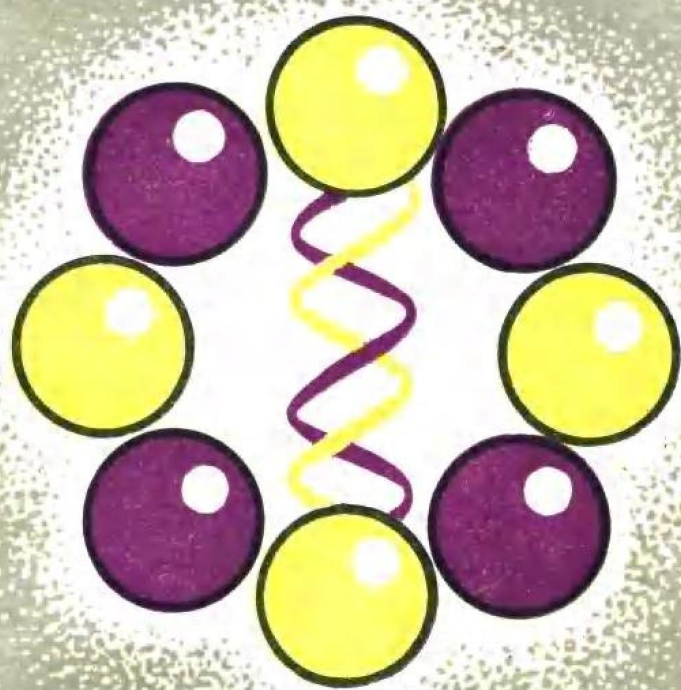


生物工程丛书



生物工程概论

焦瑞身等 编著

化学工业出版社

内 容 提 要

本书系《生物工程丛书》之一。

本书概括地介绍了当代生物工程的内容,以及近年来国内外有关生物技术在各种产业上的应用。此外,还叙述了有关细胞培养技术、菌体收获技术、细胞破碎的方法、酶技术、后处理技术、发酵过程参数检测的自控技术、DNA传递技术、原生质体技术及菌体保藏方法等。

本书第二~七章由俞俊棠审阅和修改。

本书能帮助读者对生物工程有个全面的了解,对学习生物学的同志也是一本比较好的参考书。

生 物 工 程 丛 书 生 物 工 程 概 论

焦瑞身 等编著

责任编辑:尹建国

封面设计:季玉芳

*

化学工业出版社出版发行

(北京和平里七区十六号楼)

化学工业出版社印刷厂印刷

新华书店北京发行所经销

*

开本787×1092¹/₃₂印张10¹/₄插页 字数232千字

1991年4月第1版 1991年4月北京第1次印刷

印 数 1—1,790

ISBN 7-5025-0817-1/Q·2

定 价7.00元

《生物工程丛书》编辑委员会

主任 焦瑞身 (中国科学院上海植物生理研究所)

委员(按姓氏笔划排列)

李载平 (中国科学院上海生物化学研究所)

李致勋 (复旦大学遗传学研究所)

陈驹声 (上海科技大学生物工程系)

俞俊棠 (华东化工学院生物工程研究所)

熊振平 (上海医药工业研究院)

前 言

当前，以生物工程（生物技术）、微电子、新材料、新能源、海洋工程和空间技术等为主要内容的新技术革命浪潮，正在以万钧之势席卷世界各国，迅猛发展。在新技术革命中，生物工程又是各国优先发展的领域，它不仅在近期内能提供新的产业，且为解决人类社会所面临的许多重大问题，如人口和食物、能源和资源、环境和保健等问题发挥重要作用，展示美好的前景。

生物工程的发展将对各国的经济发展带来重大的影响。例如经济发达国家，正在致力于可再生能源（生物物质）利用，企图代替石油进口，这将减少对石油能源的依赖。又如各国利用固定化菌体或固定化酶大规模生产高果糖浆代替蔗糖，使世界市场糖的价格大幅度下降。再如巴西，开展以酒精代替石油的十年计划，到目前为止，全国汽车所需燃料的43%已使用酒精，而且，由于发酵法制酒精这项生物工程的发展，为巴西创造了500万人就业机会。显然，对巴西人民生活和国家经济发展起到引人注目的作用。

我国从“六五”计划期间就把生物工程作为重点发展的技术之一，而且在许多方面已经取得可喜的进展：“七五”计划的规模更加宏大。随着各项计划的落实，生物工程将在医药、农业、工业、食品等方面开拓新的领域，创造巨大的社会效益和经济效益，为国民经济开辟新的原料途径，甚至导致新的产业结构。例如应用农副产品，生物物质代替矿产资源等。我国幅员广大，具有丰富的生物资源，这是发展生物工程基本条件之

一。毫无疑问，生物工程的发展将为我国十亿人民的物质生活和四化建设大业发挥巨大作用。

为了我国生物工程的发展，以具有一定科技知识的读者为主要对象，出版一套全面介绍生物工程的丛书是十分必要的。《生物工程丛书》的目的就是配合这一需要，介绍当代国内外生物工程几个活跃领域的情况；既深入浅出地介绍基础知识和近期的应用，也展示今后的发展方向。当代生物工程一般分为微生物工程、酶工程、细胞工程和基因工程，本丛书均有专册分别予以介绍。为了使读者概括了解当代生物工程的内容，专有一册《生物工程概论》以飨读者。

再者，生物工程是一个知识和技术密集的技术科学，它的基础科学是微生物学，生物化学、遗传学以及生化工程等。因此，我们又邀请有经验的专家编写了《微生物学基础》，《生物化学基础》和《生物化学工程》，作为学习生物工程的基础，对读者了解生物工程各个方面是有益的。

本丛书是编辑部邀请国内活跃在生物工程各个领域的专家编写，他们或从事科研，或进行实际生产，都是在百忙之中进行写作，大家的共同愿望是希望这套丛书对有志于从事生物工程工作的读者有所裨益，为我国生物工程的发展出一份力。

焦瑞身

一九八六年

目 录

第一章 绪论	1
第一节 什么是生物技术或生物工程	1
一、生物技术的过程	1
二、工程菌（重组微生物）防护问题	3
三、生物技术与各学科的关系	4
四、生物技术下游处理	5
参考文献	13
第二节 制药工业	13
一、半合成抗生素	13
二、生理活性物质	17
三、基因工程生产蛋白质多肽药物	21
四、单克隆抗体	29
五、植物和植物组织培养提供的药物、 植物提供的天然物质	29
参考文献	40
第三节 化学工业	41
一、生物催化的反应顺序	43
二、生物反应的专一性	44
三、生物催化产品（酶工程产品）	51
参考文献	60
第四节 食品工业	60
一、单细胞蛋白	60
二、食品添加剂	66
三、淀粉糖	70

四、食品脱毒	75
参考文献	78
第五节 生物技术在环境保护中的应用	78
一、金属的浸沥回收	78
二、石油开采	80
三、污染控制	81
四、煤的脱硫	83
五、遗传学研究在污染控制方面的应用	85
参考文献	86
第六节 农业	86
一、引言	86
二、从细菌杀虫剂到抗虫作物	86
三、新的杀线虫剂	90
四、冰核缺失细菌——冻害保护剂	90
五、转基因作物——抗除草剂作物	91
六、转基因动物	92
参考文献	94
第七节 生物技术在能源开发方面的应用	95
一、纤维素原料的预处理和水解	95
二、纤维素的直接利用	102
三、生物沼气	105
四、转化工业废水为液体燃料	112
五、清洁能源（氢气）	115
参考文献	119
第二章 细胞培养技术	120
第一节 微生物细胞的培养	121
一、表面培养	122
二、深层培养	123
三、连续培养	129
四、中间补料培养	130

五、同步培养	131
六、混合培养	133
第二节 动物细胞的培养	134
第三节 植物细胞的培养	139
参考文献	143
第三章 菌体收获技术	144
第一节 发酵液的预处理	144
第二节 过滤	147
一、重力过滤	147
二、压力过滤	148
三、真空过滤	151
第三节 离心分离	153
参考文献	157
第四章 细胞破碎	158
第一节 研磨法	158
一、手磨	158
二、球磨	158
三、石磨	159
四、滚筒式细菌磨	159
第二节 挤压法	160
一、French挤压器	160
二、高压匀浆机	160
三、X-挤压器	162
第三节 超声振荡	164
第四节 砂磨法	165
第五节 酶处理法及原生质体的制取	169
第六节 破碎细胞的其他方法	171
一、自溶	171
二、干燥	172

三、冻融	172
四、渗透作用	172
五、表面活性剂处理	173
六、病毒作用	173
第七节 破碎检测	174
第五章 酶技术	175
第一节 概述	175
第二节 酶的提取和纯化技术	178
一、根据分子大小的分离方法	179
二、根据溶解度不同的分离方法	181
三、根据蛋白质带电荷的情况进行分离	182
四、亲和层析	183
第三节 酶的固定化技术	184
一、固定化酶的制备方法	185
二、固定化酶的应用	188
三、逆胶束酶反应系统	190
第四节 菌体的固定化	192
第五节 酶反应器	194
一、连续搅拌槽反应器	196
二、活塞流型反应器	196
第六节 生物电化学传感器	200
参考文献	205
第六章 后处理技术	207
第一节 培养液（或发酵液）的预处理	209
一、控制pH和除去无机离子	210
二、蛋白质的去除	211
三、絮凝剂的使用	212
四、有色物质的去除	212
第二节 萃取	213
一、溶剂的特性及其选择	214

二、萃取方式及设备	215
三、萃取工艺典型实例	217
第三节 沉淀	218
一、等电点法	219
二、盐析法	221
三、有机溶媒沉淀法	223
四、形成难溶盐或复合物沉淀法	225
第四节 色层分离	226
一、吸附色层分离法	227
二、离子交换色层分离法	228
三、凝胶过滤色层分离法	229
四、亲和色层分离法	231
五、连续色层分离法	233
第五节 电泳	233
一、自由界面电泳	236
二、区带电泳	236
参考文献	242
第七章 发酵过程参数检测的自控技术	243
第一节 物理参数的检测和控制	244
一、发酵罐温度测量和罐温的自动调节	244
二、罐压测量和控制	246
三、空气流量的测定	247
四、发酵液液位测量和自动消沫	248
五、发酵罐搅拌功率的测定	249
六、发酵液粘度测定	251
第二节 化学参数的检测和控制	252
一、pH的连续测量和控制	252
二、溶氧浓度的连续测定	254
三、排气氧和排气二氧化碳浓度连续测定	255
第三节 电子计算机在发酵过程中的应用	257

一、计算机对发酵过程进行实时控制	257
二、发酵过程数学模型参数的估计和经验关联式的建立	260
参考文献	261
第八章 DNA传递技术	262
第一节 转化	262
一、转化中受体菌的感受态	263
二、影响转化效率的因素	264
三、转化程序	265
第二节 杂交	266
第三节 转导	270
第四节 转染	271
第五节 细胞融合	272
第六节 以脂质体为媒介的融合	274
第七节 遗传工程	275
参考文献	279
第九章 原生质体技术	280
第一节 原生质体技术的优越性	281
第二节 细胞壁的去除	283
一、细菌细胞壁的消化	284
二、放线菌细胞壁的消化	288
三、真菌细胞壁的消化	289
第三节 原生质体的形成	289
第四节 原生质体的再生	292
第五节 原生质体融合	294
一、融合亲株的选择	294
二、助融剂——聚乙二醇	295
三、融合重组子的检出	296
第六节 原生质体再生技术的应用	297
一、理论研究中的应用	297

二、原生质体技术的工业应用	298
参考文献	301
第十章 菌种保藏	303
第一节 菌种来源	303
第二节 菌种保藏的目的和现状	303
第三节 菌种保藏的方法	304
一、斜面保藏及穿刺保藏法	304
二、干燥保藏法	305
三、悬液保藏法	306
四、冷冻干燥保藏法	306
五、液氮保藏法	311
六、低温保藏法	312
七、其它	313
参考文献	315

第一章 绪 论

近年，生物技术或称生物工程（biotechnology）在国外深受重视，很多国家政府直接或间接投资于生物工程各方面的开发。在商业上也确有新产品如人体胰岛素、干扰素、猪痢疫苗等提供。在我国，生物技术也是国家重点支持发展的学科。本文介绍生物工程的一些概念，以及近年来国内外有关生物技术在多种产业上的应用。

第一节 什么是生物技术或生物工程

生物技术是应用生物体（包括微生物，动物细胞，植物细胞）或其组成部分（细胞器和酶），在最适条件下，生产有价值的产物，或进行有益的过程的技术。为了获得高产和利润，在生产过程中，必须对重要参数进行检测和程序控制，以达到优化。而且作为一项生物技术产业，必须具有一定规模，有合乎规格的产品供应。所以，一般地说实验室所进行的小样制备，还不能成为生物技术产业。

一、生物技术的过程

通常把生物技术（生物工程）分为下列几个分科：发酵工程（微生物工程）；细胞工程；酶工程；基因工程；生化工程。

其中发酵工程占主要位置，这可从生物技术的过程看出来。不论是微生物，还是动植物细胞；也不论是一般选育的菌株，还是工程菌（重组微生物），其生产过程大致如图1-1所

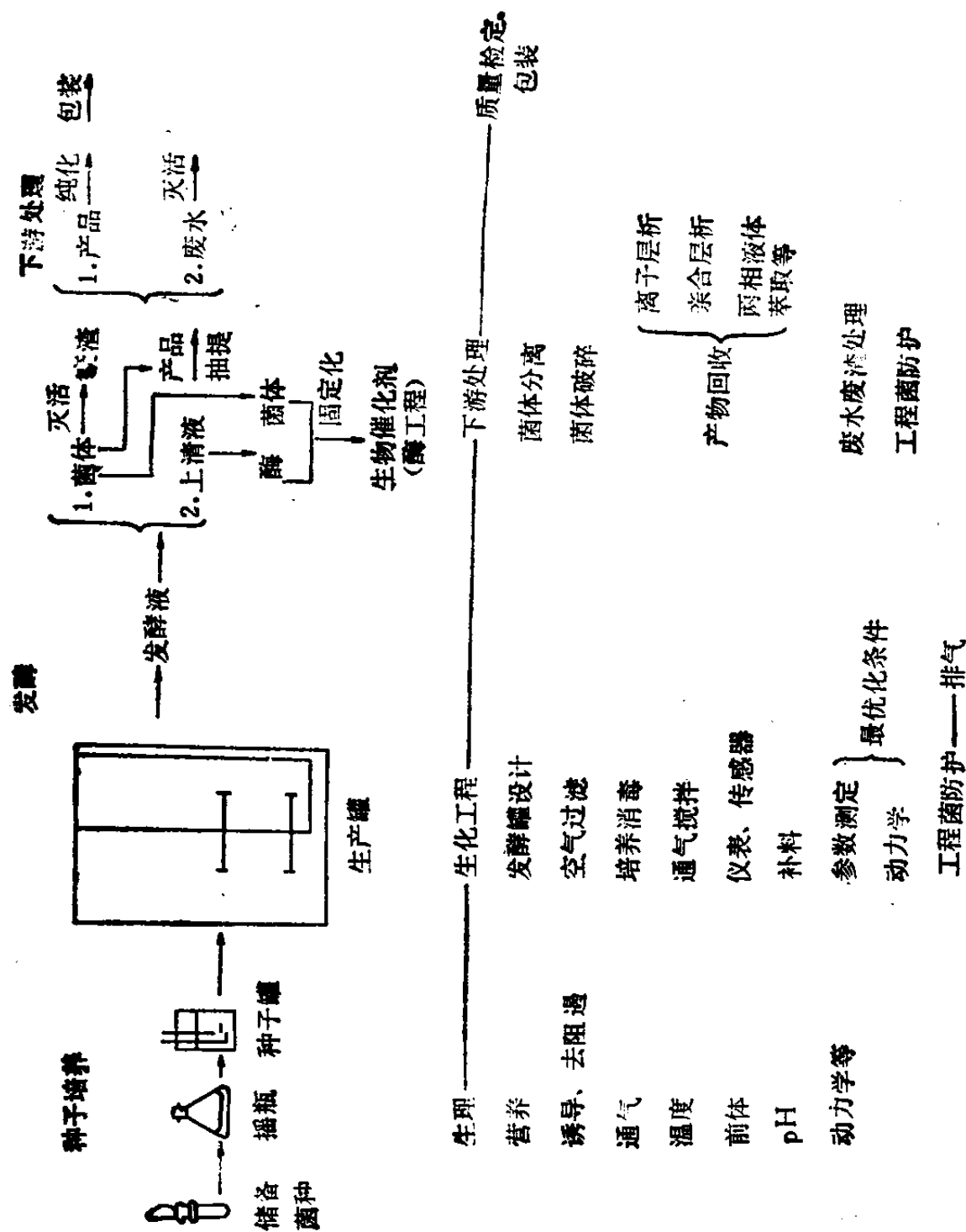


图 1-1 生物工程过程

示。不采取这样的生产过程的生物技术有单克隆抗体与植物基因工程。

二、工程菌（重组微生物）防护问题

载有抗性基因工程菌的使用，给发酵工程带来了防止这些菌株在环境中扩散的问题。各国对此都有严格的条例，规定消灭活菌。按美国国立卫生院（NIH）的规定，对物理防护分为三级：BL1-LS，BL2-LS和BL3-LS。其要求一级比一级高。这里不作详细引证，只对发酵工程各步操作中的防护略作介绍。

1. 发酵罐 发酵罐排气必须灭菌后才释放至大气；发酵罐冷凝水、排气中水雾都须进防护罐加压灭菌，才能排入下水道。图1-2为发酵罐系统防护示意图。

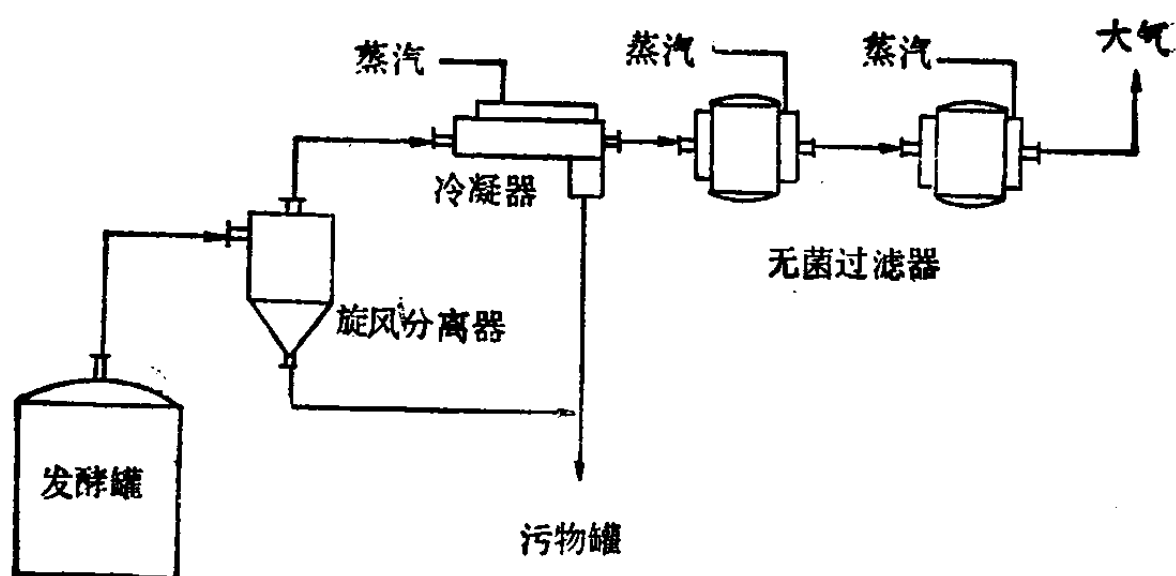


图 1-2 发酵罐系统防护

2. 污物罐的灭菌 污物收集罐必须灭菌后才能排放。图

1-3为污物罐灭菌示意图。

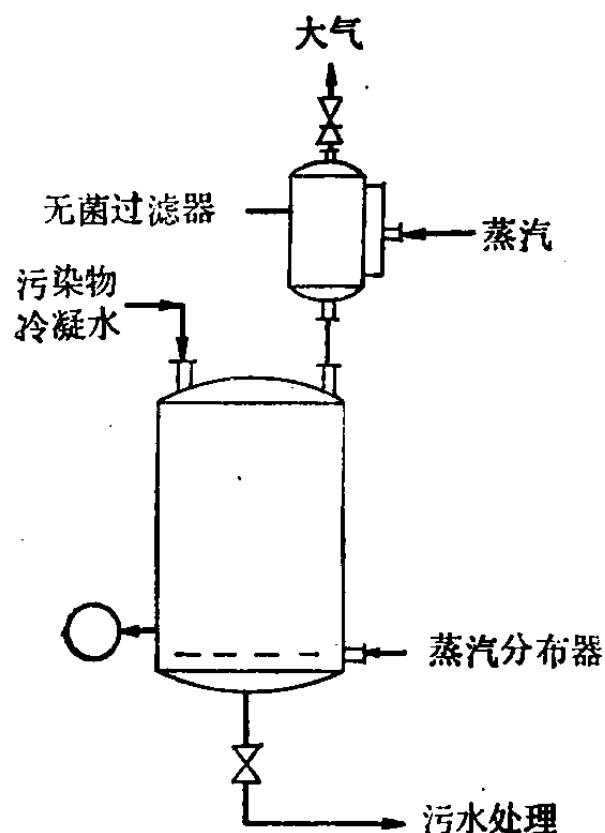


图 1-3 污物罐灭菌示意图

3. 胞外产物后加工过程的防护 发酵罐、发酵液菌体分离、上清液微过滤膜 ($0.22\mu\text{m}$) 过滤以及菌体灭活都应在防护系统之内进行。经微膜过滤的无菌滤液才能在防护系统之外进行加工回收。

4. 胞内产物后加工过程的防护 发酵罐、菌体收集、废液灭活、细胞裂解与碎片灭活、裂解清液的微过滤膜 ($0.22\mu\text{m}$) 过滤等过程都必须在防护系统之内进行。经微膜过滤的菌体清液才能在防护系统之外进行加工。

三、生物技术与各学科的关系

进行生物技术工作，首先要解决具有优良性状的菌种，这里除传统方法外，细胞融合和基因工程大可发挥作用。有了菌种（克隆），下一步则是生理研究，目的在解决菌种的营养要求，最适宜的培养基、培养条件等。在生理研究的基础上，再在发酵罐中进行生长动力学和产物形成动力学研究。这些动力学研究可为生产控制、模拟放大、最优化控制以及电子计算机的程序控制提供模型。

为了更好地说明生物技术的综合性，我们用图1-4表示生物技术和几个基础学科的关系。

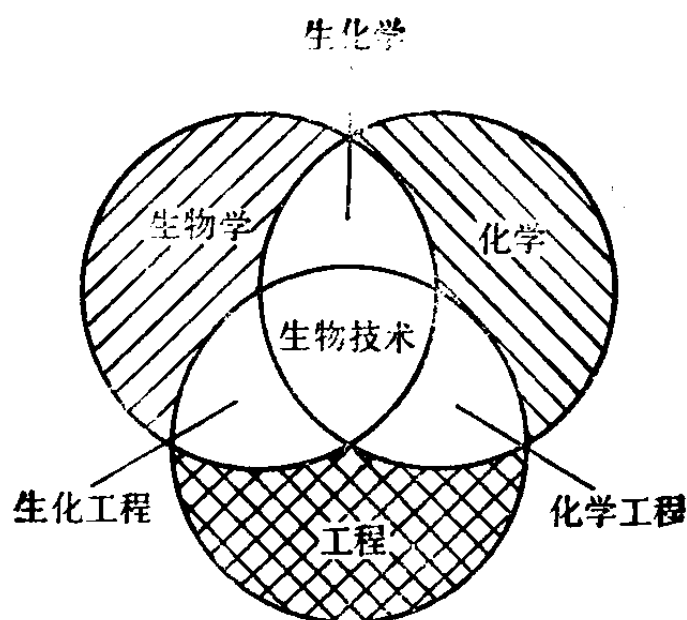


图 1-4 生物技术与各学科的关系

四、生物技术下游处理

近年自基因工程的兴起，人们针对与医疗应用蛋白质，多肽类具有生理活性物质的提取、纯化问题，提出并强调了下游处理，其原因是基因工程的一级产物具有下列特点：(i)产量较低——低于传统发酵产物几个数量级，一般以每升若干毫克计量；(ii)较传统发酵产品不稳定；(iii)发酵液或菌体裂解液中含有大量杂蛋白，干扰了目标底物的提取与纯化。

下面讨论哺乳动物蛋白在*E. coli*高表达后的下游处理。

70年代兴起的基因工程，使人们很快地看到这一新技术的巨大潜力。迄今为止，通过多种高效大肠杆菌载体系统的构建和应用，使许多原核和真核蛋白，特别是哺乳动物蛋白都可在大肠杆菌中成功地生产。这些蛋白高水平表达是由于运用高拷贝质粒技术所克隆的基因能在大肠杆菌中高效表达，蛋白的积累可达到大肠杆菌体总蛋白的50%。这样高水平的产量为制药