

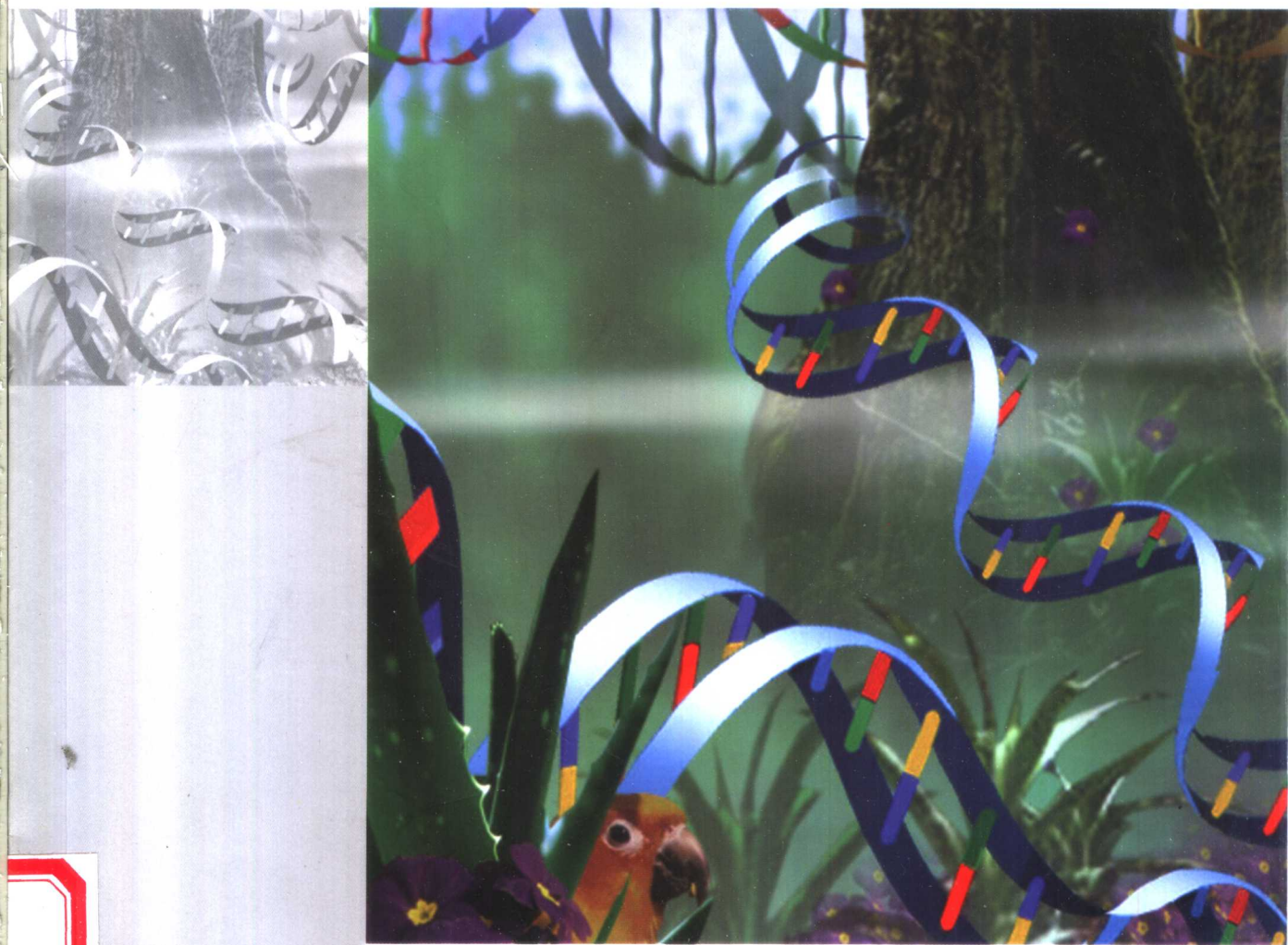
国·家·十·五·重·点·图·书

现代生物化学工程丛书

基因工程

GENETIC ENGINEERING

张惠展 / 编著



华东理工大学出版社

EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY PRESS

Q78
Z119

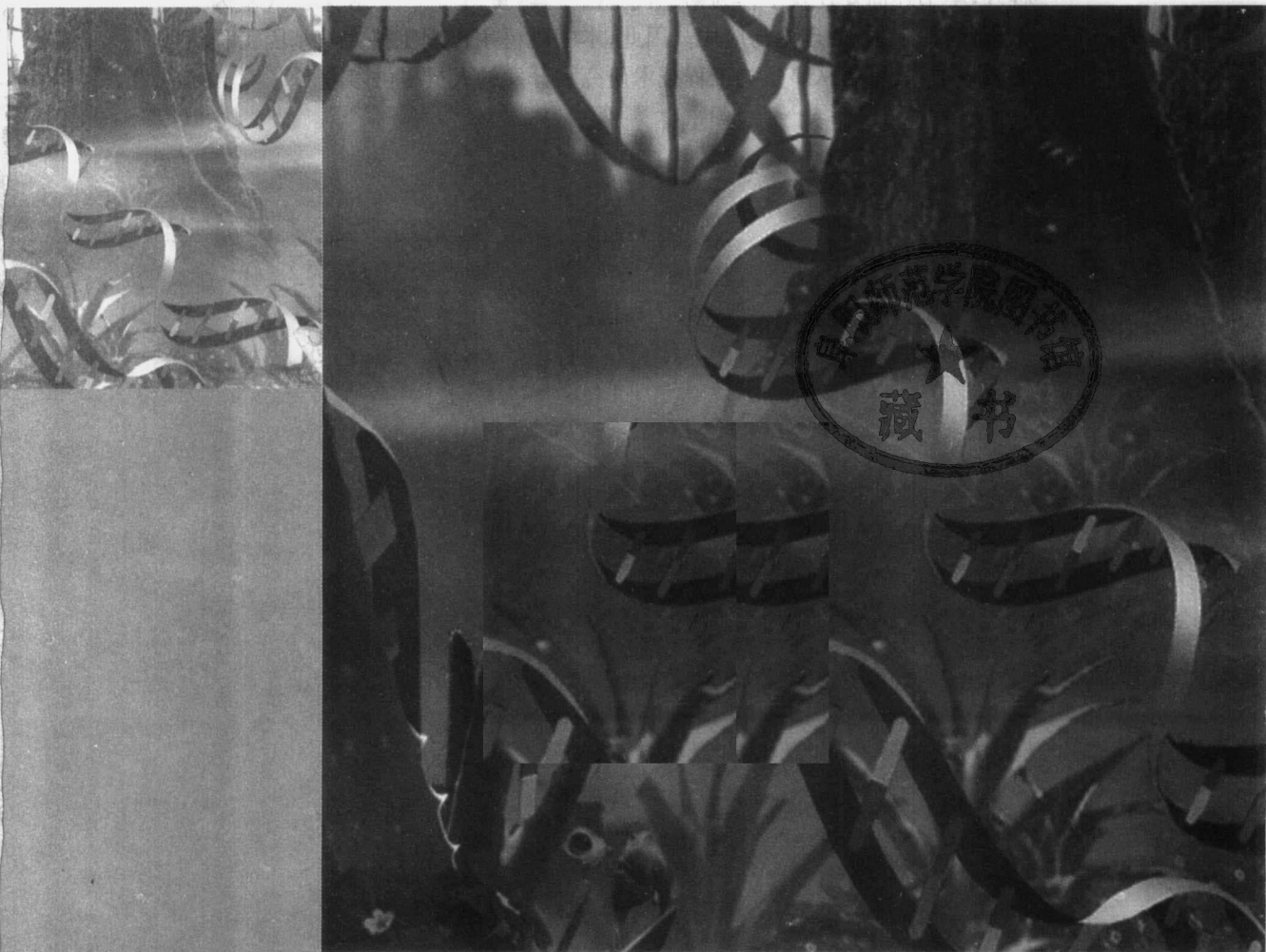
国·家·十·五·重·点·图·书

现代生物化学工程丛书

基因工程

GENETIC ENGINEERING

张惠展 / 编著



Q78
Z119



华东理工大学出版社

EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY PRESS

图书在版编目(CIP)数据

基因工程/张惠展编著. —上海: 华东理工大学出版社, 2005. 8

(现代生物化学工程丛书)

“十五”国家重点图书

ISBN 7-5628-1763-4

I. 基... II. 张... III. 基因-遗传工程
IV. Q78

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 083749 号

“十五”国家重点图书
现代生物化学工程丛书
基因工程

编 著 / 张惠展

责任编辑 / 陈新征

封面设计 / 王晓迪

责任校对 / 金慧娟

出版发行 / 华东理工大学出版社

地址: 上海市梅陇路 130 号, 200237

电话: (021)64250306(营销部)

传真: (021)64252707

网址: www.hdlgpress.com.cn

印 刷 / 上海展强印刷有限公司

开 本 / 787×1092 1/16

印 张 / 29.75

字 数 / 760 千字

版 次 / 2005 年 8 月第 1 版

印 次 / 2005 年 8 月第 1 次

印 数 / 1-4 100 册

书 号 / ISBN 7-5628-1763-4/Q·6

定 价 / 45.00 元

内 容 提 要

本书主要论述基因工程的基本原理、单元操作及应用战略。基本原理涉及基因的高效表达原理、重组表达产物的活性回收原理和基因工程菌(细胞)的稳定生产原理;单元操作包括 DNA 的切接反应、重组 DNA 分子的转化、转化子的筛选与重组子的鉴定;其次,以大肠杆菌、非肠道原核细菌、真菌、昆虫、高等动物、高等植物等基因工程受体系统为主线,结合具体的产业化案例,归纳出基因工程技术的应用战略。除了上述第一代基因工程外,本书还简要述及了作为第二代基因工程(蛋白质工程)和第三代基因工程(途径工程)的理论与应用。因此,本书既可作为理工科大学基因工程的教科书,又可为从事生物工程技术研究和开发的人员提供参考。

前 言

本书系华东理工大学出版社策划编辑的高等院校现代生物化学工程丛书中的一部。

严格地讲,基因工程是获取、整理、破译、编辑和表达生物体遗传信息的一种操作平台与技术,它以细胞生物学、分子生物学和分子遗传学的基本理论体系为指导,在基因的分离克隆、基因表达调控机制的诠释、基因编码产物的产业化以及生物遗传性状的改良等方面日益显示出极高的实用价值。作为20世纪生命科学最辉煌的成就,诞生于70年代初的基因工程技术正在驱动着人类社会生活方式的重大变革。

早在1984年,华东理工大学就已为其生物化学和生物化学工程专业的本科生开设了“基因工程概论”的专业选修课。本书所涉及的基本理论部分主要参照了20年来不断充实的教学讲义和《GENE VIII》(Benjamin Lewin 著,2004年出版);应用战略部分来自《Molecular Biotechnology》(Bernard R. Glick 和 Jack J. Pasternak 著,1994年出版)及近年来发表的相关综述;实验技术部分则由《Recombinant DNA》(James D. Watson, Michael Gilman, Jan Witkowski 和 Mark Zoller 著,1992年出版)、《Molecular Cloning》(J. Sambrook, E. F. Fritsch 和 T. Maniatis 著,1989年出版)以及著者长期积累的经验体会组成。本书撰写的侧重点是基因工程应用的设计思路,并力求以图解的方式加深理解和印象,因而较适合于作为生命科学各专业本科生和研究生的课程教材,同时也可作为有关人员的参考书。

本书部分内容的参考资料由吴海珍博士负责收集整理,叶江硕士设计制作了本书的全部图表,著者在此对她们的辛勤劳动表示衷心的感谢。

真诚欢迎专家和读者对本书提出宝贵意见。

编 者

2005年夏于黄浦江畔

目 录

CONTENTS

1 概述

1.1 基因工程的基本概念	1
1.1.1 基因工程的基本定义	1
1.1.2 基因工程的基本过程	1
1.1.3 基因工程的基本原理	2
1.1.4 基因工程在生物工程中的地位	2
1.2 基因工程的发展历史	5
1.2.1 基因工程的诞生	5
1.2.2 基因工程的成熟	5
1.2.3 基因工程的腾飞	6
1.3 基因工程的研究意义	6
1.3.1 第四次工业大革命	7
1.3.2 第二次农业大革命	7
1.3.3 第四次医学大革命	8

2 DNA 重组克隆的单元操作

2.1 DNA 重组的载体	9
2.1.1 质粒载体	10
2.1.2 λ 双链噬菌体 DNA 载体	15
2.1.3 M13 单链噬菌体 DNA 载体	21

2.1.4	噬菌体-质粒杂合载体	24
2.2	DNA 的体外重组(切与接).....	26
2.2.1	限制性核酸内切酶	26
2.2.2	T4 DNA 连接酶	32
2.2.3	其他用于 DNA 重组的工具酶.....	33
2.2.4	DNA 切接反应的影响因素	36
2.2.5	DNA 分子重组的方法	39
2.3	DNA 重组分子的转化与扩增(转与增)	49
2.3.1	DNA 重组转化的基本概念	49
2.3.2	受体细胞的选择	50
2.3.3	转化方法	53
2.3.4	转化率及其影响因素	56
2.3.5	转化细胞的扩增	57
2.4	转化子的筛选与重组子的鉴定(检).....	57
2.4.1	载体遗传标记法	58
2.4.2	菌落原位杂交法	61
2.4.3	限制性酶切图谱法	68
2.4.4	克隆基因定位法	71
2.4.5	DNA 序列测定法	74
2.4.6	外源基因表达产物检测法	81
2.5	目的基因的克隆	86
2.5.1	鸟枪法	86
2.5.2	cDNA 法	89
2.5.3	PCR 扩增法	99
2.5.4	化学合成法	104
2.5.5	基因文库的构建	108
3	大肠杆菌基因工程	
3.1	外源基因在大肠杆菌中的高效表达原理	113
3.1.1	启动子	113
3.1.2	终止子	118
3.1.3	SD 序列	119
3.1.4	密码子	120
3.1.5	质粒拷贝数	121
3.2	大肠杆菌工程菌的构建策略	122

3.2.1	包涵体型异源蛋白的表达	123
3.2.2	分泌型异源蛋白的表达	127
3.2.3	融合型异源蛋白的表达	132
3.2.4	寡聚型异源蛋白的表达	136
3.2.5	整合型异源蛋白的表达	140
3.2.6	蛋白酶抗性或缺陷型表达系统的构建	143
3.3	重组异源蛋白的体外复性活化	145
3.3.1	包涵体的溶解与变性	145
3.3.2	异源蛋白的复性与重折叠	147
3.4	大肠杆菌工程菌培养的最优化控制	152
3.4.1	细菌生长的动力学原理	152
3.4.2	发酵过程的最优化控制	155
3.4.3	大肠杆菌工程菌的高密度发酵	157
3.5	基因工程菌的遗传不稳定性及其对策	159
3.5.1	工程菌遗传不稳定性的表现与机制	159
3.5.2	改善工程菌不稳定性的对策	161
3.6	利用重组大肠杆菌生产医用蛋白或多肽	163
3.6.1	重组人胰岛素	164
3.6.2	重组人生长激素	168
3.6.3	重组人干扰素	174
3.6.4	重组人白细胞介素	179
3.6.5	重组抗体及其片段	183
4	非肠道原核细菌基因工程	
4.1	芽孢杆菌的基因工程	195
4.1.1	芽孢杆菌的克隆载体系统	195
4.1.2	芽孢杆菌的宿主转化系统	200
4.1.3	芽孢杆菌的分泌表达系统	201
4.1.4	重组芽孢杆菌在耐热性酶制剂大规模生产中的应用	202
4.1.5	重组短小芽孢杆菌在人体蛋白药物生产中的应用	206
4.1.6	重组芽孢杆菌在昆虫毒素蛋白生产中的应用	207
4.2	棒状杆菌的基因工程	211
4.2.1	棒状菌属的克隆表达系统	212
4.2.2	棒杆菌属的宿主转化系统	216
4.2.3	苏氨酸基因工程菌的构建	217

4.2.4	芳香族氨基酸工程菌的构建	221
4.2.5	赖氨酸工程菌的构建	222
4.3	链霉菌的基因工程	224
4.3.1	链霉菌的载体克隆系统	225
4.3.2	链霉菌的宿主转化系统	228
4.3.3	链霉菌的基因表达调控系统	232
4.3.4	链霉菌的蛋白分泌系统	237
4.3.5	利用 DNA 重组技术改良抗生素生产菌	239
4.4	梭菌属的基因工程	240
4.4.1	梭菌属的重组克隆系统	241
4.4.2	利用 DNA 重组技术改良有机溶剂的生产菌	242
4.4.3	纤维素降解的生物机理	244
4.4.4	利用纤维素类物质发酵乙醇	245
4.5	乳酸菌的基因工程	246
4.5.1	乳杆菌属的载体转化系统	246
4.5.2	乳杆菌属的分子遗传学特性	247
4.5.3	利用 DNA 重组技术改良食用乳杆菌的战略	248
4.6	假单孢菌属的基因工程	248
4.6.1	假单孢菌的宿主转化系统	249
4.6.2	生物降解基因的克隆与鉴定	251
4.6.3	生物降解途径的分子设计	252
4.7	硫杆菌属的基因工程	253
4.7.1	煤利用的优势与缺陷	254
4.7.2	煤的生物脱硫与净化	255
4.7.3	硫杆菌属的转化系统	255
4.7.4	工程菌脱硫应用的可行性	256
5	真菌基因工程	
5.1	丝状真菌的基因工程	257
5.1.1	丝状真菌的载体克隆系统	258
5.1.2	丝状真菌的宿主转化系统	261
5.1.3	丝状真菌的表达分泌系统	262
5.1.4	重组曲霉菌在重组异源蛋白生产中的应用	265
5.1.5	β -内酰胺类抗生素生产菌的改良	267
5.2	酵母菌的基因工程	269

5.2.1 酵母菌的宿主系统	269
5.2.2 酵母菌的载体系统	273
5.2.3 酵母菌的转化系统	279
5.2.4 酵母菌的表达系统	283
5.2.5 酵母菌的蛋白修饰分泌系统	290
5.2.6 利用重组酵母生产乙肝疫苗	294
5.2.7 利用重组酵母生产人血清白蛋白	298
6 昆虫基因工程	
6.1 果蝇的基因转化系统	300
6.1.1 果蝇转座元件的结构及特征	300
6.1.2 P元件介导的果蝇杂交不育	302
6.1.3 P元件介导的果蝇经典转化程序	303
6.2 蚊虫和农业害虫的基因改造系统	305
6.2.1 用于非果蝇类昆虫转化的载体	305
6.2.2 用于非果蝇类昆虫转化株筛选的遗传标记	311
6.2.3 农业害虫的基因工程	312
6.2.4 蚊虫的基因工程	317
6.3 家蚕的基因表达系统	320
6.3.1 家蚕的分子生物学	320
6.3.2 基于杆状病毒的家蚕基因表达系统	321
6.3.3 家蚕生物反应器的构建	325
7 高等动物基因工程	
7.1 动物转基因技术的基本概念	328
7.1.1 动物转基因的效率	328
7.1.2 动物转基因的结构	329
7.1.3 动物转基因的表达特性	329
7.1.4 动物转基因的生物学效应	330
7.2 转基因导入动物体内的方法	331
7.2.1 转基因的动物受体细胞系统	331
7.2.2 动物细胞物理转化法	332
7.2.3 动物病毒转染法	333
7.2.4 工程胚胎干细胞法	339
7.2.5 体细胞转基因克隆法	341
7.3 利用动物转基因技术研究基因的表达与功能	342

7.3.1	利用转报告基因探测动物基因组的调控序列	342
7.3.2	利用同源基因灭活细胞内源基因	344
7.3.3	利用反义基因抑制细胞基因表达	345
7.4	利用转基因动物或细胞生产生物大分子	347
7.4.1	动物细胞高效表达异源蛋白的基本原理	347
7.4.2	利用哺乳动物细胞大规模培养技术生产结构复杂的人体蛋白	347
7.4.3	利用动物乳腺组织生产蛋白药物	350
7.5	转基因技术在动物遗传性状改良中的应用	351
7.5.1	转基因鼠	351
7.5.2	转基因兔、猪、羊	352
7.5.3	转基因牛	352
7.5.4	转基因鸡	353
7.5.5	转基因鱼	353
7.6	基因治疗	354
7.6.1	基因治疗的基本战略思想	354
7.6.2	肿瘤的基因治疗	356
7.6.3	囊性纤维变性症的基因治疗	358
7.6.4	杜兴肌营养不良症的基因治疗	360
7.6.5	重度联合免疫缺陷症的基因治疗	360
7.6.6	糖尿病的基因治疗战略	360
7.6.7	骨髓细胞的转基因研究	361
7.6.8	基因治疗的副反应及其对策	362
8	高等植物基因工程	
8.1	高等植物的遗传学特性	363
8.2	高等植物的基因转移系统	365
8.2.1	Ti 质粒介导的整合转化系统	365
8.2.2	植物病毒介导的转染系统	370
8.2.3	植物细胞的直接转化方法	374
8.2.4	植物原生质体的再生	375
8.3	高等植物的基因表达系统	377
8.3.1	外源基因的四环素诱导系统	377
8.3.2	外源基因的乙醇诱导系统	379
8.3.3	外源基因类固醇诱导系统	379
8.3.4	外源基因的地塞米松诱导和四环素抑制系统	381

8.4 利用植物转基因技术研究基因的表达与调控	382
8.4.1 利用报告基因展示高等植物基因表达与调控的信息谱	382
8.4.2 利用病毒载体探查植物基因重排	382
8.4.3 利用转座元件克隆植物基因	383
8.4.4 利用 T-DNA 构建植物遗传突变株	383
8.5 利用转基因植物生产重组异源蛋白和工业原料	384
8.5.1 利用植物生物反应器生产医用蛋白	384
8.5.2 利用植物生物反应器生产食品或饲料添加剂	386
8.5.3 利用植物生物反应器生产工业原料	386
8.6 转基因技术在植物品种改良中的应用	387
8.6.1 控制果实成熟的转基因植物	387
8.6.2 抗虫害的转基因植物	388
8.6.3 抗病原体的转基因植物	389
8.6.4 抗除草剂的转基因植物	391
8.6.5 改变花形花色的转基因植物	391
8.6.6 抗环境压力的转基因植物	392
8.6.7 产生高品质产物的转基因植物	392
8.6.8 转基因植物的安全性	393
9 第二代基因工程——蛋白质工程	
9.1 蛋白质工程的基本概念	395
9.1.1 蛋白质工程的基本特征	395
9.1.2 蛋白质工程的研究内容及应用	396
9.1.3 蛋白质工程实施的必要条件	397
9.2 基因的体外定向突变	398
9.2.1 局部随机掺入法	398
9.2.2 碱基定点转换法	399
9.2.3 部分片段合成法	399
9.2.4 引物定点引入法	401
9.2.5 PCR 扩增突变法	402
9.3 基因的体外定向进化	404
9.3.1 易错 PCR	406
9.3.2 DNA 改组	406
9.3.3 体外随机引发重组	408
9.3.4 交错延伸	408

9.3.5	过渡模板随机嵌合生长	409
9.3.6	渐增切割杂合酶生成	411
9.3.7	同源序列非依赖性蛋白质重组	411
9.3.8	突变文库的筛选模型	413
9.4	蛋白质工程的设计思想与应用	414
9.4.1	提高蛋白质或酶的稳定性	414
9.4.2	减少重组多肽链的错误折叠	418
9.4.3	改善酶的催化活性	418
9.4.4	消除酶的被抑制特性	420
9.4.5	修饰酶的催化特异性	422
9.4.6	强化配体与其受体的亲和性	424
9.4.7	降低异源蛋白药物的免疫原性	427
10	第三代基因工程——途径工程	
10.1	途径工程的基本概念	429
10.1.1	途径工程的基本定义	429
10.1.2	途径工程的基本过程	431
10.1.3	途径工程的基本原理	433
10.2	途径工程的研究战略	434
10.2.1	在现存途径中提高目标产物的代谢流	434
10.2.2	在现存途径中改变物质流的性质	437
10.2.3	利用已有途径构建新的代谢旁路	438
10.3	初级代谢的途径工程	440
10.3.1	乙醇生产菌的途径操作	440
10.3.2	辅酶 Q 生产菌的途径操作	447
10.3.3	氢气生产菌的途径操作	453
10.4	次级代谢的途径工程	454
10.4.1	聚酮生物合成的分子机制	455
10.4.2	聚酮合酶各组成模件的操作战略	455
10.4.3	聚酮生物合成基因的异源表达	458
	参考文献	461

1

概述

150年前,在捷克莫勒温镇一个修道院里沉醉于豌豆杂交实验的 Mendel 也许根本就没有想到,他提出的遗传因子在半个世纪后被 Morgan 定义为基因;而且 1944 年 Avery 证明了基因的物质基础是 DNA;1953 年 Watson 和 Crick 又揭示了 DNA 的分子结构;到了 1973 年 DNA 已可在体外被随意拼接并转回到细菌体内遗传和表达。生命科学的飞速发展孕育了现代分子生物学技术——基因工程。今天,人们在超市货架上可以买到保质期很长的转基因番茄和土豆,“多利”克隆绵羊走出实验室使人们不再将《失落的世界》视为科幻影片,基因工程正在使整个人类生活方式发生重大变革。

1.1 基因工程的基本概念

1.1.1 基因工程的基本定义

基因工程(Genetic Engineering)原称遗传工程。从狭义上讲,基因工程是指将一种或多种生物体(供体)的基因与载体在体外进行拼接重组,然后转入另一种生物体(受体)内,使之按照人们的意愿遗传并表达出新的性状。因此,供体、受体、载体称为基因工程的三大要素,其中相对于受体而言,来自供体的基因属于外源基因。除了少数 RNA 病毒外,几乎所有生物的基因都存在于 DNA 结构中,而用于外源基因重组拼接的载体也都是 DNA 分子,因此基因工程亦称为 DNA 重组技术(DNA recombination)。另外,DNA 重组分子大都需在受体细胞中复制扩增,故还可将基因工程表征为分子克隆(Molecular Cloning)或基因的无性繁殖。

广义的基因工程定义为 DNA 重组技术的产业化设计与应用,包括上游技术和下游技术两大组成部分。上游技术指的是外源基因重组、克隆、表达的设计与构建(即狭义的基因工程);下游技术则涉及含有重组外源基因的生物细胞(基因工程菌或细胞)的大规模培养以及外源基因表达产物的分离纯化过程。因此,广义的基因工程概念更倾向于工程学的范畴。值得注意的是,广义的基因工程是一个高度统一的整体。上游 DNA 重组的设计必须以简化下游操作工艺和装备为指导思想,而下游过程则是上游基因重组蓝图的体现与保证,这是基因工程产业化的基本原则。

1.1.2 基因工程的基本过程

依据定义,基因工程的整个过程由工程菌(细胞)的设计构建和基因产物的生产两大部分

组成(图 1-1)。前者主要在实验室里进行,其单元操作过程如下:

(1) 从供体细胞中分离出基因组 DNA,用限制性核酸内切酶分别将外源 DNA(包括外源基因或目的基因)和载体分子切开(简称“切”);

(2) 用 DNA 连接酶将含有外源基因的 DNA 片段接到载体分子上,形成 DNA 重组分子(简称“接”);

(3) 借助于细胞转化手段将 DNA 重组分子导入受体细胞中(简称“转”);

(4) 短时间培养转化细胞,以扩增 DNA 重组分子或使其整合到受体细胞的基因组中(简称“增”);

(5) 筛选和鉴定转化细胞,获得使外源基因高效稳定表达的基因工程菌或细胞(简称“检”)。

由此可见,基因工程的上游操作过程可简化为:切、接、转、增、检。

1.1.3 基因工程的基本原理

作为现代生物工程的关键技术,基因工程的主体战略思想是外源基因的稳定高效表达。为达到此目的,可从以下四个方面考虑。

(1) 利用载体 DNA 在受体细胞中独立于染色体 DNA 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。这里涉及到 DNA 分子高拷贝复制以及稳定遗传的分子遗传学原理。

(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。

上述(2)和(3)两点均涉及到基因表达调控的分子生物学原理。

(4) 基因工程菌(细胞)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率的基础上,从工程菌(细胞)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,这里涉及的是生物化学工程学的基本理论体系。

因此,分子遗传学、分子生物学以及生物化学工程学是基因工程原理的三大基石。

1.1.4 基因工程在生物工程中的地位

生物工程的学科体系建立在微生物学、遗传学、生物化学和化学工程学的基本原理与技术之上,但其最古老的产业化应用可追溯到公元前 40~公元前 30 世纪期间的酿酒技术。20 世纪 40 年代,抗生素制造业的出现被认为是微生物发酵技术成熟的标志,同时也孕育了传统生物工程。30 年之后,以分子遗传学和分子生物学研究成果为理论基础的基因工程技术则将生物工程引入到了现代生物技术的高级发展阶段。

生物工程与化学工程同属于化学产品生产技术,但两者在基本原理、生产组织形式以及产品结构等方面均有本质的区别。在化学工业中,产品形成或者化学反应发生的基本场所是各种类型的物理反应器,在那里反应物直接转变成产物;而在生物技术产业中,生化反应往往

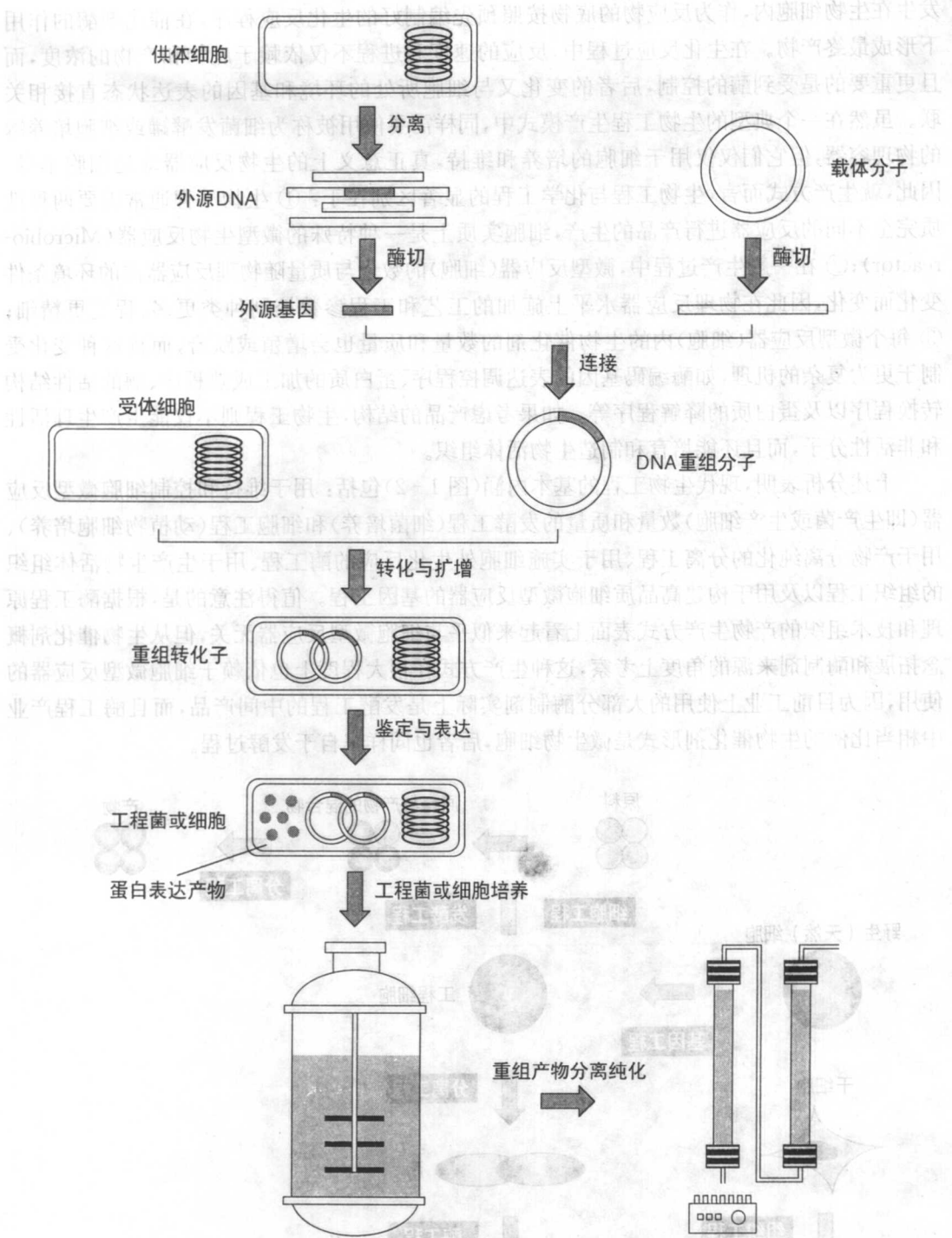


图 1-1 基因工程基本流程示意图

发生在生物细胞内,作为反应物的底物按照预先编制好的生化反应程序,在催化剂酶的作用下形成最终产物。在生化反应过程中,反应的速度和进程不仅依赖于底物和产物的浓度,而且更重要的是受到酶的控制,后者的变化又与细胞所处的环境和基因的表达状态直接相关联。虽然在一个典型的生物工程生产模式中,同样需要使用被称为细菌发酵罐或细胞培养罐的物理容器,但它们仅仅用于细胞的培养和维持,真正意义上的生物反应器却是细胞本身。因此,就生产方式而言,生物工程与化学工程的显著区别在于:① 生物工程通常需要两种性质完全不同的反应器进行产品的生产,细胞实质上是一种特殊的微型生物反应器(Microbio-reactor);② 在一般生产过程中,微型反应器(细胞)的数量与质量随物理反应器内的环境条件变化而变化,因此在物理反应器水平上施加的工艺和工程参数控制种类更多、程度更精细;③ 每个微型反应器(细胞)内的生物催化剂的数量和质量也会增殖或跌宕,而且这种变化受制于更为复杂的机理,如酶编码基因的表达调控程序、蛋白质的加工成熟程序、酶的活性结构转换程序以及蛋白质的降解程序等。如果考虑产品的结构,生物工程则不仅能生产生理活性和非活性分子,而且还能培育和制造生物活体组织。

上述分析表明,现代生物工程的基本内涵(图 1-2)包括:用于维持和控制细胞微型反应器(即生产菌或生产细胞)数量和质量的发酵工程(细菌培养)和细胞工程(动植物细胞培养)、用于产物分离纯化的分离工程、用于实施细胞外生化反应的酶工程、用于生产生物活体组织的组织工程以及用于构建高品质细胞微型反应器的基因工程。值得注意的是,根据酶工程原理和技术组织的产物生产方式表面上看起来似乎与细胞微型反应器无关,但从生物催化剂概念拓展和酶制剂来源的角度上考察,这种生产方式在很大程度上也依赖于细胞微型反应器的使用,因为目前工业上使用的大部分酶制剂实际上是发酵工程的中间产品,而且酶工程产业中相当比例的生物催化剂形式是微生物细胞,后者也同样来自于发酵过程。

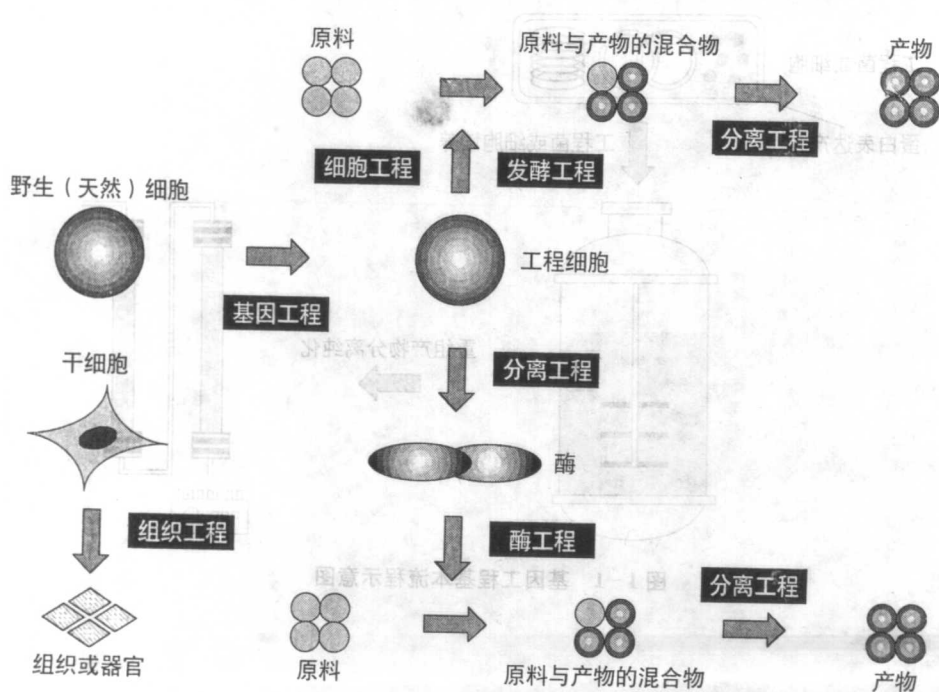


图 1-2 现代生物工程的基本流程