

SHENGWU JISHU

# 生物技术

## 在核工业中的应用

ZAI HE GONG YE ZHONG DE YING YONG

徐伟昌 编著



国防科技大学出版社

NATIONAL UNIVERSITY OF DEFENSE TECHNOLOGY PRESS

# 生物技术在核工业中的应用

徐伟昌 编著

国防科技大学出版社  
湖南·长沙

**图书在版编目(CIP)数据**

生物技术在核工业中的应用/徐伟昌编著. —长沙:国防科技大学出版社,2002.10

ISBN 7-81024-950-9

I.生… II.徐… III.生物技术—应用—原子能工业 IV.TL-39

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 033312 号

国防科技大学出版社出版发行

电话:(0731)4572640 邮政编码:410073

E-mail: gfkdcbs@ public.cs.hn.cn

责任编辑:罗青 责任校对:黄煌

新华书店总店北京发行所经销

国防科技大学印刷厂印装

开本:787×1092 1/16 印张:10.75 字数:250千

2002年10月第1版第1次印刷 印数:1-1500册

\*

定价:18.00元

# 前 言

生物技术(Biotechnology)或生物工程(Bioengineering)是现代的前沿科学,也是 21 世纪的热点学科。

生物技术是人类对生物资源的利用和改造,并为人类造福和人类发展提供服务的技术。

现代生物技术的应用涉及非常广泛的领域。除了生物基因和基因工程、生物制药外,生物技术还在环境工程、采矿、选矿、冶金、化学工业、食品工业等工业部门得到了广泛的应用。生物技术已逐步渗透到很多传统工业的各个领域,并有逐步取代某些传统技术的趋势。

生物技术在核工业领域中有广泛的应用,如应用微生物寻找铀矿床,用微生物开采铀矿,用生物指示剂监测放射性环境污染,用生物技术治理放射性环境污染,在核废料处理中必须注意微生物的影响,等等。到目前为止,还没有见到讲述生物技术在核工业领域中应用的系统教材和专著。为了扩大和推广生物技术在核工业各个领域中的应用,造福子孙后代,十分有必要编著一本生物技术在核工业各个领域应用的书籍。本书是根据作者长期的工作经验并综合了国内外大量文献编著而成。

本书编著工作的具体分工是:第三、四、五章和第一章的部分内容由徐伟昌编写,第二章由王清良、刘清编写,第一章由聂春龙编写,王翠苹参加了第三章、第五章部分内容的编写,此外夏良树参加了第五章部分内容的编写,王宝娥参加了第三章部分内容的编写,最后由徐伟昌统一定稿。

本书可供从事核工业和生物工程专业科技人员参考,也可作为高等院校环境专业、铀矿开采专业、铀矿地质专业的教材。

本书在编著中得到了南华大学科研处和建筑资源环境学院的热心关怀和指导,得到了国防科技大学出版社的大力支持,在此一并表示诚挚的感谢。

由于作者水平所限,加之时间仓促,书中不当之处在所难免,敬请专家和读者批评指正,以便再版时改进。

编 者  
2002.5

# 目 录

## 第一章 生物技术概论

|                   |       |
|-------------------|-------|
| 1.1 生物技术定义 .....  | ( 1 ) |
| 1.2 生物技术的发展 ..... | ( 3 ) |
| 1.3 生物技术的内容 ..... | ( 5 ) |
| 1.3.1 基因工程 .....  | ( 5 ) |
| 1.3.2 酶工程 .....   | ( 6 ) |
| 1.3.3 细胞工程 .....  | ( 7 ) |
| 1.3.4 发酵工程 .....  | ( 8 ) |
| 1.4 生物技术的应用 ..... | ( 9 ) |

## 第二章 生物浸铀

|                                |        |
|--------------------------------|--------|
| 2.1 浸矿微生物的种类和特性 .....          | ( 13 ) |
| 2.1.1 硫杆菌属 .....               | ( 13 ) |
| 2.1.2 钩端螺菌属 .....              | ( 15 ) |
| 2.1.3 硫化杆菌属 .....              | ( 15 ) |
| 2.1.4 嗜酸嗜热古生菌纲 .....           | ( 15 ) |
| 2.2 浸矿微生物的培养基、采集、分离纯化和保藏 ..... | ( 16 ) |
| 2.2.1 浸矿微生物的培养基 .....          | ( 16 ) |
| 2.2.2 浸矿微生物的采集、分离 .....        | ( 19 ) |
| 2.2.3 浸矿微生物的纯化 .....           | ( 20 ) |
| 2.2.4 菌种的保藏 .....              | ( 22 ) |
| 2.3 浸矿细菌计数及细菌生长曲线 .....        | ( 22 ) |
| 2.3.1 测生长量 .....               | ( 23 ) |
| 2.3.2 测细胞数 .....               | ( 23 ) |
| 2.3.3 浸矿微生物的生长曲线 .....         | ( 25 ) |
| 2.4 浸矿细菌活性的测定 .....            | ( 27 ) |
| 2.4.1 亚铁离子氧化速率法 .....          | ( 27 ) |
| 2.4.2 细菌耗氧速率法 .....            | ( 28 ) |
| 2.5 浸矿微生物的育种 .....             | ( 28 ) |
| 2.5.1 驯化培养 .....               | ( 29 ) |

|                           |      |
|---------------------------|------|
| 2.5.2 诱变育种 .....          | (30) |
| 2.5.3 杂交育种 .....          | (31) |
| 2.5.4 基因工程育种 .....        | (32) |
| 2.6 微生物浸矿的基本原理 .....      | (33) |
| 2.6.1 直接作用理论 .....        | (33) |
| 2.6.2 间接作用机理 .....        | (33) |
| 2.6.3 微生物浸矿复合作用 .....     | (34) |
| 2.6.4 破硫膜作用说 .....        | (34) |
| 2.7 细菌浸出动力学 .....         | (34) |
| 2.8 细菌浸出与铀矿石矿物学 .....     | (36) |
| 2.9 细菌浸出影响因素 .....        | (38) |
| 2.9.1 矿石性质的影响 .....       | (38) |
| 2.9.2 温度的影响 .....         | (40) |
| 2.9.3 pH值的影响 .....        | (43) |
| 2.9.4 培养基成分的影响 .....      | (44) |
| 2.9.5 通气量的影响 .....        | (44) |
| 2.9.6 金属盐类的影响 .....       | (45) |
| 2.9.7 铁离子的影响 .....        | (46) |
| 2.9.8 光线的影响 .....         | (48) |
| 2.9.9 表面活性剂的影响 .....      | (48) |
| 2.9.10 金属离子的影响 .....      | (49) |
| 2.10 细菌浸铀试验方法 .....       | (51) |
| 2.10.1 试验矿样的准备 .....      | (51) |
| 2.10.2 搅拌(摇瓶)试验 .....     | (51) |
| 2.10.3 柱浸(渗滤浸出)试验 .....   | (52) |
| 2.10.4 现场试验 .....         | (53) |
| 2.11 细菌浸铀工业应用 .....       | (58) |
| 2.11.1 铀矿石细菌堆浸 .....      | (58) |
| 2.11.2 地浸采铀细菌作氧化剂 .....   | (60) |
| 2.11.3 细菌渗滤浸出 .....       | (67) |
| 2.11.4 原地爆破浸出 .....       | (69) |
| 2.12 生物浸铀存在的问题与发展前景 ..... | (71) |
| 2.12.1 生物浸铀存在的问题 .....    | (71) |
| 2.12.2 生物浸铀未来的发展方向 .....  | (71) |

### 第三章 生物技术治理放射性环境污染

|                                   |      |
|-----------------------------------|------|
| 3.1 放射性环境污染的产生 .....              | (75) |
| 3.1.1 铀、钍、稀土矿山生产过程中放射性污染的产生 ..... | (75) |

|                                        |       |
|----------------------------------------|-------|
| 3.1.2 非放射性生产原料产生的放射性污染 .....           | (79)  |
| 3.1.3 核工厂放射性废物所造成的放射性污染 .....          | (82)  |
| 3.1.4 核事故所造成的放射性污染 .....               | (89)  |
| 3.1.5 核试验和核动力船舶引起的海洋放射性污染 .....        | (96)  |
| 3.2 生物对铀生产企业产生的含铀放射性废水的治理 .....        | (98)  |
| 3.2.1 生物对水溶液中铀的吸附作用 .....              | (98)  |
| 3.2.2 微生物对铀的吸附及其影响因素 .....             | (104) |
| 3.2.3 微生物对铀的还原及其影响因素 .....             | (120) |
| 3.2.4 生物吸附机理 .....                     | (121) |
| 3.3 生物对其他放射性元素的吸附研究 .....              | (128) |
| 3.3.1 微生物对 <sup>241</sup> Am 的吸附 ..... | (128) |
| 3.3.2 水生植物对水体中放射性铯的吸附 .....            | (132) |
| 3.3.3 海藻对 <sup>99</sup> Tc 的吸收 .....   | (133) |
| 3.4 微生物吸附剂的固定化技术 .....                 | (134) |
| 3.4.1 固定化技术 .....                      | (134) |
| 3.4.2 生物吸附剂固定化及应用 .....                | (139) |
| 3.5 生物治理放射性环境污染的发展前景 .....             | (140) |
| 3.5.1 生物磁分离 .....                      | (140) |
| 3.5.2 单克隆抗体技术 .....                    | (140) |
| 3.5.3 高生物吸附性微生物的选择 .....               | (140) |
| 3.5.4 分子生物工程 .....                     | (140) |

## 第四章 生物寻找铀矿床

|                              |       |
|------------------------------|-------|
| 4.1 生物寻找铀矿床的原理 .....         | (145) |
| 4.2 野外工作方法 .....             | (146) |
| 4.3 样品的室内处理及测量方法 .....       | (147) |
| 4.4 野外试验效果 .....             | (147) |
| 4.4.1 沽源 460 铀矿床 .....       | (147) |
| 4.4.2 美国亚利桑那州北部的含铀角砾岩筒 ..... | (149) |

## 第五章 放射性污染的生物监测及修复

|                          |       |
|--------------------------|-------|
| 5.1 放射性污染的生物监测 .....     | (151) |
| 5.1.1 放射性污染的指示生物 .....   | (151) |
| 5.1.2 放射性生物监测方法 .....    | (152) |
| 5.2 放射性污染的修复 .....       | (153) |
| 5.2.1 生物修复 .....         | (154) |
| 5.2.2 微生物修复 .....        | (158) |
| 5.2.3 生物修复技术的可行性评价 ..... | (159) |

# 第一章 生物技术概论

当今社会是新技术革命的时代,科学上的新发现及其在技术中的应用,都以人们预料不到的高速度迅速发展。新技术不断被突破,发明创造层出不穷。越是尖端技术,其革新的速度越快,更新换代也越加显著。新技术革命引起新的产业革命,促使世界产业结构朝着尖端技术化、知识密集化、高增值化方向迅速变化。领头的产业正在更替,以微电子、新材料和生物技术为核心的新型产业群将成为肩负世界未来的战略产业。

新技术革命不但对人们提出了严峻的挑战,而且也提供了巨大的机会。现有产业和企业能否在激烈竞争中继续生存下去,取决于企业的应变能力,即能否大胆地砍掉不适应新时代的部分,同时尽快吸收和消化最尖端技术,加速企业改造,使之成为劳动生产率高的产业和企业。企业的经营者正面临着命运的抉择。对于国家来说,能否采取有效措施促进尖端技术领域的开发研究,这是关系到国家竞争力的战略任务。生物技术就是这类必须优先考虑的最尖端技术之一。

自 20 世纪 70 年代以来,生物技术以其迅猛的发展给人类社会和经济增长带来了巨大的影响,正在或即将使人们的某些梦想和希望变为现实,它已成为当今科技发展最富魅力的高新技术之一。生物技术的应用领域相当广泛,它将推动一系列新产业群的发展,而且这些产业所需投资较少,产值却非常高。当前,生物技术已在医药、农业、化工、环保等领域中崭露头角。一批生物工程药物,例如人生长激素、胰岛素、干扰素和各类细胞生长因子与调节因子等,已陆续投放市场,其意义远比抗生素的发现和应用更为深远。再例如农业,使用细胞融合技术和基因重组技术,可以生产出不受气候条件限制和抗病虫害的优质高产农作物品种,从而极大地提高了农作物的劳动生产率。同样,在核工业领域,通过诱变驯化或者基因重组工程菌,在铀矿的找矿、开采、冶炼、核污染监测与治理等方面发挥着常规方法所无法比拟的优势。21 世纪是生物学的世纪,生物学的发展和生物技术的突破,将给人类的未来带来美好前景。

那么,什么是生物技术呢?

## 1.1 生物技术定义

从广义上说,生物技术原是最古老的技术,其历史几乎与人类的文明史同时开始。几乎可以认为,人类农业活动的开始便是生物技术的发端。当我们的祖先把第一粒种子投到土地上时,生物技术即宣告出现。早在石器时代,我们的祖先就掌握了酿酒技术;公元前 221 年,我国人民就能制作酱油、酿醋;公元前 200 年,我国最早的诗集《诗经》中就已提到用厌氧菌浸渍处理亚麻;古埃及石刻也显示,古埃及人已能对枣椰树进行交叉授粉以改

善果实的质量,该技术一直沿用至今。但直至微生物的发现和微生物学的产生、经典遗传学的建立以及化学理论与技术的出现,古老的生物技术才逐步地吸收并运用了这方面的知识和技术,使之纳入了科学技术的轨道。半个世纪前抗生素工业的兴起标志着发酵技术手工操作历史的终结而堂堂正正地进入了工程技术的队伍。然而,传统的生物技术虽影响到了国计民生的诸多方面,影响到了国民经济的发展,影响到了其他科学技术的发展,但是,总的看来,这类影响尚不具备划时代的意义和战略价值。

随着生物学,特别是分子生物学的最新理论成就和当代主要的尖端技术如微电子技术和计算机技术对生物技术的渗透,当代的生物技术演变成为一种高技术,能够在分子、亚细胞、细胞、组织和个体等不同层次水平上揭示生物结构和功能的关系,从而使人们得以运用生物学的方法以及现代工程科学所开拓的新技术和新工艺,对生物体进行不同层次的设计、控制、改造或模拟,从而产生了巨大的生产力。例如,基因拼接技术和重组技术为创造生物新物种和新品系提供了最有希望的手段。通过发酵工程和生化工程技术可以实现生物产品大规模、商品化生产。生物技术还可用来进行各种生物材料和非生物材料的加工,以提供新材料和新元件。新产业革命的重要发展方向是发展低能、节能和脱能型新产业,并寻找新的能源,以摆脱当前能源的限制,人们对此也将希望寄托在生物技术上。现代生物技术能够帮助人们更好地了解生物、了解环境、了解我们自己,从而提供更好的社会服务,包括消除水和空气污染、保护生态环境、提高医疗技术、防治疾病和提高劳动生产率等。

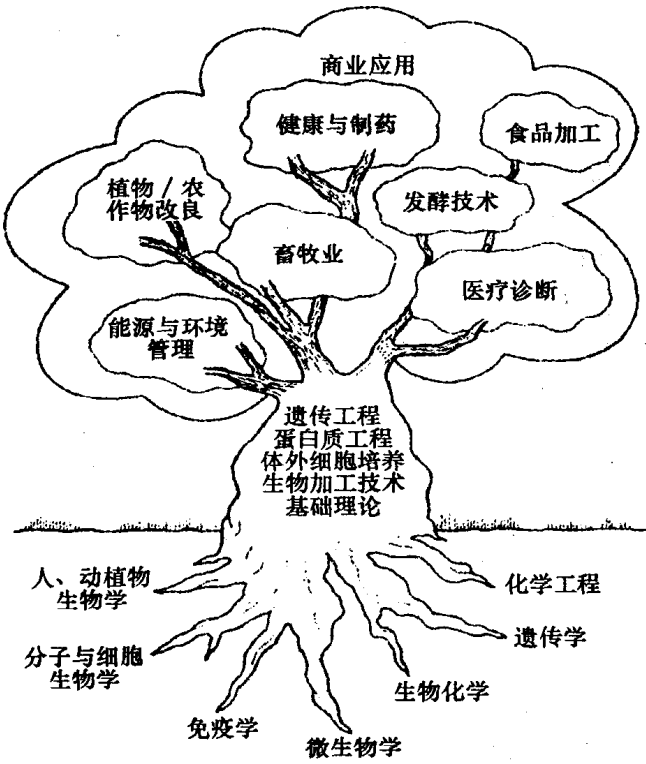


图 1-1 生物技术树形图

根据 1986 年国家科委制定的《中国生物技术政策纲要》,可以这样给现代生物技术下一个定义:生物技术(Biotechnology)是以现代生命科学为基础,结合先进的工程技术手段和其他基础学科的科学原理,按照预先的设计改造生物体或加工生物原料,为人类生产出所需产品或达到某种目的。先进的工程技术手段是指基因工程、细胞工程、酶工程和发酵工程等新技术;改造生物体是指获得优良品质的动物、植物或微生物品系;生物原料是指生物体的某一部分或生物生长过程中所能利用的物质,如淀粉、糖蜜和纤维素等有机物,也包括一些无机化合物,甚至某些矿石;为人类生产出所需的产品包括粮食、医药、食品、化工原料、能源和金属等各种产品;达到某种目的则包括疾病的预防、诊断与治疗、环境污染的检测与治理和矿石开采等。生物技术与相关产业可用树形图来表示,见图 1-1。

## 1.2 生物技术的发展

现代生物技术形成的标志是 1973 年美国加利福尼亚大学旧金山分校的 Herber Bouer 教授和斯坦福大学的 Stanley Cohen 教授合作进行的人类历史上第一次有目的的基因重组实验。现代生物技术以分子生物学、细胞生物学、微生物学、免疫学、遗传学和生理学等学科为支撑,结合了化学、化工、计算机和微电子等学科,从而形成了一门多学科相互渗透的综合性学科。

现代生物技术领域的研究使用了大量的、计算机控制的、自动化程度高的先进仪器和设备,如超速离心机、电子显微镜、高效液相色谱仪、DNA 合成仪和 DNA 序列分析仪等,这些代表了现代微电子学和计算机技术与生物技术的结合和渗透。没有这种结合与渗透,生物技术研究就不可能深入到分子水平,就不会有今天的现代生物技术。

分子生物学、结构生物学等生物学前沿学科的不断深入发展,使现代生物技术作为一门新兴的高技术学科得到迅猛发展,它作为生命科学世纪的主要因素之一,受到了各国的高度重视。我国的教育和科研部门也给予极大关注。在教育方面,许多高校设立了生物技术专业;在科研方面,从“863”计划到“973”计划,国家以极大的投入将生物技术列为各类高技术之首。我国早在 1986 年初制定的《高新技术研究发展计划纲要》中就将生物技术列于航天技术、信息技术、激光技术、新能源技术和新材料技术等高技术之首。

生物技术在医药方面进行得最早,进展也最快。目前通过基因重组创造的工程菌,通过发酵已经产生很多珍贵的地球上奇缺的药品。诸如人胰岛素、生长激素、干扰素、组织血纤维蛋白溶酶原激活剂(TPA)、促红细胞生成素(EPO)和乙型肝炎基因工程疫苗等产品已经陆续不断投入市场。另外,还有多种灵敏度高的诊断疾病的单克隆抗体诊断药盒也已经在市场上开始销售。生物技术在农业和畜牧业上的应用,也引起了世界各国的关注,在改良高等动植物性状、创造优良品种、快速繁殖等方面都取得了比预期要快得多的进展。同时,生物技术也快速而广泛地渗透到其他许多产业,如轻工、食品、石油化工、环境保护和矿产开采等领域。细菌浸出铀矿石最早被葡萄牙的“镭公司”应用,他们在 1956 年的第二届国际和平利用原子能会议上,发表了“铀的自然浸出法”的研究报告<sup>[1]</sup>。从此,细菌浸出研究和应用开始受到各国的重视。在废水治理方面,美国经过数十年对含铀的废

水采用了各种方法进行治理,目前,已采用成本较低、治理效果更好的生物技术进行治理,此方法现推广至印度、巴西、巴基斯坦等一些不发达的国家。

经过 20 多年的努力,我国生物技术的发展也有了一定的基础和相当的规模,已经取得了一定的成绩。如我国利用重组 DNA 的方法将乙型肝炎病毒表面抗原基因在大肠杆菌和酵母中表达获得成功,还完成了乙型肝炎重组牛痘病毒。另外,胰岛素和  $\beta$ -干扰素基因也表达成功。人工合成脑啡肽转移到大肠杆菌中也获表达。在农业上如马铃薯脱毒快速繁殖种苗、花药培养、水稻和玉米原生质体培养、再生植株等研究工作都达到了世界先进水平,有的品种已推广到大田。在核工业领域,我国曾于 20 世纪 70 年代初,在湖南两矿(即 711 矿和水口山矿务局柏坊铜矿)进行了细菌浸出铀的研究<sup>[2]</sup>。

下面列出了现代生物技术发展史上经历的一些重要事件<sup>[3]</sup>:

- 1917 Karl Ereky 首先使用“生物技术”这一名词
- 1943 大规模工业生产青霉素
- 1944 Avery、Macleod 和 McCarty 通过试验证明 DNA 是遗传物质
- 1953 Watson 和 Crick 发现了 DNA 的双螺旋结构
- 1958 Crick 提出了遗传信息传递的中心法则
- 1961 Monod 和 Jacob 提出操纵子学说
- 1966 Nireberg 等人破译遗传密码
- 1970 Smith 和 Wilcox 分离出第一个限制性内切酶 Hind II
- 1970 Baltimore 和 Temin 等人发现逆转录酶,打破了中心法则,使真核基因的制备成为可能
- 1971 Crick 对中心法则做了补充,提出了三角形中心法则
- 1972 Khorana 等人合成了完整的 tRNA
- 1973 Boyer 和 Cohen 建立了 DNA 重组技术
- 1975 Kohler 和 Milstein 建立了单克隆抗体技术
- 1976 第一个 DNA 重组技术规则问世
- 1976 DNA 测序技术诞生
- 1977 Itakura 实现了真核基因在原核细胞中的表达
- 1978 Genentech 公司在大肠杆菌中表达出胰岛素
- 1980 美国最高法院对经基因工程操作的微生物授予专利
- 1981 第一台商业化生产的 DNA 自动测序仪诞生
- 1981 第一个单克隆抗体诊断试剂盒在美国被批准使用
- 1982 用 DNA 重组技术生产的第一个动物疫苗在欧洲获得批准
- 1983 基因工程 Ti 质粒用于植物转化
- 1988 美国对肿瘤敏感的基因工程鼠授予专利
- 1988 PCR 技术问世
- 1990 美国批准第一个体细胞基因治疗方案
- 1997 英国培养出第一只克隆绵羊多莉
- 1998 美国批准爱滋病疫苗进行人体试验

## 1.3 生物技术的内容

### 1.3.1 基因工程

1972年,美国斯坦福大学以科恩为首的研究小组,运用限制性内切酶和DNA连接酶,首次实现了DNA的重组。1973年,他们又将外源性基因插入质粒载体,并导入到大肠杆菌细胞,实现了表达,首次取得了基因转移的成功,宣告基因工程的诞生。

所谓基因工程,就是指在生物体外,用人工方法将甲种生物的遗传物质与乙种生物的遗传物质重新组成一体,这种人为进行遗传物质(DNA或RNA)的重组就是基因操作或DNA重组。

基因工程基础理论研究方面的重大突破有两点:一是20世纪50年代出现的Watson和Crick的DNA双螺旋结构;二是60~70年代出现的Monod和Jacob的操纵子学说。这两个学说的出现,是历史性突破的标志。

具体的基因工程技术都是在分子水平上进行的,一般分为下述几步:

#### 1. 制备所需要的基因(即目的基因)

目的基因就是人们依据工程设计中所需要的某些DNA分子的片段。它含有一种或几种遗传信息的全套遗传密码。DNA的种类繁多,每个DNA分子所包含的基因也很多,但它在细胞内的含量却很少。因此,要获得一定量的目的基因是一件十分复杂细致的工作。目前采用的分离、合成目的基因的方法有多种,如超速离心法、噬菌体摄取法、反录酶法和霰弹枪法等。

#### 2. 体外重组DNA

首先选择目的基因所适合的基因运载工具(载体),然后在生物体外使目的基因的DNA片段与载体的DNA结合起来,形成杂合分子。为此,要用限制性内切酶在特定的切点上,把载体的DNA切开,然后,用DNA连接酶把目的基因与载体DNA切断处连接起来,形成一个完整的DNA杂合分子。这也是基因工程中最重要的一步——体外重组DNA。

#### 3. 基因转移

将重组的DNA杂合分子,向选定的生物受体细胞(或叫宿主细胞、寄主细胞)中转移(亦称转化),让重组的DNA杂合分子在受体细胞中自主复制、转录和翻译得以表达。

#### 4. 细菌的筛选

一般引入受体细胞的外源DNA分子,往往只有极少部分能实现复制表达功能。因此,工程的最后一步还必须进行一番细致的筛选工作,把转化了的和没有转化的细胞区分开来。在转化的受体细胞中,外源DNA所携带的遗传信息得到了表达(这主要是看外源基因能否指导蛋白质的合成),受体细胞就具有了新的遗传性状,这就达到了工程的预期目的——改变了生物的遗传特性或者造出了某种新的生命类型<sup>[4]</sup>。

### 1.3.2 酶工程

酶是一种特殊的催化剂。作为催化剂,它具备一般催化剂的特性,即参与化学反应过程时可以改变化学反应的速度,但不改变化学反应的性质,即不改变反应的方向和平衡点。在反应前后,酶的组成和质量不发生变化。酶同时又是一种不同于一般催化剂的生物催化剂。酶分子都是由许许多多氨基酸分子组成的高分子蛋白质(核酶例外),分子量在1万~100万之间,它作为催化剂具有高效率、高度专一性和活泼可调性等特点。酶的功能特异,威力非凡,生物的生长、发育、繁殖、营养、运动以及发酵、呼吸、光合作用、神经刺激和免疫反应无一不受到酶的催化作用。已知酶的种类约有8000种,它们都是由生物细胞合成的一类特殊蛋白质,细胞的一切活动都离不开酶的推动。

所谓酶工程,就是用人工的方法对酶进行分离、提纯、固化以及加工改造,使其能够充分发挥快速、高效、特异的催化功能,更好地为人类生产出各种有用的产品,或促进某些生化反应过程,从而达到所需要的目的。

早期的酶工程技术主要是从动物、植物和微生物材料中提取、分离和纯化制造各种酶制剂,并将其应用于化工、食品和医药等工业领域。20世纪70年代后,酶的固定化技术取得了突破,使固定化酶、固定化细胞、生物反应器与生物传感器等酶工程技术迅速获得应用。随着第三代酶制剂的诞生,应用各种酶工程技术制造精细化工产品和医药用品及其在化学检测、环境保护等各个领域的有效应用,使酶工程技术的产业化水平在现代生物技术领域中名列前茅,并正在与基因工程、细胞工程和发酵工程融为一体,形成一个具有经济效益与社会效益的新型工业门类。

酶工程的开发研究主要包括:开发生产各种生物催化剂——新的酶;研究解决各种酶的分离、提纯技术;将酶或者含酶的细胞组织进行固定化的技术;利用固定化的酶(或细胞)进行生产、催化反应等应用的技术;根据化工生产、临床诊断和环境检测等实际需要与计算机技术结合,研究开发新型的生物反应器、生物传感器和生物芯片等现代生物电子器件。

酶工程主要包括以下四个方面:

#### 1. 酶的生产

酶的早期来源为动物脏器,如从哺乳动物的胃中提取蛋白酶,从植物种子,如无花果中提取无花果蛋白酶,从菠萝中提取菠萝蛋白酶。现在主要以微生物作为酶源。

#### 2. 酶的分离纯化

酶本身是蛋白质,所以用于蛋白质分离纯化的方法一般也适用于酶的分离纯化,此外,酶是具有催化功能的蛋白质,因此,根据酶与底物、底物结构类似物、辅助因子和抑制剂等的特异亲和力,可发展酶独特的亲和层析技术。酶的分离提纯可分为四个要点:酶源选材、匀浆方法、分离步骤和结晶方法。

#### 3. 酶的固定化技术

在酶的使用过程中,由于酶、底物和产物混在一起,给酶的回收及进一步的分离纯化带来困难,于是出现了酶的固定化技术,即将酶与不溶于水的载体结合,制备固定化酶。

固定化所采用的酶可以是经提取分离后得到的有一定纯度的酶,也可以是结合在菌体(死细胞)或细胞碎片上的酶或酶系。

酶的固定化技术多种多样,归纳起来可分为三类:吸附法(吸附在活性炭、硅藻土等固体吸附剂上)、包埋法(包埋在琼脂、火棉胶等多孔载体中)和结合法(通过共价键或离子键与载体结合)<sup>[5]</sup>。

#### 4. 酶反应器

它是利用酶为细胞培养(或发酵)或酶反应提供良好的反应环境的设备,也称发酵罐或生物反应器。

### 1.3.3 细胞工程

细胞工程是应用细胞生物学和分子生物学的方法,在细胞水平进行的遗传操作。主要包括细胞培养、细胞融合技术、细胞重组以及遗传物质的转移。

#### 1. 细胞培养技术

细胞培养是细胞工程中的一项基本技术,即把细胞从体内取出,然后接种在特制的培养器皿内,并给予必要的生长条件,使它们在体外继续生长与增殖。细胞培养为生物的研究和利用提供了诸多的便利条件。首先,研究者可根据不同的研究内容和目的,十分方便地在细胞培养基中添加或减去某些特殊的物质,如激素或者生长因子等,这样就可以确切地了解这些因子对细胞生长发育的效应及其生理、生化本质。其次,可以获得比较均一的细胞群体,利于细胞的生理生化分析以及不同细胞之间的相互作用的研究,进而为生物利用创造条件。近 20 年来细胞生物学的一些重要理论研究的进展,例如细胞全能性的揭示、细胞周期及其调控、癌变机理与细胞衰老的研究、基因表达与调控等,都是与细胞培养技术分不开的。

#### 2. 细胞融合技术

细胞融合技术是 20 世纪 60 年代创立的,是指在一定的条件下,将两个或多个细胞融合为一个细胞的过程,又被称为细胞杂交。细胞融合最早开始于 1959 年奥凯达的研究工作,他们发现利用高浓度的 HYJ 病毒能够使悬浮培养中的动物肿瘤迅速地融合起来,形成多核的巨细胞。以后大量的研究证明,培养的动物细胞既能彼此自发地融合,也能通过一些病毒的诱导作用而随机地融合。尤其是证明了不同来源的(不同细胞株)两种动物细胞,经过混合培养可以产生出新型的杂交细胞,从而为培育具有双亲优良性状的新生命类型的细胞工程奠定了技术基础。当前,细胞融合技术已经成为遗传转化实验与研究的最有效的手段之一。

#### 3. 细胞重组

细胞重组是在体外条件下,运用一定的实验技术从活细胞中分离出各种细胞的结构或组成“部件”,再把它在不同细胞之间重新进行装配,成为具有生物活性的细胞。动物的无性繁殖就是依赖核移植或胚胎移植技术的成功。细胞重组主要包括核移植和细胞器移植。

#### 4. 遗传物质转移

遗传物质转移主要指基因在细胞水平上的转移,目前在动植物中进行基因转移的方法包括载体法和直接导入法等。

#### 1.3.4 发酵工程

很久以前人们就发现酒暴露于空气中会变酸,熟大米加曲保温两天会生成酒,并把这种现象称为发酵。发酵工程是以工业生产为目的,通过微生物的代谢活动以获得抗生素、氨基酸、核酸等医药、食品、化工产品以及进行生物材料和非生物材料的加工过程。现代发酵技术还包括流加法、半连续法、前体添加法和固定细胞法等多种技术手段,而且天然的微生物一般不能满足发酵工业生产的要求,需要按照人类的意志,对其遗传特性进行改造,使它们生产出更多更好的产品。

发酵工程的过程一般可以分成四个阶段。

##### 1. 发酵原料的预处理

发酵原料是很丰富的,如薯类、谷类等,但许多工业微生物都不能直接利用这些发酵原料,通常需要将它们进行粉碎、蒸煮和水解成葡萄糖以供给微生物利用。在山薯干生产酒精、味精的过程中,就需要对原料进行预处理。

##### 2. 发酵过程的准备

发酵前必须进行菌种制备与无菌消毒。无菌消毒是菌种制备与发酵的必要条件。一般在发酵前将发酵原料装入发酵罐中,通入 98kPa 的蒸汽高温灭菌,冷却后,在无菌条件下接入菌种。在发酵过程中要绝对保证无菌,即没有目标微生物以外的微生物存在,这是发酵成功与否的关键。对于好氧发酵,还需要通入无菌空气。

##### 3. 发酵过程

由于使用的微生物不同,其代谢规律不一样,因而有厌氧发酵与好氧发酵两种方法。厌氧发酵亦称静置发酵,如酒精、啤酒、丙酮、丁醇及乳酸等均为厌氧发酵产品,其发酵设备不需供氧,所以设备和工艺都较好氧发酵简单。而好氧发酵在微生物发酵过程中需要消耗大量的氧气,以供代谢的需要,如味精、赤霉素和土霉素等的生产都属此类。

##### 4. 产品的分离与纯化

为了从发酵液中制取符合质量指标的制品,首先要将发酵液进行过滤、离心以除去固体杂质,然后采用吸附法、溶媒萃取法、离子交换法、沉淀法或蒸馏法等,对发酵液中的产品进行进一步的提炼,得到符合要求的目标产品。

现代发酵工程将传统的发酵技术与现代生物技术相结合,而且几乎与各类生物技术都有关。发酵技术与酶技术的关系尤其密切,绝大多数工业用酶是由微生物发酵制备的;另一方面许多传统上用发酵法生产的产品正在逐步改为固定化酶或固定化细胞法生产。发酵法与核酶法生产的区别在于前者需要控制微生物的生长和代谢工程,后者仅涉及酶的反应;因此对工程设备和工艺的要求也不同。在研究发酵和酶的有关工程设备和工艺技术的基础上发展出了另一技术领域,即生化工程技术,也可以把它看成是发酵技术的一个分支<sup>[6]</sup>。

## 1.4 生物技术的应用

生物技术已广泛应用于农业、医药、化工、食品、环境保护、冶金和采矿等领域,而且它比其他传统技术效率更高,更能充分利用资源。生物技术与传统技术的差别在于:第一,它能更精确地控制生物生长、发育和代谢,因而极大地提高生产能力;第二,它能在不同层次上对生物结构进行拆合和重构,因而将不同生物的优良性状集中在一起。例如,不同细菌能够分解不同有毒物质,通过基因转移技术将有关基因集中在一种细菌中,形成所谓“超级细菌”,能够同时分解多种有毒物质。利用基因工程可望创建既优质、又高产、还能抗病虫害的优良农作物;第三,它还能在分子水平上对基因和生物蛋白质进行再设计,创造出自然界不存在的基因、蛋白质和生物新物种,在短期内完成自然界几百万年进化才能完成的过程。新的方法不仅改进了过去传统的方法,而且还可以开辟新的领域。生物技术的应用见图 1-2。

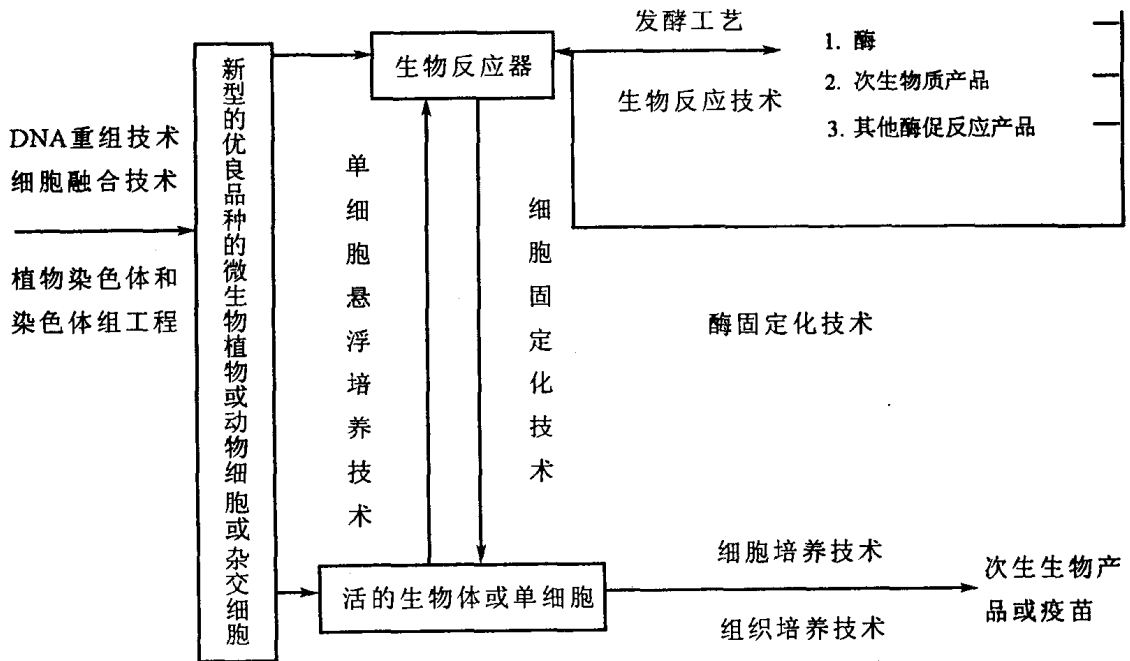


图 1-2 生物技术应用过程

在农业领域,育种方法是提高农作物产量和产品质量的关键,现代生物技术通过细胞工程和基因工程等手段,在农作物品种改良中,克服了传统育种方法周期长、工作量大的缺点,在提高产量、改善品种和增强抗逆性,如抗病、虫、草害和抗旱、抗寒、抗盐等方面,取得了举世瞩目的成就,展现了非常诱人的前景。此外,生物固氮技术,以及对光合作用的研究,为人类最终解决粮食问题打下了基础。

在医药领域,基因工程药品的出现和在疾病诊断中使用生物技术,为人类带来了巨大的裨益。历史上第一种基因药品是 1977 年日本科学家运用基因工程方法获得的,是由大

肠杆菌生产的一种人脑激素“生长激素释放抑制因子”。这种药物的作用是抑制生长激素不合时宜地分泌,可以治疗“肢端肥大症”。相比其他方法,人类曾用 21 年的时间从 50 万头羊脑中提取了 5mg 样品;而用基因工程的方法,用 7.5L 大肠杆菌培养液就可获得 5mg,生物技术的威力可见一斑。现在,人类已经可以生产多种基因药品,如人胰岛素、生长激素、干扰素、多种细胞因子、生长因子和疫苗等。在疾病诊断中,单克隆抗体制备技术、基因探针技术、核酸分子杂交技术和基因治疗等生物技术的应用,开辟了医学的新纪元。

酶工程和发酵工程在化学、食品领域,将为传统产品的技术改造提供一个十分有力的技术手段。在精细化工产品的生产中,由于生物催化过程简单、成本低、效益高,生物技术可能成为该领域的一支主力军,为化工企业带来重大的经济效益。化学、生物学和电子学技术的结合在化学分析领域具有很大的潜力。作为这种结合的生物传感器,将在化工、食品的快速分析中发挥重要作用,并具有广阔的市场。生物技术对食品工业的重要影响将使生产食品的传统方法渐渐被装有动植物细胞或微生物的生物反应器所替代。由于世界人口的剧增,粮食和含蛋白质食品的供应将成为一个严重问题,而生物反应器的生产能力比通常的农业生产大得多。通过基因工程改造生产食品的细胞和微生物将使得该方法变得愈来愈有吸引力。借助生物技术生产食品的趋势还表现在:开发一些新的食品添加剂、维生素、氨基酸以及柠檬酸等,具有十分广泛的市场;人们对人类食品中增加生物蛋白质也有十分迫切的要求。

在环保领域,由于生物技术独特的功能和显著的优越性,使它成为环境保护的理想武器。污染治理生物技术是发酵工程在环境保护方面的具体应用,其最终转化产物大都是无毒无害的稳定的物质,如二氧化碳、水、氮气和甲烷等;用生物方法处理污染物通常可以一步到位,避免了污染物的多次转移,因此它是一种消除污染安全而彻底的手段。生物技术处理有机废料,可以以大部分有机污染物为生物反应过程的反应物(底物),其中一些有机污染物经生物过程处理后还可以转化为沼气、酒精和酵母蛋白等有用物质,从而达到变废为宝的目的,同时生物过程在大多数场合下是在常温常压和接近中性的条件下进行的,产物或副产物原则上都可以较快生物降解,并且都可以作为一种营养资源加以利用,酶促作用的高效率、大规模性都为生物处理技术创造了良好的条件<sup>[7]</sup>。

现代生物技术在核工业领域的生物浸铀、放射性环境污染的治理、微生物寻找铀矿、放射性污染的监测和放射性污染的修复等方面同样有着广泛的应用。

### 1. 生物采铀

利用微生物浸出铀矿石是生物技术在核工业领域中的一个突出的应用例子。微生物浸出是用浸矿微生物将矿石或精矿中有益组分转化为可溶化合物,并有选择性地溶解出来,得到含金属的溶液,实现有益组分与杂质组分或脉石组分的分离过程,最终达到回收有价金属的目的。

自 1956 年葡萄牙的“镭公司”开始研究细菌浸出铀矿石以来,细菌浸出的研究和应用开始受到各国的重视,许多国家相继开展了从贫矿、废矿及表外矿中进行细菌浸出回收铀的研究工作。从 20 世纪 60 年代起细菌浸出铀的技术用于工业生产。加拿大的安大略州伊利奥特湖(Dennison, Elliot Lake)曾是世界上规模最大的原地生物浸出铀矿的场所,该地区的斯坦洛克矿从 1964 年起在采空区利用细菌浸出铀,平均每月回收  $U_3O_8$  6804kg,产量