颁布的是一部综合性的高层次生物安全管理法——《生物安全法》。

环境影响评价制度是环境法的基本制度,我国应将转基因生物体的环境影响评价纳入现有的环境影响评价体系。鉴于转基因生物体环境影响评价有别于建设项目的环境影响评价,笔者建议法律对之应作出特殊规定:即生物安全领域的环境影响评价工作应由经过国家生物安全行政主管部门审批、取得《生物安全环境影响评价资格证书》的单位和专业人员承担;生物安全领域的环境影响报告书应由相关的生物安全行政主管部门进行审批;同时,生物安全领域的环境影响评价也应当制定相应的技术导则。

针对我国目前的生物安全管理标识制度,笔者认为对列入农业转基因生物目录的非转基因农产品也应当加贴否定性标签,以加强我国的生物安全管理。

随着我国对转基因生物安全领域监督管理的重视和加强,生物安全管理法必然要进一步走向体系化,其内部体系结构也会日趋科学、合理,有关的生物安全管理法律制度也会更加完善。

目 录

前 言	1
摘 要	1
第一章 生物技术概述	1
第一节 生物技术的产生和发展	1
第二节 生物技术的内容	3
第三节 现代生物技术的发展及趋势	7
第四节 现代生物技术对经济社会的影响	14
第二章 现代生物技术的风险与生物安全	18
第一节 生物技术的潜在风险	19
第二节 生物安全	25
第三章 生物安全法的法理分析	
——从“预防原则”到“谨慎原则”	33
第一节 预防原则	33
第二节 谨慎原则(风险预防原则)	37
第三节 生物安全法与“谨慎原则”	45
第四章 外国生物安全管理现状	50
第一节 美国的生物安全管理	50
第二节 欧盟的生物安全管理	55
第三节 日本的生物安全管理	64
第四节 澳大利亚的生物安全管理	74
第五节 其他国家的生物安全管理	81
第五章 生物安全保护国际行动	84
第一节 国际生物安全保护的发展	84
第二节 从《生物多样性公约》到《生物安全议定书》	88
第三节 《生物安全议定书》	90
第四节 中国的生物安全管理实践	101
第六章 生物安全议定书与 WTO	105
第一节 WTO 与环境保护	105

第二节	《生物安全议定书》对国际贸易的影响	112
第三节	WTO 与《生物安全议定书》的冲突	115
第四节	WTO 与 MEA 的关系	118
第七章	生物安全与品种资源保护	124
第一节	我国生物多样性现状与问题	124
第二节	中国未来的应对措施	127
第三节	品种资源保护	129
第八章	我国生物安全法的现状与评析	136
第一节	我国生物安全法的产生与发展	136
第二节	我国生物安全法的特点	138
第三节	我国生物安全法的缺陷和不足	141
第九章	完善我国生物安全法的思考	144
第一节	我国生物安全立法指导原则探讨	144
第二节	建构我国生物安全法规体系的思考	149
第三节	完善我国生物安全法律制度的思考	151
第四节	关于生物安全损害赔偿问题	157
结束语	173
附录 A	国内法部分	
附录 A1:	基因工程安全管理办法	176
附录 A2:	农业转基因生物安全管理条例	182
附录 A3:	进出境转基因产品检验检疫管理办法	190
附录 A4:	开展林木转基因工程活动审批管理办法	193
附录 A5:	农业生物基因工程安全管理实施办法	198
附录 A6:	农业转基因生物安全评价管理办法	207
附录 A7:	农业转基因生物标识管理办法	218
附录 A8:	农业转基因生物加工审批办法	221
附录 A9:	农业转基因生物进口安全管理办法	223
附录 A10:	烟草基因工程研究及其应用管理办法	227
附录 A11:	转基因食品卫生管理办法	230
附录 B	国际法部分	
附录 B1:	生物多样性公约	234
附录 B2:	《生物多样性公约》的卡塔赫纳生物安全议定书	253

参考文献 272
后 记 276



第一章 生物技术概述

近十年来,关于“生物技术”的新闻屡屡见之于报端,诸如“多莉羊”,“哈佛鼠”早在上世纪末就已经成为人们茶余饭后的谈资,与之相关的生物技术也引起了社会公众的广泛关注。生物技术是何物?何以能够改变自然天成的造化?人们在惊叹于科学技术发达的同时,上述疑问油然而生。

第一节 生物技术的产生和发展

生物技术(Biotechnology)也称生物工程,它是在分子生物学基础上建立的创建新的生物类型或新生物机能的实用技术,是现代生物科学和工程技术相结合的产物,指利用有机体的操作技术。生物技术可以分为传统生物技术和现代生物技术。

一、传统生物技术

传统生物技术主要指微生物的发酵,在史前即为人类所开发和利用。早在石器时代,我们的祖先就已经在利用酒精发酵技术了。公元前3世纪,我国人民就已经掌握了利用发酵过程来制作豆腐、酱和醋的技术,并一直沿用至今。在西方,传统生物技术的利用可以追溯到公元前6000年的苏美尔人和巴比伦人,他们那个时候就已经开始啤酒发酵了。

虽然人类一直在利用生物技术制造啤酒、豆腐、醋等,但直到显微镜发明后,人们才有机会在1676年第一次观察到微生物。随着科技的发展,到19世纪60年代,法国科学家 Pasteur 才首先证实发酵是由微生物引起的,并建立了微生物培养技术,从而将发酵技术纳入到了科学的轨道。20世纪,人类开始大规模利用微生物纯种培养技术生产丙酮、丁醇等化工原料。

此外,传统的育种技术也是一种生物技术。几千年来,人们一直追求作物品种的改良。但改良作物品种真正纳入科学的轨道则还是在以孟德尔定律和摩尔根研究为代表的经典遗传学理论确立以后,人们开始运用遗传学的基本理论和技术方法改良作物品种,才逐渐形成遗传育种学这门学科。

目前,传统生物技术仍广泛应用于医药、食品、化工、农产品等生产部门。

二、现代生物技术

由于传统生物技术主要是通过微生物的初级发酵来生产商品,通过传统方法提高产量的幅度是非常有限的,如果一个突变了菌株中某种成分合成太多,那么其他代谢物的合成就会受到影响,这反过来又会影响微生物在大规模发酵过程中的生长。传统的诱变和选择方法过程烦琐,耗时很长,费用极高,需要筛选和检测大量的克隆。因此,如何采用现代最新技术对传统技术进行改良一直是科学家努力的方向。

1953年,Watson和Crick发现了DNA双螺旋结构,奠定了现代分子生物学的基础,从而给整个生物学乃至整个人类社会带来了一场革命。1973年,美国加利福尼亚大学旧金山分校的Herbert Boyer教授和斯坦福大学的Stanley Cohen教授共同完成了一项著名的实验。他们选用可一个仅含有单一酶切位点的质粒载体,并用酶将其切为线性分子,然后将该线性分子与同样具有酶切位点粘性末端的另一质粒DNA片段和DNA连接酶混合,从而获得了具有两个复制起始位点的新的DNA组合。这是人类历史上第一次有目的地尝试进行基因重组取得成功,它标志着现代生物技术的产生。此后,在很短的时间内研究人员就开发出了大量行之有效的分离、鉴定、克隆基因的方法。DNA重组技术使得生物技术中生物转化这个环节的优化过程变得更为有效,而且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,原核生物细胞核真核细胞都可以作为生物工厂来大量生产胰岛素、干扰素、生长激素、病毒抗原等外源蛋白。DNA重组技术还可以简化许多化合物和大分子的生产过程。植物和动物也可以作为天然的生物反应器,用来生产基因产品。同时,以上述技术为核心,带动了现代发酵技术、现代酶工程、现代细胞工程以及蛋白质工程的发展,一场技术革命由此发生。

30多年来,现代生物技术不断取得重大进展,基因合成、扩增技术,基因修饰技术,基因克隆技术,基因芯片技术,基因治疗技术,以及新型表达载体等新技术新方法不断涌现;功能基因的分离、克隆和开发应用,基因药物,重组疫苗,生物反应器,转基因植物和动物技术等有了重大突破。特别是20世纪90年代以来,生物技术和生命科学基础研究不断取得重大进展,人类基因组序列“工作框架图谱”完成,被称为继原子弹、人类登月之后世界科技史上的第三个里程碑;模式生物拟南芥和水稻基因组图谱的公布,为植物改良、培育高产、优质、抗逆的农作物新品种奠定了基础;克隆羊“多莉”的诞生,标志着利用动物体细胞进行无性繁殖已经成为现实;干细胞、组织工程研究的重大进展,为再生医学开拓出日益广阔的前景;全球已有60多个微生物基因组



的序列图公布,威胁人类的主要疾病都可能找到新的治疗方法,人类的健康水平将跃上一个新的台阶。

生物技术作为 21 世纪高新技术的核心,对人类解决面临的食物、资源、健康、环境等重大问题将发挥巨大的作用。大力发展生物技术及其产业已成为世界各国经济发展的战略重点。近 10 多年是世界生物技术迅速发展时期,无论在基础研究方面还是在应用开发方面,都取得了令人瞩目的成就,生物技术的研究成果越来越广泛地应用于农业、医药、轻工食品、海洋开发及环境保护等多个领域。生物技术将是 21 世纪的主导技术之一,它对人类社会的生产、生活各方面必将产生全面而深刻的影响。

第二节 生物技术的内容

一般认为,生物技术主要包括以下几个主要方面:

一、基因工程(主要是基因或 DNA 重组技术)

生物的遗传和变异是生命的基本规律之一。遗传的基本单位是基因,各种生物的不同结构和新陈代谢特点,都是由基因决定和调控的,尽管生物之间性状差异巨大,但决定它们性状的基因都是由共同的物质构成的,因此人们可以将各种生物的基因进行剪切并重组以便使某个物种表现人类所期望的性状,这就是基因工程的基本原理——基因重组。

目前,基因工程是生物技术中影响最大、发展最迅速也是最具突破性的领域。采用基因重组技术,人们可以对不同生物的遗传物质进行体外“剪切”和“拼接”,使遗传物质重新组合,然后通过载体将其转入微生物或动植物细胞内(受体),并使新植入的基因在受体细胞中表达,从而产生人类所需要的产物或组成新的生物类型。在自然规律下,交叉繁殖只会在相同的物种之内发生,比如,将抗某种病毒的野生大豆与栽培大豆杂交,从而使后者具有抗病毒性。但是利用基因重组技术,人类可以轻松跨越物种的界限,植物不仅可以从亲缘关系很远的物种中获得基因,还可以从微生物甚至动物身上获得基因。比如,科学家发现土壤中的苏云金芽苞杆菌(Bt)能产生结晶蛋白毒素和孢子,这种毒素能杀死大田中的害虫,科学家于是把 Bt 基因分离出来,插入棉花、玉米等作物中,培育出了转基因抗虫棉花和抗虫玉米。

资料:基因工程的操作步骤

基因工程一般包括四个方面的基本内容:一是取得符合人们的要求的 DNA 片

段,这种 DNA 片段被称为“目的基因”;二是将目的基因与质粒或病毒 DNA 连接成重组 DNA(质粒和病毒 DNA 称作载体);三是把重组 DNA 引入某种细胞(称为受体细胞);四是把目的基因能表达的受体细胞挑选出来。DNA 分子很小,其直径只有 20 埃,约相当于五百万分之一厘米,在它们身上进行“手术”是非常困难的,因此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。

首先,要把所需基因——目的基因从供体 DNA 长链中准确地剪切下来。1968 年,沃纳·阿尔伯博士、丹尼尔·内森斯博士和汉密尔·史密斯博士第一次从大肠杆菌中提取出了限制性内切酶,能够在 DNA 上寻找特定的“切点”,认准后将 DNA 分子的双链交错地切断。人们把这种限制性内切酶称为“分子剪刀”。这种“分子剪刀”可以完整地切下个别基因。自 70 年代以来,人们已经分离提取了 400 多种“分子剪刀”,其中许多“分子剪刀”的特定识别切点已被弄清。有了形形色色的“分子剪刀”,人们就可以随心所欲地进行 DNA 分子长链的切割了。由于限制性内切酶的发现,阿尔伯、史密斯和内森斯共享 1978 年诺贝尔生理和医学奖。

DNA 的分子链切开后,还得缝接起来以完成基因的拼接。1976 年,科学家在五个实验室里几乎同时发现并提取出一种酶,这种酶可以将两个 DNA 片段连接起来,修复好 DNA 链的断裂口。1974 年以后,科学界正式肯定了这一发现,并把这种酶叫作 DNA 连接酶。从此,DNA 连接酶就成了名副其实的“缝合”基因的“分子针线”。只要在用同一种“分子剪刀”剪切的两种 DNA 碎片中加上“分子针线”,就会把两种 DNA 片段重新连接起来。

把“拼接”好的 DNA 分子运送到受体细胞中去,必须寻找一种分子小、能自由进出细胞,而且在装载了外来的 DNA 片段后仍能照样复制的运载体。基因的理想运载工具是病毒和噬菌体,病毒不仅在同种生物之间,甚至可以在人和兔之间培养细菌细胞转移。还有一种理想的载体是质粒。质粒能自由进出细菌细胞,当用“分子剪刀”把它切开,再给它安装上一段外来的 DNA 片段后,它依然如故地能自我复制。因此,它是一种理想的运载体。有了限制性内切酶、连接酶及运载体,进行基因工程就可以如愿以偿了。

把目的基因装在运载体上,运载体将目的基因运到受体细胞是基因工程的最后一步。一般情况下,转化成功率为百万分之一。为此,遗传工程师们创造了低温条件下用氯化钙处理受体细胞和增加重组 DNA 浓度的办法来提高转化率。采用氯化钙处理后,能增大体细胞的细胞壁透性,从而使杂种 DNA 分子更容易进入。目的基因的导入过程是肉眼看不到的。因此,要知道导入是否成功,事先应找到特定的标志。例如我们用一种经过改造的抗四环素质粒 PSC100 作载体,将一种基因移入自身无

抗性的大肠杆菌时,如果基因移入后大肠杆菌不能被四环素杀死,就说明转入获得成功了。

目的基因:所谓目的基因就是我们想要的基因片段,它在生物体内能表达产生所要蛋白产物。生物界的基因有上亿个,多数存在于染色体上,少数存在于细胞质中。取得目的基因的办法是用“分子剪刀”剪切供体 DNA 分子,把它切成一些比基因略长的片段,然后再从中找出包含所需目的基因的 DNA 片段。到目前为止,人们用这种方法已分离出 40 种大肠杆菌蛋白质基因、鸡的组蛋白基因等。另一种获得目的基因的方法是人工合成。随着技术的进步,已有用于自动测定 DNA 顺序的专门仪器和自动合成 DNA 仪器。还有一种基因合成方法是模板合成。基因工作指令的传递是按照“DNA—RNA—蛋白质”这一方向进行的,相反的信息传递即由 RNA—DNA 也存在。基因模板合成法就是先以信使 RNA 为模板,反向转录出一条 DNA 单链,再以互补的方式加倍成 DNA 双链。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。

载体:目的基因片段很难直接转入生物体细胞,而且由于它自身常无 DNA 复制所需信息,在细胞分裂时不能复制给子细胞,就会丢失,所以人们要把它连在一些能独立于细胞染色体之外复制的 DNA 片段上,这些 DNA 片段就叫载体。常用的载体有质粒和病毒。当然载体还有其他作用,如促进目的基因转化、表达等。人们对天然质粒及病毒进行了一系列改造,如加上耐药性基因片段等,提高基因的转化、筛选、表达效率。

限制性内切酶:在细菌内存在的一类能识别并水解外源 DNA 限制性内切酶,它具有极好的专一性,能识别 DNA 上的特定位点,将 DNA 的两条链都切断,形成粘性末端或平末端。DNA 经限制性内切酶切割后产生的具有碱基互补单链的末端称为粘性末端。限制性内切酶的生物学功能在于降解外面侵入的 DNA 而不降解自身细胞中的 DNA,因自身 DNA 的酶切位点经修饰酶的甲基化修饰而受到保护。限制性内切酶较为稳定,常用的约 100 多种,并已大多转化为商品。限制性内切酶在分析染色体结构、制作 DNA 的限制酶图谱、测定较长 DNA 序列以及基因的分离、基因的体外重组等研究中是不可缺少的重要工具酶。

转化:重组 DNA 进入受体的过程叫“转化”,得到重组 DNA 的细胞叫“转化细胞”。目的基因难以直接送进受体细胞。因为地球上的生物都是长期历史进化的产物,都有保卫自身不受异种生物侵害和稳定地延续自己种族的功能。如果外来的 DNA 闯进受体细胞,受体细胞就会把它“消灭”。当外来的 DNA 进入大肠杆菌时,大肠杆菌内部的内切酶就会使其“粉身碎骨”。因此,目的基因的直接导入往往不通。

在这种情况下,生物工程师们就要采用 DNA 重组技术。首先将目的基因与质粒经过内切酶的“裁剪”,然后靠连接酶的作用,将目的基因和质粒(或病毒 DNA)重新组合起来形成重组 DNA。重组 DNA 就能在质粒(或病毒 DNA)的“带领”下进入受体细胞。

二、细胞工程(包括细胞融合、细胞大规模培养及植物组织快速无性繁殖等技术)

细胞融合技术就是将两个不同种类的细胞通过化学、生物学或物理学等方法使其融合在一起,从而产生出具备两个亲本的新的遗传性状的细胞,它既是细胞遗传学、细胞免疫学、病毒学、肿瘤学等研究的一重要手段,也是制备单克隆细胞株的重要技术。这一技术虽然在 20 世纪 60 年代已经有成功的例子,但最为人关注的是 1975 年在英国取得成功的淋巴细胞杂交瘤技术,科学家将淋巴细胞与骨髓瘤细胞进行融合,从中筛选出杂交瘤细胞株,它们既保持了瘤细胞在体外迅速无限分裂的特性,又继承了免疫脾淋巴细胞分泌特异抗体的能力,可用于医学诊断或治疗。目前,细胞融合技术不仅可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从而创造出新的动植物和微生物品种。这种技术目前在农业领域应用比较多,如马铃薯——番茄、胡萝卜——羊角芹以及洋舌花——颠茄等细胞融合,已经产生出前所未有的属间体细胞杂种植物。

细胞大规模培养技术是以工业化为目的,从大量培养的动植物细胞中获得细胞的代谢产物(如药物或某种工业原料),以克服植物种植的气候、产地、季节等的限制。植物细胞的培养快速繁殖技术是利用技术手段,在不使用种子的情况下大量、快速培养优良种子的细胞工程技术。利用这种技术,人们可以把植物的器官组织如根、茎、叶、花等培养成长为一棵正常的植株。这项技术不仅可以用于加快良种的繁殖,还可以用于获得无病毒种苗。

三、酶工程技术

酶是一种生物催化剂,其本质是蛋白质,其催化效率是一般的化学催化剂的千百倍。生物细胞内的一切化学反应,包括氧化、还原、水解、合成等都是在酶的催化下进行的。由于其催化活性高,并且工作温度低(常温),如果能将酶工程应用于化学工业,会产生巨大的经济效益,那无异于一场革命。酶的固定化技术 20 世纪 60 年代首先在日本展开,科学家将酶与化学高分子化合物结合在一起,使之变为固相,这样在生产应用时酶就不会混杂在产品中而流失,从而可以长期反复使用使生产连续进行。