



北京师范大学国家基础教育
课程标准实验教材总编委会组编

经全国中小学教材审定委员会2004年初审通过

普通高中课程标准实验教科书

生物学

SHENG WU XUE

(选修1) 生物技术实践

主编 吴相钰 刘恩山



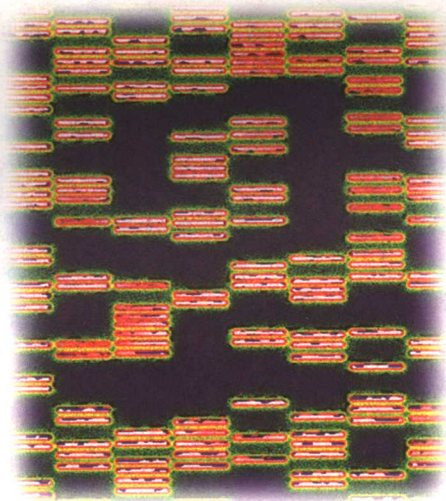
浙江科学技术出版社

普通高中课程标准实验教科书

生物学

(选修1) 生物技术实践

主编 吴相钰 刘恩山



浙江科学技术出版社

主 编 吴相钰 刘恩山

本册编者 吴光耀 吴相钰

普通高中课程标准实验教科书

生 物 学

(选修 1) 生物技术实践

出 版 浙江科学技术出版社
制 作 杭州万方电脑制作部
印 刷 杭州下城教育印刷厂
开 本 787×1092 1/16
印 张 4.75
字 数 74 000
版 次 2005 年 7 月第 1 版
印 次 2005 年 11 月第 2 次
书 号 ISBN 7-5341-2368-2
定 价 5.00 元

致 同 学 们

同学们:

现在,你们就要开始学习选修课《生物技术实践》了。从名称可以看出,这是一门实验课,是以自己动手做实验为主的课程。当然,你们必须在教师的指导下进行实验。然而教师的指导并不是手把手地教,你们不但要自己动手操作,而且要自己开动脑筋。本课程的教材中还有一些建议活动,更是要你们自己设计实验方案,然后动手去做。建议活动的内容是选做的,希望你们有机会进行这些活动。

生物技术是一门既古老又现代的技术,而且涉及的范围极广。说它古老,是因为酿酒的历史已有万年之久;说它现代,是因为生物技术的产品日新月异。至于酿造工业的产品,比如酱油、醋、酒等等,我们每个人的生活都离不开它们,几乎每天都要与这些东西接触;又如转基因食品,几乎每个人的生活中也避免不了。近年来生物技术迅猛发展,和你们的生活越来越密切。学习生物学,当然不能不学习如此重要的生物技术。通过亲手操作,不仅让我们学过的知识得以应用,而且使知识得到延伸,同时也能学习操作的技能。这是学习生物技术的有效途径之一。

希望大家在学习过程中,尽量发挥自己的主动性。在教师指定的实验和自己选做的实验即建议活动中,有所创新,有所收获。这里所说的创新,不一定是什么了不起的发现或发明,只要在实际操作中做了点滴改进,就是创新。无论多么伟大的科学成就,都是从点滴的平凡工作做起的。点点滴滴细小而平凡的工作,日积月累,就可能成为重大的发现或发明。千万不要小看那些小小的改进!

本教材开宗明义,在生物技术概述之前,先提出实验室工作守则,它是进行实验室工作必须遵守的。养成良好的实验室工作习惯,不仅是进行科学实验工作所必需的,而且有助于各项活动的顺利进行,包括日常生活。养成良好的习惯,将会让大家受用终生。

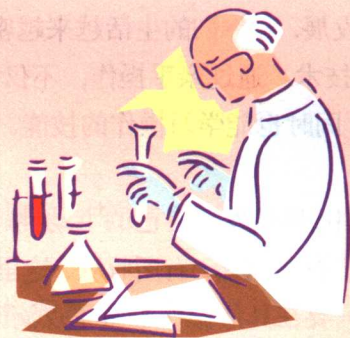
做完实验后,一定要进行总结。首先是做好书面总结,也就是写好实验报告。教师会指导你如何写好实验报告。如果有机会让你向小组、全班同学报告你的实验结果,这是非常难得的机会,不可大意。你还得准备好向大家汇报。怎

样将你的思路、想法和结果清晰而准确地告诉大家，这里也有许多技巧。

我们强调每个人独立操作，是为了锻炼独立工作能力。但是，有的实验不可能一个人完成，必须与他人合作，这就要求你具有与人合作的精神和能力。即使不需要与他人合作，共同讨论也是不可缺少的。讨论中既能虚心听取别人意见，也能坦率地提出自己的意见，这也是合作精神的体现。合作精神的养成，也是实验课的重要收获。

希望大家学习这门课程时兴趣盎然、乐在其中。通过学习，不仅掌握了实验技能，还会增加学习生物学的兴趣。

祝大家成功!



目 录

实验室守则	1
生物技术概述	3
第一部分 微生物的利用	18
实验 1 大肠杆菌的培养和分离	19
实验 2 分离以尿素为氮源的微生物	25
实验 3 观察土壤中能水解纤维素的微生物	29
第二部分 酶的应用	32
实验 4 果汁中的果胶和果胶酶	33
实验 5 加酶洗衣粉的使用条件和效果	36
实验 6 α -淀粉酶的固定化及淀粉水解作用的检测	38
第三部分 生物技术在食品加工中的应用	41
实验 7 用蒸气蒸馏法从芳香植物中提取精油	42
实验 8 果酒及果醋的制作	45
实验 9 腐乳的制作	51
实验 10 泡菜的腌制和亚硝酸的测定	53
第四部分 浅尝现代生物技术	58
实验 11 植物的组织培养	59
实验 12 乳酸脱氢酶同工酶的分离	62
实验 13 DNA 片段的 PCR 扩增	66



实验室守则

这里说的实验室,仅指本门课程的实验室。虽然这些守则完全适用于其他实验室,但作为生物学实验室通用的守则,就不够全面了。

在进行实验之前,首先要学习实验室的规则,并且在实验时要切实遵守。



1. 在实验室内只进行教师允许的工作。
2. 上课前预习好实验指导,并提出具体的实验计划。有疑问时一定要向教师请教。要充分了解与该实验有关的安全问题。进行“建议活动”前,必须提出具体计划,教师同意后才能实施。
3. 在使用易燃物(如酒精)时,小心检查旁边有无火源(明火、电热丝等),如有,应立即熄灭或用其他方法处理。
4. 应将碎玻璃或其他废物分别放在指定的容器内。
5. 实验室内严禁饮食。未经教师许可,决不能尝、触摸或闻任何东西。
6. 用试管加热任何东西时,试管口不能朝向任何人,也不朝向自己。
7. 用适当的工具去拿热的玻璃器皿。
8. 做实验时穿的衣服要合身,不能过分宽松,袖子不能太肥大,女生要将长发盘起。
9. 遇有任何意外事件,立即报告教师,以便及时处理。

安全使用生物

这门课程的实验中,使用微生物的内容较多,所以要重点关注有关微生物的安全使用问题:

1. 任何致病的微生物都不得在本课程中用作实验材料。
2. 必须正确进行无菌操作(严格按照教师的指导做)。
3. 虽然本课程不用致病微生物进行实验,但要把所有的微生物都当作致病菌处理。用过的培养物都必须进行高压灭菌(121°C , 15min)后再作处理。
4. 不要试图培养来自人体或动物的微生物。
5. 若有细菌培养物泼洒出来,不能随意擦拭。应该先用纸巾盖起,再用漂白粉溶液(5%的次氯酸钠)使纸巾湿透,放置 15 ~ 20min,然后用适当

方法清除(应报告教师)。

6. 有割伤、擦伤或外部有溃疡时，不能进行用微生物做的实验。

其他注意事项

1. 轻拿轻放化学药品，要核实瓶上的标签后再取出其中的药品，千万不能发生错误。取用时不要多拿，剩余的化学药品不能放回原瓶内。
2. 做完实验后，清理实验台，将所有仪器和用具清洗干净，一一放回原处。
3. 实验后，关闭操作台上的全部水、电、气。
4. 用肥皂彻底洗净手后再离开实验室。



生物技术概述

一、生物技术

生物技术(biotechnology)也叫生物工程(bioengineering)。当前生物技术迅猛发展,已经家喻户晓、深入人心。例如,谁都知道克隆羊多莉、人类基因组被破译、转基因大豆等等。有些厂家为了推销产品,就把用传统工艺制成的口服液也美其名为生物工程产品。名词的滥用也表明了人们对生物技术的信任。生物技术不仅包括现代生物技术,也包括历史长河中人类利用各种生物进行反应获得产品的技术。生物技术往往包含一系列生物化学反应。

1982年,国际合作及发展组织对生物技术这一名词的含义进行了重新定义:生物技术是应用自然科学及工程学的原理,以微生物、动物、植物作为反应器,将物料进行加工,以提供产品为社会服务的技术。例如,以酵母为反应器制酒、以醋杆菌为反应器制醋、以毛霉为反应器制腐乳、以转基因的大肠杆菌为反应器生产干扰素、以植物愈伤组织为反应器生产试管幼苗、以青霉菌为反应器生产青霉素、以羊为反应器生产人乳、以兔为反应器生产异种蛋白的抗体、以鸡胚为反应器生产病毒以及以分离的酶为反应器扩增基因等等。生物技术大大增加和丰富了产品的品种,提高了人的生活质量。

二、生物技术的内涵

如上所述,生物技术又称为生物工程。所谓工程,一般指生产、制造部门用比较大而复杂的设备进行的工作过程。如利用化学反应和复杂的设备生产多种化学产品,称为化学工程;制造飞机和导弹的称为航天工程。生物是复杂的个体,对它进行加工和改造的设备虽不庞大,但很复杂,因此称为生物工程。生物工程包括细胞工程、发酵工程、蛋白质工程、酶工程和基因工程5种,具体的各个工程都有各自的特点,但各种生物工程在实施上大多离不开基因工程手段。现代生物技术中,主要的是基因工程。

1. 细胞工程。在植物细胞方面,细胞工程主要包括植物组织培养和植物体细胞杂交,如花粉培养、组织培养、原生质体培养和细胞杂交等。这些技术都是用来繁殖和培育新品种的。在动物细胞方面,细胞工程主要包括细胞培养、细胞融合、单克隆抗体的产生、胚胎移植等。多莉克隆羊就是核移植的成果。



图1 多莉的克隆过程



图2 克隆猴

2. 发酵工程。除我们熟知的许多种发酵食品外，还有许多非食用的发酵产品。自丙酮发酵、丁醇发酵和青霉素大规模生产问世以后，发酵工程又生产出了多种其他种类的抗生素。通过基因工程和发酵工程的结合，发酵培养基重组的大肠杆菌，生产出了多种药物，如人源的干扰素、胰岛素、白细胞介素、生长因子等。上百种化工原料也可通过发酵工程生产。虽然其中一部分产品的发酵生产今后有可能被转基因动物取代，但发酵工程将仍然是生物技术的主要组成部分。

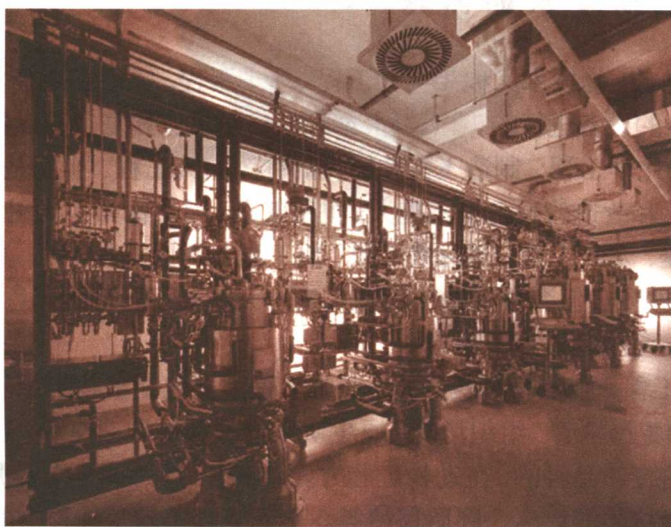
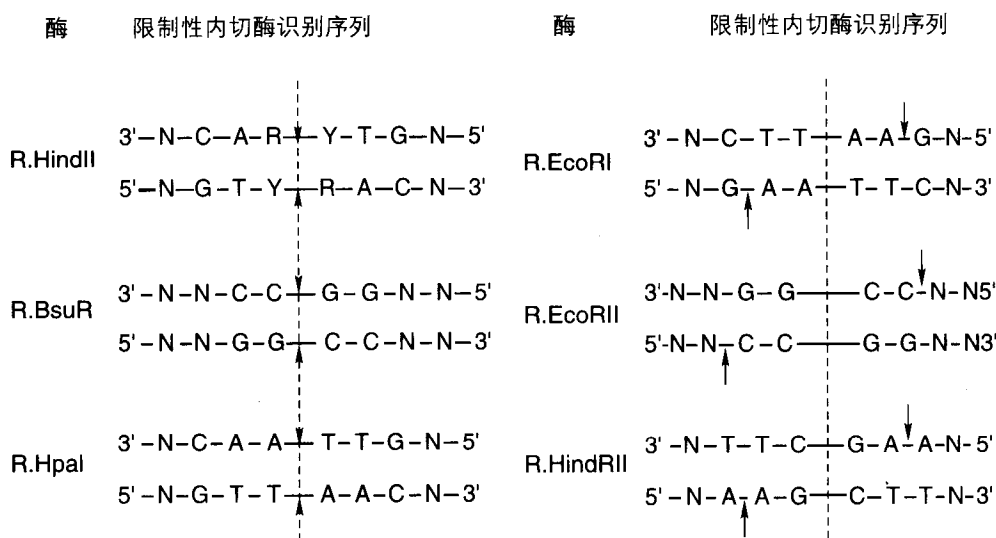


图3 发酵罐

3. 蛋白质工程。1910年发现了一种镰刀型贫血病，经过40年的研究后才发现，患者血红蛋白的582个氨基酸中只有2个氨基酸与正常人的不同。因此认识到蛋白质中个别氨基酸的变化就能引起病变。当然，这也提示我们，个别氨基酸的差异也可能使蛋白质的性质能更好地满足人的需要。于是人们就想到了是否能利用“鬼斧神工”进行“偷天换日”，通过改变个别的氨基酸来改变蛋白质的性质。这种加工改造就叫蛋白质工程。

4. 酶工程。与蛋白质工程一样，就是用基因工程的手段改变酶或蛋白质的折叠方式、空间结构、催化活性和稳定性等。在应用上有广泛的前景，特别是在食品工业和医药工业方面。

5. 基因工程。有些疾病需要做外科手术，如除去肿瘤、疏通血管等等。而人的遗传性疾病是由于基因的异常、增减或缺失等原因引起。如果要剔除或改造有害的基因，引入、重组或增强有利的基因，就需要对基因进行手术。这种改造基因的手术可称为分子手术。使棉花产生抗棉铃虫性状的一种办法就是将苏云金杆菌的毒蛋白基因引入棉花基因中，让这种毒蛋白杀死棉铃虫。这就是将微生物中的有利基因转到植物中，使植物产生抗虫性状。



注1：限制性内切酶的命名，如EcoRI来自于大肠杆菌中，E为大肠杆菌属名的第一个字母，co为大肠杆菌种名的前两个字母，R为菌株，I是编号。

注2：箭头所指为酶切位点。

图4 限制性内切酶

1973年美国加州大学博耶(H.Boyer)和斯坦福大学柯亨(S.Cohen)共同完成了一个实验。他们将只有一个 EcoRI 限制性内切酶位点的环状质粒载体 pSC101, 切成线性分子, 再选出一段两端都是 EcoRI 内切酶酶切位点的 DNA 片段, 将上述两者混合, 加入连接酶, 获得了插有外源 DNA 片段的环状 pSC101。这种质粒称为重组质粒。这个实验标志着人类迈出了转移基因和扩增基因的第一步, 从而提出了基因重组或“基因克隆”的概念。基因克隆是基因无性繁殖的一种策略。

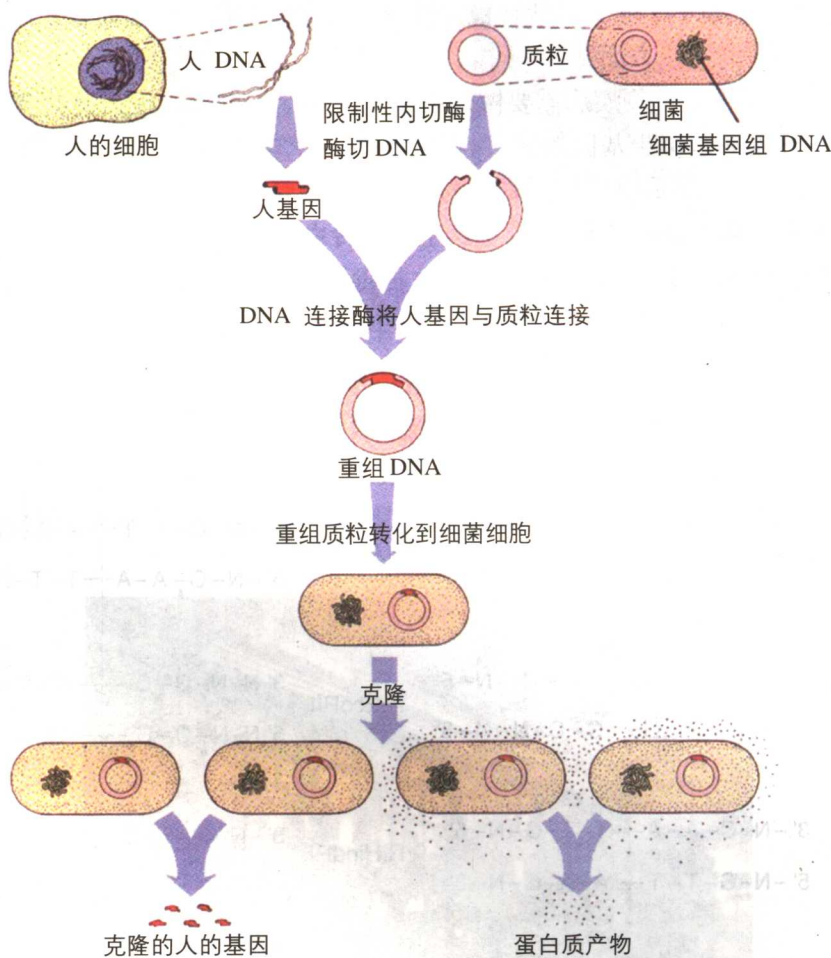


图5 基因重组技术

上述实验说明, 实施基因工程需要具备下列4个条件, 即:

(1) 工具酶。这是对基因进行切割、修饰和连接的酶, 如限制性内切酶、连接酶、聚合酶等。



(2) 基因的分离。测定蛋白质序列,即可知道该蛋白质的基因序列,合成引物后即可用PCR仪(即聚合酶链反应的设备)扩增基因,用电泳法纯化并分离出目的基因。

(3) 基因载体。上述的细菌质粒 pSC101 就是基因载体,对这种载体的要求是:①能自我复制;②含有限制性内切酶的位点;③含有筛选标记,一般为抗性基因,如抗氨苄青霉素基因;④能启动外源目的基因的转录和翻译;⑤在细菌中此质粒有高的拷贝数和稳定性。除通常使用的细菌和酵母质粒外,改造和修饰后的噬菌体和病毒 DNA 都可作为基因载体。

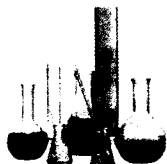
(4) 受体。微生物、植物和动物细胞、植物和动物个体都可作为受体,这样就可将目的基因转入受体。这个目的基因也可在受体的特定部位表达,如植物花或动物的不同器官中。基因工程技术是 DNA 分子间的重组技术,因此也称重组 DNA 技术。

三、生物技术的历史

在人类有记载的历史上,利用生物技术最早的应该说是中国和埃及。从殷墟出土的文物青铜器中就有酒具,表明在前 15 世纪,就能酿酒。酿酒需用酒曲,现在看来酒曲就是培养的酵母菌种。《尚书》中记载:“若作酒醴,尔惟曲蘖”,意思是要做甜酒,你必须用酒曲。这里的醴是甜酒的意思。前 12 世纪的《周礼》中已有制造酱的记载;《诗经》中有制造饴糖(麦芽糖)的记载;前 597 年的《左传》中已有麦曲可治疗腹疾的记载,麦曲就是酵母及其培养基,这里说的是麦曲可以健胃,与当今药房出售的酵母片可助消化是“异曲同工”;在前 6 世纪巴比伦人已开始喝啤酒,前 4 世纪埃及已有发酵食品。

4 世纪葛洪所著《抱朴子》一书中记有“海藻酒疗瘰”,现在看来就是含碘的海藻可以防治甲状腺肿大。北魏贾思勰的《齐民要术》(533~544 年)中有用酒曲的滤液制酒的记载,初步认识了酶的作用,即不用酵母而用酶也能制酒。7 世纪的孙思邈用猪肝治疗雀目,现在看来就是用猪肝中储存的维生素 A 治疗夜盲症。1116 年,北宋寇宗奭在《本草衍义》中记载了用大豆制作豆腐,这表明可从大豆中分离植物蛋白并将它凝固。明末宋应星的《天工开物·甘嗜》中记载了甘蔗的栽培方法和制糖工艺,其中用石灰澄清蔗糖的工艺,现在看来就是用石灰调节酸碱度来沉淀杂质。

中国利用生物技术进行酿造的历史比西方早几千年,西方直到 1100 年才知道通过蒸馏获得乙醇。可是我国漫长的闭关自守的封建社会限制了科学技术的发展,也限制了生物技术的发展。



直到 19 世纪初, 西方人一直是由宗教统治着, 相信上帝创造了花草树木, 上帝创造了人。上帝创造了男人亚当, 由亚当的一根肋骨造就了女人夏娃, 亚当和夏娃婚配后繁衍了人类。现在看来, 即使事实成立, 夏娃也是由亚当的体细胞产生的克隆人, 是无性繁殖的。这样两个人竟然繁殖产生了全人类, 实在令人难以置信!

1859 年, 英国生物学家达尔文(C.R.Darwin)发表了名著《物种起源》, 确立了进化论的概念, 打破了传统的上帝造人的观念, 同时也推动了社会发展, 推动了生物技术的发展。生物技术发展中的大事有:

- 1865 年, 孟德尔(G.J.Mendel)提出了“遗传因子”(即现在的基因)的概念。
- 1900 年, 植物组织培养成功。
- 1910 年, 建立了微生物的污水净化系统。
- 1912 年, 用微生物进行了丙酮、丁醇和甘油的发酵生产。
- 1916 年, 发现了酶可被固定化, 于 1972 年开始应用。
- 1926 年, 得到了脲酶的结晶。
- 1929 年, 在青霉菌中发现抗菌素——青霉素, 并分离制备了青霉素。
- 1940 年, 建立了青霉素的生产厂。
- 1941 年, 提出了 1 个基因 1 种酶的理论。
- 1944 年, 确认 DNA 是遗传物质, 为现代生物技术奠定了基础。
- 1950 年, 确定了 DNA 的基本组成, 并发现了跳跃基因(jumping gene)或称转座因子(transposable element), 即可改变位置的基因。
- 1953 年, 发现了 DNA 的双螺旋结构。
- 1954 年, 离体细胞的培养成功, 为细胞克隆奠定了基础。
- 1956 年, 发现了 DNA 聚合酶和 tRNA, 并发现了 RNA 和 DNA 生物合成的途径。
- 1960 年, 发现了 mRNA。
- 1968 年, 通过杂交技术第一次分离出基因。
- 1970 年, 发现限制性内切酶和反转录过程。
- 1972 年, 建立 DNA 重组技术, 第一次进行体细胞杂交。
- 1973 年, 第一次成功地进行了基因工程实验。
- 1975 年, 第一个基因序列被测定。
- 1977 年, 第一次克隆了人体的蛋白质即促生长素抑制素(somatostatin)的基因。
- 1980 年, 克隆了人干扰素基因和胰岛素基因。
- 1983 年, 合成了生长激素的全基因。



1988 年, PCR 仪问世。

1989 年, 开始测定人的基因组序列。

1990 年, “人类基因组计划”启动。

1996 年, 第一头体细胞克隆羊多莉在英国诞生。

1998 年, 开始艾滋病疫苗的人体实验, 其他克隆动物问世, 制定“水稻基因组计划”。

2000 年, 中、美、日、德、法、英联合宣布成功绘制出人类基因组草图。

2001 年, 公布人类基因组图谱及初步分析结果。

2003 年, 多莉羊死亡, 其体细胞年龄为 6 岁, 多莉年龄 6 岁。与绵羊寿命 12 岁相等。测出非典型肺炎(SARS)病毒的基因图谱。

四、生物技术的发展过程

1. 传统的生物技术。传统的生物技术主要沿 4 个方向发展:

(1) 食品和饮料产品, 如发酵的牛奶产品、以大豆为原料的调味品和各种其他食品的新品种。

(2) 非无菌过程的微生物净化, 如污水处理、垃圾分解和棉籽饼脱毒。

(3) 无菌产品, 如抗体、疫苗、酶等。

(4) 新方向, 如微生物的筛选、固定化酶、细胞、组织培养的技术、提取、纯化的加工技术。

2. 现代生物技术。自提出“基因克隆”策略后, 在很短的时间内就开发出大量行之有效的分离、鉴定和克隆基因的方法。如:

(1) 分离和人工制造能表达目的基因的高产受体菌株。

(2) 以原核生物(大肠杆菌)和真核生物(酵母和动物细胞)细胞为生物工厂生产产品, 如干扰素、人白细胞介素、红细胞生成素、生长激素和胰岛素等重组人基因产品的生产简化了过去由生化提取的制备工艺, 也降低了成本, 增加了产量。

(3) 用植物和动物个体生产经过改造的基因产物, 同时也改进动、植物的特性。

(4) 简化的检测系统, 如蛋白质和核酸测序系统。

今后, 以上这些方面将会加速发展, 并且有更多新的突破。

五、生物技术的应用

1. 酶工程产品的应用。几乎一切生物的化学反应都是由酶所催化的, 酶制



剂的应用范围也日益扩大,除大家所熟知的食品工业外,已扩展到发酵、日用化工、纺织、制革、医药、水产品加工、木材加工、造纸和农业等各方面。酶制剂的应用改变了化工中强酸、强碱、高温、高压等强烈的反应条件,取而代之的是以常温、常压、中性酸碱度等温和的反应条件。从而降低了成本、简化了工艺、增加了产量、改进了品质,改善了劳动条件并且保护了环境。应用前景举例如下:

(1) 在食品工业中,今后主要发展方向是改变食品的色、味、香等。如肉类的嫩化,在国际上肉类嫩度分为10级,级数越高表明越嫩,肉嫩的程度与蛋白质水解的程度有关,今后牲畜屠宰后会被注入蛋白酶,水解部分蛋白质而使肉变嫩。

目前,已发现一种香味酶(flavorase),它存在于小牛的消化道中,可增加巧克力、人造黄油、冰淇淋的香味;在酵母中也发现了香味酶,这种酵母称为生香酵母,新鲜食品的天然香味在加热熟化和灭菌后会被破坏,如加入香味酶,可使食品增香。

(2) 在发酵工业中,主要反映在酿造和氨基酸制造方面,如表1。

表1 酶在酿造和氨基酸生产上的应用

酶	用途
淀粉酶	酱油、酒制造
磷酸二酯酶	核苷酸制造
转氨酶	氨基酸制造
蛋白酶	酱油
乙酰化酶	氨基酸制造
色氨酸合成酶	氨基酸制造
纤维素酶	酱油、酒制造
天冬氨酸酶	氨基酸制造
漆酶	红茶制造
果胶酶	果酒制造
延胡索酸酶	氨基酸制造
胞壁溶解酶	酱油、酒类制造
天冬氨酸脱羧酶	氨基酸制造
谷氨酸脱羧酶	氨基酸制造
腺苷酸脱氨酶	核苷酸制造

(3) 在日用化工和纺织上,如加酶洗涤剂、蚕茧缂丝时天然脱胶、低温染色方面都有广泛应用前途,用的主要是蛋白酶和脂肪酶。



(4) 在制革工业上，主要用于皮革的酶法软化、酶法脱毛，用的是蛋白酶。

(5) 药用，主要用在酶疗、制造新型抗菌素和人造血浆等，已应用的和正在开发的内容见表 2。

表 2 酶在医疗上的应用

酶	用途
链激酶	溶血栓
蚓激酶	溶血栓
尿激酶	溶血栓
凝血酶	凝血
溶血酶	溶血栓
溶菌酶	炎症，镇痛
胶原酶	炎症，镇痛
蛋白酶	炎症，镇痛
青霉素酶	青霉素引起的变态反应
右旋糖酐酶	防龋齿
透明质酸酶	皮肤病
天冬酰胺酶	淋巴性白血病
淀粉酶	消化剂
脂肪酶	消化剂

(6) 水产品加工，主要用于脱腥。腥味来源于蛋白质水解产生的三甲基胺，可以用三甲基胺氧化酶除去这种蛋白质水解产物。

(7) 造纸工业，希望用木质素酶代替氢氧化钠，除去木材中的木质素，保留纤维素。

(8) 在农业方面，用乳酸菌产生的酶使青贮饲料保鲜和保持好的口感；还用多聚戊糖酶类水解半纤维素，获取寡聚戊糖，用于副产品加工、制药(增加人体免疫力)。

此外，酶还可以用于化学分析、临床诊断，也可用于除氧。如葡萄糖氧化酶可用于除氧，溶脂酶可治疗结核病。

2. 发酵技术的改进。目前发酵基本上是一次性的，而每次都需要经过“培养基灭菌—接种—发酵—提取”这样一个周而复始的流程，能否连续发酵、连续生产、连续提取是今后发展的一个方向。

3. 现代生物技术的商业化。生物技术不断改进的目的是为了生产低成本的优质商品，现代生物技术的迅速发展与经济利益推动是分不开的，如 1995 年欧洲生物工程杂志报道：国际生物工程公司少于 50 名员工以下的公司在美国占