



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

高等职业教育生物技术类专业系列教材

基因工程技术

JIYIN GONGCHENG JISHU

曾佑焯 揭广川 李家洲 编



中国轻工业出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材
高等职业教育生物技术类专业系列教材

基因工程技术

曾佑炜 揭广川 李家洲 编

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

基因工程技术/曾佑炜, 揭广川, 李家洲编. —北京:
中国轻工业出版社, 2010.7
高等职业教育生物技术类专业系列教材
普通高等教育“十一五”国家级规划教材
ISBN 978-7-5019-7578-5

I. ①基… II. ①曾…②揭…③李… III. ①基因-遗传
工程-高等学校: 技术学校-教材 IV. ①Q78

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 054735 号

责任编辑: 石悦 江娟
策划编辑: 江娟 责任终审: 唐是雯 封面设计: 锋尚设计
版式设计: 王培燕 责任校对: 燕杰 责任监印: 马金路

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街6号, 邮编: 100740)

印刷: 河北高碑店市德裕顺印刷有限责任公司

经销: 各地新华书店

版次: 2010年7月第1版第1次印刷

开本: 720×1000 1/16 印张: 14.5

字数: 292千字

书号: ISBN 978-7-5019-7578-5

定价: 25.00元

邮购电话: 010-65241695 传真: 65128352

发行电话: 010-85119835 85119793 传真: 85113293

网址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

61146J2X101ZBW

前 言

21 世纪是生命科学的世纪，生物技术的进步改变着人们的生活方式，促进了国民经济的发展，而基因工程又是生物技术中最重要和发展最快的技术。基因工程的诞生是生物化学、分子生物学、遗传学、微生物学等基础学科发展的结果。分子生物学乃至整个现代生命科学许多学科的发展，都得益于基因工程技术的进步。基因工程技术已经渗透到医学、农学、药学、环保和工程技术等领域，对这些学科的发展起着重要的作用。随着基因工程的广泛应用，学习和掌握基因工程的基本理论和实训技能是高职院校许多专业领域的需求。

“基因工程技术”作为一门专业课程，至今还没有比较完善的高职高专教材，我们尝试编写了这本书。书中比较全面系统地介绍了基因工程的基本原理和概念，同时把篇幅做了一定的限制，力求内容基础而新颖，简洁而通俗易懂，希望此书能成为一本符合高职高专院校学生学习的教材和参考书。

考虑到高职高专相关专业培养应用型人才的要求，以及职业教育的特点，我们在编写过程中，注重内容的科学性、先进性、系统性和条理性，在有关资料的编排与取舍方面，参考了最新的国内外参考书和一些文献资料，采用了其中的部分插图，并结合自己的教学经验，在编写过程中安排了较多的图表，以使内容更加直观，便于学习。

参加本教材编写的人员都是高职高专院校中长期从事教学的骨干教师。全书共分 7 章，其中第 1 章和第 6 章由揭广川老师编写，第 2 章和第 5 章由李家洲老师编写，第 3、4 章和第 7 章由曾佑炜老师编写。

基因工程是一门发展十分迅速的学科，新理论和新的研究成果层出不穷，加之其涉及的知识也十分广泛，限于编者的学识和水平，本书中的疏漏和错误之处在所难免，恳请同仁和读者批评指正。

编者

二〇〇九年七月

中国轻工业出版社生物专业教材目录

本科教材

微生物工程	35.00 元
数值分析	24.00 元
工业生物技术专业英语	29.00 元
生物制药工程专业英语	37.00 元
固态发酵工程原理及应用	30.00 元
生化工程（第二版）	30.00 元
生物化学学习指导	32.00 元
生物工程工厂设计概论	36.00 元
生物制药技术（第二版）	45.00 元
氨基酸工艺学	42.00 元
生物工艺技术	35.00 元
微生物学	35.00 元
微生物学实验技术	28.00 元
酶工程	34.00 元
酶学原理和酶工程	40.00 元
生物工程专业实验（天津市高校“十五”规划教材）	25.00 元
生物工业下游技术（普通高等教育“九五”国家级重点教材）	26.00 元
微生物工程原理	40.00 元
生物工程分析与检验	34.00 元
生物化学	64.00 元
发酵生物技术专业英语	20.00 元
生物工程设备	50.00 元
工业发酵分析	20.00 元
生物制药技术	38.00 元
发酵工业概论	30.00 元
生物化学	40.00 元
氨基酸发酵工艺学	42.50 元
细胞生物学	32.00 元
生物工程概论	12.00 元
代谢控制发酵	32.00 元
生化工程	14.00 元
微生物学（第二版）	34.50 元

环境生物技术 30.00 元

高职高专教材
高职制药/生物制药系列

临床医学概要	28.00 元
医药商品学	48.00 元
药物化学	26.00 元
药品检验技术	26.00 元
中药学概论	30.00 元
生物制药工艺学	26.00 元
制药设备	26.00 元
药事管理与法规	39.00 元
药理学	32.00 元
药物制剂技术（普通高等教育“十一五”国家级规划教材）	34.00 元
药品营销原理与实务	36.00 元
药剂学	35.00 元
药品检验	35.00 元

高职生物技术系列

啤酒生产技术	35.00 元
啤酒生产技术	35.00 元
发酵食品生产技术	32.00 元
生物分离技术	25.00 元
生物工程设备及操作技术	48.00 元
发酵工艺原理	30.00 元
生物化学技术	28.00 元
生物检测技术	24.00 元
食用菌生产技术	35.00 元
现代生物技术概论	28.00 元
植物组织培养	28.00 元
微生物学	40.00 元
氨基酸发酵生产技术	30.00 元
生物化学	30.00 元
化工原理	48.00 元
有机化学	20.00 元
发酵工艺教程	24.00 元
发酵食品工艺学	28.00 元

中 职 教 材

啤酒工艺学	36.00 元
生物化学	15.50 元
发酵工厂设备	45.25 元
微生物学	15.00 元
酒精工艺学	18.00 元
发酵调味品工艺学	20.00 元

职业资格培训教程

白酒酿造工教程（上）	26.00 元
白酒酿造工教程（中）	22.00 元
白酒酿造工教程（下）	38.00 元

购书办法：各地新华书店，本社网站（www.chlip.com.cn）、当当网（www.dangdang.com）、卓越网（www.joyo.com）、轻工书店（联系电话：010-65128352），我社读者服务部（联系电话：010-65241695）。

目 录

第一章 基因工程概述	(1)
第一节 基因工程的发展简史	(1)
一、基因工程的概念	(1)
二、基因工程的基本原理	(3)
三、基因工程在生物工程中的地位	(3)
第二节 基因工程的诞生与发展	(5)
一、基因工程的诞生	(5)
二、基因工程的发展与成熟	(6)
三、基因工程的未来展望	(7)
第三节 基因工程的研究意义	(8)
一、人类疾病与基因	(8)
二、人类基因组计划与目标	(9)
三、基因工程对农业现代化的影响	(10)
四、基因工程对社会科学发展的影响和可能带来的问题	(11)
第二章 基因工程操作的基本技术	(16)
第一节 基因工程操作的基本程序和内容	(16)
一、基因工程操作的基本程序	(16)
二、基因工程操作的基本内容	(16)
第二节 核酸的提取与纯化	(16)
一、质粒 DNA 的提取	(16)
二、RNA 的提取	(18)
第三节 核酸凝胶电泳	(19)
一、核酸凝胶电泳技术的基本原理	(19)
二、核酸凝胶电泳技术	(20)
三、脉冲电场凝胶电泳	(21)
第四节 基因工程工具酶	(21)
一、限制性核酸内切酶	(22)
二、DNA 连接酶	(30)
三、DNA 聚合酶	(32)
四、其他工具酶	(34)
第五节 PCR 技术	(35)

一、PCR 扩增原理	(35)
二、PCR 操作程序	(37)
三、PCR 的成分	(38)
四、PCR 的条件	(39)
五、PCR 引物设计原则	(40)
六、PCR 技术应用	(41)
第三章 基因文库的构建与目的基因的获得	(49)
第一节 真核基因组 DNA 文库的构建	(49)
一、用于构建基因组文库的载体	(49)
二、基因组 DNA 克隆片段的制备	(54)
三、重组 DNA 分子的构建	(54)
四、重组 DNA 分子导入受体细胞	(55)
五、基因文库的扩增及保存	(55)
六、相对于 cDNA 文库, 基因组文库的优点	(56)
第二节 cDNA 文库的构建	(56)
一、mRNA 的提取及其完整性的确定	(56)
二、cDNA 克隆片段的获得	(57)
第三节 目的基因的获得	(61)
一、基因的克隆和分离的常规程序	(61)
二、对已知序列基因的分离	(62)
三、对未知序列基因的分离	(67)
四、目的 cDNA 的结构分析	(75)
五、cDNA 产物的功能分析	(75)
第四章 基因工程载体	(76)
第一节 质粒载体	(76)
一、质粒的一般生物学特性	(76)
二、理想质粒载体的必备条件	(79)
三、常用的质粒载体类型	(82)
第二节 噬菌体和柯斯质粒载体	(83)
一、 λ 噬菌体	(83)
二、单链 DNA 噬菌体载体	(86)
三、噬菌粒载体	(88)
四、柯斯质粒	(89)
第三节 其他载体	(91)
一、人工染色体	(91)
二、植物基因工程载体	(92)

三、哺乳动物细胞的载体	(93)
第四节 表达载体	(98)
一、表达载体构建的一般原则	(98)
二、表达质粒载体	(101)
三、植物表达载体	(102)
第五节 DNA 的体外重组	(103)
一、重组 DNA 的概念	(103)
二、载体 DNA 与外源基因片段的连接	(104)
三、基因转移	(110)
第六节 重组体的筛选与鉴定	(112)
一、遗传学检测法	(113)
二、核酸分子杂交检测法	(115)
三、物理检测法	(122)
四、免疫化学检测法	(123)
五、核酸序列分析及其他方法	(124)
第五章 外源基因的表达	(129)
第一节 外源基因在大肠杆菌中的表达	(129)
一、正确表达的基本条件	(129)
二、常用的表达载体	(139)
三、外源蛋白质表达部位	(144)
四、提高外源基因表达效率的方法	(148)
五、表达实例	(158)
第二节 真核细胞表达概述	(161)
一、酵母表达系统	(161)
二、哺乳动物细胞表达系统	(166)
第六章 基因工程技术的应用	(171)
第一节 转基因植物	(171)
一、抗植物病虫害基因	(171)
二、抗除草剂基因	(172)
三、提高作物产量的基因	(174)
四、改良作物品质的基因	(174)
五、改良食品加工原料的基因	(175)
第二节 转基因动物	(176)
一、转基因动物在医药领域中的应用	(177)
二、转基因动物在农业领域中的应用	(179)
第三节 转基因微生物	(180)

一、应用于酒类生产	(180)
二、应用于乳品生产	(182)
三、应用于有机酸和食用色素生产	(185)
四、应用于酶制剂生产	(186)
第四节 基因工程药物	(186)
一、第一代和第二代基因工程药物	(187)
二、蛋白质工程药物	(187)
三、基因工程制药的技术路径	(188)
第七章 技能实训	(191)
实训一 质粒 DNA 的提取	(191)
一、目的	(191)
二、原理	(191)
三、仪器和试剂	(192)
四、操作步骤	(193)
五、注意事项	(195)
六、思考题	(195)
实训二 DNA 酶切及凝胶电泳	(196)
一、目的	(196)
二、原理	(196)
三、仪器和试剂	(199)
四、操作步骤	(199)
五、注意事项	(200)
六、思考题	(201)
实训三 基因的 PCR 扩增技术	(201)
一、目的	(201)
二、原理	(201)
三、仪器和试剂	(203)
四、操作步骤	(204)
五、注意事项	(204)
六、思考题	(205)
实训四 重组质粒的连接、转化及筛选	(206)
一、目的	(206)
二、原理	(207)
三、仪器与试剂	(208)
四、操作步骤	(209)
五、注意事项	(211)

实训注意事项	(211)
如何撰写实训报告	(212)
一、通则	(212)
二、实训报告的结构	(213)
三、注意事项	(214)
附图：基因工程常用设备	(215)
参考文献	(219)

第一章 基因工程概述

第一节 基因工程的发展简史

一、基因工程的概念

1. 基因工程的基本定义

基因工程即重组 DNA 技术，是指对不同生物的遗传基因，根据人们的意愿，进行基因的切割、拼接和重新组合，再转入生物体内，产生人们所期望的产物，或创造出具有新的遗传特征的生物类型。

2. 基因工程的基本过程

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）；四是把能表达目的基因的受体细胞挑选出来。

DNA 分子很小，其直径只有 2nm，约相当于 $1/5000000$ cm，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，这种酶能够在 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 20 世纪 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了 1978 年诺贝尔生理学或医学奖。

DNA 的分子链被切开后，还得缝接起来以完成基因的拼接。1967 年，科学家在 5 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，必须寻找一种小分子、能自由进出细胞，而且在装载了外来的 DNA 片段后仍能复制的运载体。

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，甚至可以在人和兔培养细胞间进行转移。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，它能依然如故地自我复制。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在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。

(1) 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需的蛋白质产物。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 的仪器。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“RNA→DNA”方向也存在，基因模板合成法就是先以信使 RNA 为模板，反转录出一条 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。

(2) 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，如果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 片段就称为载体。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。

(3) 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，形成黏性末端或平末端。DNA 经限制性内切酶切割后产生的具有碱基互补

单链的末端称为黏性末端。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，常用的有 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。

(4) 转化 重组 DNA 进入受体的过程称为“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、基因工程的基本原理

分子遗传学、分子生物学、生物化学工程学是基因工程原理的三大基石。

(1) 利用载体 DNA 在受体细胞中独立于染色体而自主复制的特性，将外源基因与载体分子重组，通过载体分子的扩增提高外源基因在受体细胞中的剂量，借此提高其宏观表达水平。这里涉及分子遗传学原理。

(2) 筛选、修饰和重组启动子、增强子、操作子、终止子等基因的转录调控元件，并将这些元件与外源基因精细拼接，通过强化外源基因的转录提高其表达水平。

(3) 选择、修饰和重组核糖体结合位点及密码子等 mRNA 的翻译调控元件，强化受体细胞中蛋白质的生物合成过程。(2)、(3) 涉及基因表达调控的分子生物学原理。

(4) 基因工程菌是现代生物工程中的微型生物反应器，在强化并维持其最佳生产效能的基础上，从工程菌大规模培养的工程和工艺角度切入，合理控制微型生物反应器的增殖速度和最终数量，也是提高外源基因表达产物产量的主要环节。这里涉及生物化学工程学的基本理论。

三、基因工程在生物工程中的地位

现代生物技术，又称生物工程，是利用生物有机体（从微生物直至高等动物）或其组成部分（器官、组织、细胞等）发展新工艺或新产品的一种科学技术体系。生物工程主要包括基因工程、细胞工程、酶工程和发酵工程四

个部分。

基因工程被认为是 20 世纪生物学一项最伟大的成就，也是当今新技术革命的重要组成部分。基因工程彻底改变了传统生物技术的被动状态，使得人们可以克服物种间的遗传障碍，定向培养或创造出自然界所没有的新的生命形态，以满足人类社会的需要。

细胞工程是利用细胞的全能性，采用组织与细胞培养技术对动、植物进行修饰，为人类提供优良品种和保护濒危珍稀物种。细胞是生物体的结构单位和功能单位，细胞工程主要包括体细胞融合、核移植、细胞器摄取和染色体片段重组等。体细胞融合是指两个不同种类的细胞，加上融合剂，在一定条件下，彼此融合成杂交细胞，使来自两个亲本细胞的基因有可能都被表达，从而打破了远缘生物不能杂交的屏障，提供了创造新物种的可能。细胞核移植对动物优良杂交种的无性繁殖具有重要的意义，克隆技术便是细胞核移植的一个最为典型的应用。细胞器的摄取主要是指叶绿体和线粒体的摄取。如用白化型原生质体摄取正常的叶绿体，进而发育成正常的绿色植物；将抗药型草履虫的线粒体植入其他草履虫细胞，使后者获得抗药性。染色体片段重组是利用染色体替换来改变生物遗传特性，如利用染色体的易位、缺体等方法，获得新的染色体组合。

酶工程即利用酶的催化作用，在一定的生物反应器中，将相应的原料转化成所需的产品。酶工程是现代酶学理论与化工技术的交叉技术，它的应用主要集中于食品工业、轻工业和医药工业等领域。酶是生物体内的一种具有新陈代谢催化剂作用的特殊蛋白质，它们可特定地促成某个反应而自身却不参与反应，并具备反应效率高、反应条件温和、反应产物污染小、能耗低以及反应易于控制等优点。

发酵工程是指利用微生物的特定性状，通过现代工程技术，在生物的反应器中生产有用物质的一种技术系统。当前的医用和农用抗生素绝大部分是发酵的产品，此外发酵工程产品还包括氨基酸、工业用酶等，人们日常生活中广泛使用的味精、维生素 B₂ 等也是发酵工程的产品。

基因工程、细胞工程、酶工程和发酵工程都是组成生物技术的主体，而且这几个技术体系是相互依赖、相辅相成的。一般将它们分别称为生物技术的上游（加工）工程和下游工程。前者提供具有生产和应用价值的优良遗传性状即优良物种，后者是优良遗传性状充分表达并最后形成所需产品的必由之路和必不可少的手段。就生产某种新的生物药物而言，往往需要综合应用这几个技术体系。但在这些技术体系中，基因工程无疑将起着主导的作用，因为只有基因工程改造过的生物细胞，才能赋予其他技术体系以新的生命力，真正按照人们的意愿，生产出特定的新型高效的生物产品。

第二节 基因工程的诞生与发展

一、基因工程的诞生

基因工程诞生于1973年，它是数十年无数科学家辛勤劳动的成果，是人类智慧的结晶。对基因工程的诞生起了决定性作用的是现代分子生物学领域理论上的三大发现和技术上的三大发明。

1. 理论上的三大发现

第一，发现了生物的遗传物质DNA（20世纪40年代）。艾弗里1934年在美国的一次学术会上首次报道了肺炎球菌的转化，但这一超越时代的科学成就十年后才被公开发表。事实上，艾弗里不仅证明了DNA是生物的遗传物质，打破了当时人们认为只有蛋白质这样复杂的大分子才能决定细胞的特性和遗传的信条，而且也证明了DNA可以把一个细菌的性状转给另一个细菌，理论意义十分重大。艾弗里的工作是基因工程的先导。

第二，搞清楚了DNA的双螺旋结构和半保留复制机理（20世纪50年代）。1953年，沃森和克里克提出了DNA结构的双螺旋模型。这个模型指的是作为主要遗传物质的生物大分子的结构及其自我复制的模式，同时也说明了基因与蛋白质生物合成的关系，这便是中心法则。其对生命科学的发展所做出的贡献，足以与达尔文学说、孟德尔定律相提并论。

第三，确定了遗传信息的传递方式（20世纪60年代）。沃森和克里克的伟大理论，其重要意义无论怎样高度评价也不过分，然而它仅仅揭开了生命现象的一部分本质，而揭开生命现象另一部分本质的是1961年莫纳和雅格布提出的操纵子学说。以尼伦伯格等为代表的一批科学家，经过艰苦的努力，确定遗传信息是以密码子方式传递的，每三个核苷酸组成一个密码子，代表一个氨基酸。到了1966年破译了全部64个密码子，编排了一本密码子字典，叙述了中心法则。操纵子学说的提出，使人们在认识生命基本现象的实质方面有了基因的调节与控制的概念，有了基因调控的思想。

2. 技术上的三大发明

第一，DNA切割和连接技术。1970年，史密斯和威尔科克斯在流感嗜血杆菌中分离纯化出了限制性核酸内切酶Hind II，使DNA分子的切割成为可能。1972年波义耳实验室又发现了称为EcoR I的核酸内切酶。这种酶每遇到GAATTC序列，就会将双链分子切开形成DNA片段。随后，又相继发现了大量类似于EcoR I这样的限制性核酸内切酶，这就使研究者可以获得所需的DNA特殊片段，为基因工程提供了技术基础。使基因工程技术突破的另一发现是DNA连接酶。1967年，世界上有五个实验室几乎同时发现了DNA连接酶。这种酶能够参