

吕虎主编

现代生物技术

导论



科学出版社

www.sciencep.com

现代生物技术导论

吕 虎 主编

科 学 出 版 社

北 京

内 容 提 要

现代生物技术迅猛发展,取得了令人瞩目的成就,推动着科学的进步,促进着经济的发展,改变着人类的生活与思维,影响着人类社会的发展进程;同时它也是 21 世纪高新技术革命的核心内容,具有巨大的经济效益和现实的与潜在的生产力。本书主要介绍了现代生物技术基本原理、研究方法、发展趋势及其对人类社会政治、经济、文化、伦理道德、法律法规、思维观念等方面产生的深刻影响。本书内容丰富、文字通俗流畅、可读性较强,内容涉及基因工程、细胞工程、发酵工程、酶工程、生物下游加工过程等现代生物技术基本理论与技术范畴。全书共分为 11 章,每章后面附有内容摘要和复习思考题供学生学习之用。

本书可作为师范大学、综合性大学、医学院校、农学院校等本科公共通识教育教材,也可作为相关专业本科生、研究生和教师参考书籍。

图书在版编目(CIP)数据

现代生物技术导论/吕虎主编. —北京:科学出版社,
2005

ISBN 7-03-016219-6

I. 现... II. 吕... III. 生物技术-高等学校-教材 IV. Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 100856 号

责任编辑:陈 露 李 瑾/责任校对:连秉亮
责任印制:刘 学 /封面设计:一 明

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

上海市宝山杨中印刷厂印刷

南京理工出版信息技术有限公司照排

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2005 年 9 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2005 年 9 月第一次印刷 印张:18 1/2

印数:1—4 200 字数:418 000

定价:29.00 元

《现代生物技术导论》编辑委员会

主 编 吕 虎

副 主 编 华 萍 朱 筠

编 委 (按姓氏笔画排序)

王筱兰 华 萍 朱 筠

吕 虎 余继红 涂艺声

廖志勇

前 言

现代生物技术革命使人们改造自然和推动社会发展的能力迈上了一个新的台阶,它的发展对世界政治、经济、军事、社会文化等各方面的发展进程正产生越来越深远的影响。正如美国技术评估委员会 1987 年对现代生物技术的发展作出的评估那样,现代生物技术是一次像当年的工业革命和今天的计算机革命一样,是可以改变人类生命和未来的科学革命。操纵遗传物质来满足生命体的特殊需要,将会给人类的现代生活带来根本性的变化。

我们着手编写《现代生物技术导论》作为高等院校通识教育教材时的主要指导思想,是要让本书尽可能地反映国内外现代生物技术的基本技术内涵和最新发展,以及现代生物技术对人类社会经济、政治、文化、伦理、道德、法律法规和人们思维观念等方面的影响。目的是让学生通过阅读本书后不仅能够了解现代生物技术基本原理和基本知识,并且能够学到一些解决问题的方法和科学的思维方式,从而提高独立思考、独立判断的能力。

本书的主要内容分为两部分:第一篇介绍现代生物技术基本原理与技术范畴,包括基因工程、细胞工程、现代发酵工程、酶工程和生物下游加工过程五个章节;第二篇介绍现代生物技术对人类社会所产生的巨大影响,包括人类疾病的基因治疗、预防性与治疗性疫苗、现代生物技术对社会技术经济的影响、现代生物技术安全性及其影响和生物技术专利与法规五个章节。本书的编写力求突出以下三点:一是在内容编写上既考虑到教材的基础性,又考虑到学科发展的先进性。作为跨专业通识教育课程,需要给学生提供最基本的知识,又要对学科的最新进展进行追踪。本书编写时选取现代生物技术基本理论与技术进行系统介绍,并对学科的最新发展力求有所反映。二是在内容设置上既考虑到教材的理论性和学科的系统性,又考虑到教材的适用性。对一些必要的相关基础知识进行了简要的铺垫,使学生便于自学。三是既考虑到现代生物技术的科学性,又考虑到其社会性。从现代生物技术发展中典型实例介绍其对人类社会的深刻影响,使学生在过程中综合素质得到一定提高。

本书编写过程历时近两载,期间得到了很多同仁和朋友的热诚关心和帮助,科学出版社、江西师范大学及各位作者所在单位的大力支持,同时参阅了国内外同行大量资料,在此致以衷心的感谢。由于作者水平所限,加上现代生物技术内容涵盖范围非常之广,在对学科知识的把握和内容的处理中肯定有所疏漏和不当之处,敬请各位同行专家不吝赐教并批评指正。

吕 虎

2005 年 5 月

目 录

前言

绪论	1
0.1 现代生物技术革命	1
0.1.1 生物技术含义与范畴	2
0.1.2 现代生物技术产生	2
0.1.3 Herber Boyer & Stanley Cohen 基因重组实验及其意义	6
0.2 现代生物技术前景	7
0.2.1 现代生物技术对社会经济与技术发展的影响	8
0.2.2 现代生物技术商业化与产业化特点	11
0.2.3 现代生物技术安全性及其对伦理、法律的影响	14
0.2.4 现代生物技术规范化管理	15
0.3 现代生物技术与中国	15
0.3.1 中国现代生物技术研究成果	15
0.3.2 中国面临现代生物技术 R & D 挑战	17
复习思考题	18

第一篇 现代生物技术基础

第一章 基因工程	21
1.1 DNA 的结构与功能	21
1.1.1 DNA 的分子组成与基本结构	21
1.1.2 DNA 分子的基本功能	24
1.2 DNA 重组技术	25
1.2.1 典型 DNA 重组技术路线	25
1.2.2 基因工程常用工具酶	26
1.2.3 基因工程载体	29
1.2.4 目的基因的来源与获得	36
1.2.5 重组 DNA 导入受体细胞	40
1.2.6 重组子筛选与鉴定	40
1.2.7 克隆基因的表达	42
1.3 蛋白质工程	44
1.3.1 蛋白质分子设计和改造	44
1.3.2 蛋白质工程研究方法	45
复习思考题	49

第二章 细胞工程	51
2.1 细胞工程理论与技术基础	51
2.1.1 细胞学基础知识	51
2.1.2 细胞工程的技术基础	52
2.2 动物细胞工程	56
2.2.1 转基因动物和克隆动物	56
2.2.2 动物细胞融合与单克隆抗体	61
2.3 植物细胞工程	68
2.3.1 植物细胞与植物组织培养	68
2.3.2 花药花粉培养与单倍体育种	74
2.3.3 离体胚培养和杂种植株获得	74
2.3.4 原生质体培养与体细胞融合(杂交)	74
2.3.5 植物细胞培养与次级代谢物细胞工程	75
复习思考题	77
第三章 现代发酵工程	78
3.1 微生物发酵	78
3.1.1 发酵的基本概念	78
3.1.2 发酵的一般工艺流程	78
3.1.3 发酵工业中常用微生物种类	79
3.1.4 发酵操作方式与微生物生长动力学	81
3.1.5 微生物发酵过程检测与优化	86
3.1.6 固体发酵	92
3.2 动物细胞大规模培养	93
3.2.1 培养动物细胞的形态与生理特点	93
3.2.2 动物细胞大规模培养方法与操作方式	95
3.3 植物细胞大规模培养	97
3.4 生物反应器	98
3.4.1 生物反应器基本类型与特点	98
3.4.2 生物反应器设计原则	102
复习思考题	103
第四章 酶工程	105
4.1 酶的特性与酶工程概况	105
4.1.1 酶的特性	105
4.1.2 酶的系统分类	106
4.1.3 酶工程简介	107

4.2 酶的来源和发酵生产	109
4.2.1 酶的来源	109
4.2.2 酶的发酵生产	111
4.3 酶的固定化	113
4.3.1 固定化酶制备方法	114
4.3.2 固定化酶性质与活力测定	115
4.4 酶分子改造	117
4.4.1 酶的化学修饰	117
4.4.2 酶的人工模拟	118
4.4.3 有机相酶反应	119
4.5 酶工程的应用	120
复习思考题	122
第五章 生物下游加工过程	123
5.1 生物下游加工一般过程	123
5.1.1 发酵液的预处理和固液分离	124
5.1.2 初步分离	125
5.1.3 高度纯化	125
5.1.4 成品加工	125
5.2 生物下游加工过程的设计原则	126
5.3 分离效率评价	127
5.4 生物下游加工过程的发展	128
5.4.1 基础理论研究	128
5.4.2 新型高效下游加工技术研究开发	129
5.4.3 工程放大研究	129
复习思考题	130

第二篇 现代生物技术与人类

第六章 人类疾病的基因治疗	133
6.1 基因治疗的现状与回顾	133
6.1.1 基因治疗的基本思想与概念	133
6.1.2 基因治疗的发展与现状	134
6.2 基因治疗的方式	137
6.2.1 基因治疗的操作对象	137
6.2.2 基因治疗的基本方式	137
6.2.3 基因治疗中的基因转移载体	144

6.2.4	基因治疗中外源基因导入细胞的其他方法	153
6.3	肿瘤基因治疗	154
6.3.1	导入抑癌基因进行基因治疗	154
6.3.2	导入针对癌基因的基因进行基因治疗	154
6.3.3	导入“自杀”基因进行基因治疗	155
6.3.4	导入细胞因子基因进行基因治疗	155
6.3.5	导入 MHC I 抗原基因进行基因治疗	156
6.3.6	导入 <i>MDR 1</i> 基因进行基因治疗	156
6.3.7	细胞融合法基因治疗	156
6.4	遗传性疾病与其他疾病的基因治疗	157
6.4.1	严重联合免疫缺陷综合症基因治疗	157
6.4.2	血友病的基因治疗	157
6.4.3	家族性高胆固醇血症	158
6.4.4	囊性纤维化的基因治疗	158
6.4.5	几种肝脏疾病的基因治疗	158
6.4.6	遗传性神经疾病的基因治疗	159
6.4.7	帕金森病基因治疗	159
6.5	基因治疗的前景	160
6.5.1	基因治疗存在的技术问题	160
6.5.2	基因治疗中存在的伦理和社会问题	160
6.5.3	基因治疗的近期发展趋势	161
6.5.4	人类基因组计划简介	161
	复习思考题	166
第七章	预防性和治疗性疫苗	167
7.1	人类免疫与免疫应答	167
7.1.1	免疫系统组成与功能	167
7.1.2	免疫应答基本过程	174
7.2	传统疫苗	174
7.2.1	传统疫苗的发展历史	174
7.2.2	典型疫苗的种类与特点	175
7.2.3	传统疫苗生产方法与应用的局限性	175
7.3	现代生物技术疫苗	175
7.3.1	基因工程疫苗	176
7.3.2	活体重组疫苗及其载体	179
7.3.3	免疫避孕疫苗	185

7.3.4 肿瘤疫苗	186
7.3.5 AIDS 疫苗	190
7.3.6 DNA 免疫	193
7.4 非典型性肺炎治疗	194
7.4.1 非典型性肺炎(SARS)的定义	194
7.4.2 SARS 的研究现状	195
7.4.3 SARS 的检测与诊断	196
7.4.4 SARS 动物模型及疫苗研制	196
复习思考题	198
第八章 现代生物技术对经济与发展的影响	200
8.1 现代生物技术在医药领域的应用	200
8.1.1 生产基因工程医用蛋白	200
8.1.2 利用现代生物技术改造传统制药工业	203
8.1.3 医学诊断与治疗	208
8.2 现代生物技术在生命科学基础研究领域的应用	210
8.2.1 研究基因结构与功能	210
8.2.2 研究细胞功能	211
8.3 现代生物技术在农业领域的应用	212
8.3.1 生物技术在植物种植业中的应用	212
8.3.2 生物技术在动物养殖业中的应用	219
8.4 现代生物技术在食品生产中的应用	221
8.4.1 单细胞蛋白	221
8.4.2 食品的发酵生产	224
8.4.3 新型甜味剂与食品添加剂	227
8.4.4 转基因食品	227
8.4.5 生物技术与未来的食品工业	228
8.5 生物技术在能源领域的应用	228
8.5.1 微生物与石油勘探和开采	229
8.5.2 利用纤维素发酵生产乙醇	230
8.5.3 甲烷与燃料源	233
8.5.4 氢气能	234
8.6 生物技术在环境保护中的应用	234
8.6.1 污水生物处理	235
8.6.2 大气生物净化	239
8.6.3 固体废弃物生物处理	240

复习思考题	245
第九章 现代生物技术安全性及其影响	246
9.1 生物技术安全性	246
9.1.1 生物安全的含义与基本内容	246
9.1.2 转基因作物与转基因食品	247
9.1.3 基因重组微生物的安全性	251
9.1.4 生物入侵对生态系统的影响	252
9.1.5 生物武器	254
9.2 现代生物技术对人类社会伦理观念的影响	255
9.2.1 克隆动物与克隆人问题	255
9.2.2 器官移植	258
9.2.3 人类基因组计划	259
复习思考题	261
第十章 现代生物技术专利与法规	262
10.1 现代生物技术专利	262
10.1.1 生物技术专利的产生	262
10.1.2 专利申请与保护	263
10.1.3 对生物技术实施专利保护的迫切性与负面影响	267
10.1.4 现代生物技术成果的其他保护形式	269
10.2 现代生物技术制药规则与要求	269
10.2.1 基因工程药物审批的一般程序	270
10.2.2 基因工程药物生产的环境要求	271
10.3 ISO 与 ISO 证书简介	272
10.4 中国转基因生物安全性法规建设与安全性评价	273
10.4.1 转基因生物安全评价	273
10.4.2 中国转基因生物安全法规建设	274
复习思考题	276
主要参考文献	278

绪 论

学习目的:①了解现代生物技术涵义、范畴、技术特点和生物技术发展过程;②认识现代生物技术前景及其对人类社会所产生的深刻影响;③了解中国在现代生物技术领域取得的成就和面临的挑战。

在 20 世纪后期的近二十几年时间中,现代生物技术迅猛发展,取得了一个接一个令人瞩目的成就,推动着科学的进步,促进着经济的发展,改变着人类的生活与思维,影响着人类社会的发展进程,使得现代生物技术以极大的惊喜步入 21 世纪。现代生物技术的成果正越来越广泛地应用于农、林、牧、渔、医药、食品、能源、化工、轻工和环境保护等诸多领域,日益显示出它在迎接当代社会所面临的严峻挑战,如粮食短缺、健康问题、经济问题、环境问题中的重大意义,对人类社会已经产生或正在产生革命性的影响。现代生物技术的研究与开发(research and development, R & D)已经成为世界性潮流,不论是发达国家还是发展中国家,都对现代生物技术寄以厚望。现代生物技术的研究与开发不仅有可能使产业结构发生重大变革,还可能给一些传统的生物技术产业带来新的希望。在农业上,转基因动、植物新品种使农、林、牧、渔业能大幅度提高产量和产品质量;在工业上,现代生物技术为医药、食品、能源、化工、轻工等产业和生物资源的充分利用带来了全新的生命力;在环境保护、能源等领域中,如污水生物治理、大气生物净化、新能源开发等,也同样获得了巨大的效果。在医药领域,现代生物技术的成果更为卓著。自 20 世纪 80 年代以来,仅美、日两国所开发的生物技术新药就有 200 多种,其中绝大部分是重组蛋白和重组 DNA 药物;人类疾病的基因治疗技术已经取得突破性进展,技术研究日新月异;诊断试剂、酶制剂、动植物医药产品、蛋白类与核酸类药物、现代生物技术改造传统制药工业等方面也取得了丰硕成果。现代生物技术是 21 世纪高新技术革命的核心内容,具有巨大经济效益以及现实的和潜在的生产力。有专家预测,到 2010~2020 年,现代生物技术产业将逐步成为世界经济体系的支柱产业之一。

0.1 现代生物技术革命

现代生物技术与传统生物技术之间最根本的区别在于现代生物技术是在基因水平上进行操作,改变已有的基因,改良甚至创造出新的物种。这是一项前所未有的崭新的工作。随着现代生物技术日益发展,它与人类生活的结合也越来越紧密。如改良农作物品种等涉及到人类的营养与健康;疫苗、基因治疗等涉及到人类自身的疾病;基因组计划使人类能更加深刻地认识生命的本质,但也可能会给某些狂人提供种族歧视的新借口;对生殖细胞的基因操作可以进行人类疾病的基因治疗,但同时也为人类提供了无限改变自身、甚至达到“改造人种”的可能性;现有的遗传检测技术可能引起诸如性比例失调等社会问题……。此外,传统意义上的科学是一个开放的系统,人们可以通过发表论文或个人之间的通讯自由地交流思想和实验材料等等,并且多数情况下某一领域的科学进步通常都是合作的结果。然而,当今很多学者感到,从发明中获得经济资助与公众的关注

逐渐变成了进行科学研究的原动力,使得很多科学家不能谈论(至少在专利被批准以前谈论)自己的工作……现代生物技术已经和正在改变人们的生活和思想,给人类提出了一些以前从来没有考虑过的问题,甚至包括如何进行科学研究的问题;它的迅猛发展正引发一场新的革命。

0.1.1 生物技术含义与范畴

生物技术(biotechnology)是以生命科学为基础,应用自然科学与工程学原理,设计构建具有特定生物学性状的新型物种或品系,依靠生物体(包括微生物、动、植物体或细胞)作为生物反应器,将物料进行加工,以提供产品和为社会服务的综合性技术体系。现代生物技术已逐步成为与分子生物学、微生物学、免疫学、生物化学、生物物理学、遗传学、细胞生物学、医学、药学、农学、化学工程学、数学、计算机科学、微电子学、信息学等多学科密切相关的综合性边缘学科。目前国内多数学者认为,现代生物技术包含的主要技术范畴有:基因工程(gene engineering)、细胞工程(cell engineering)、酶工程(enzyme engineering)、发酵工程(fermentation engineering)、生化工程(biochemistry engineering),以及由此衍生出来的蛋白质工程(protein engineering)、抗体工程(antibody engineering)、糖链工程(polysaccharose engineering)、海洋生物技术等。

当今生物技术所研究的对象已经从微生物扩展到了动物和植物,从陆地生物扩展到了海洋生物和空间生物;现代生物技术还不断地向纵深发展,并且与其他学科交叉形成了许多新的学科。随着现代生物技术的不断发展,其研究深度与广度还会得到不断地拓展。

0.1.2 现代生物技术产生

从广义角度而言,“生物技术”是人类对生物资源(包括微生物、动物、植物)的利用、改造并为人类服务的技术。当匈牙利工程师 Karl Ereky(1917)最初提出的生物技术这个名词时,它的含义是指采用甜菜作为饲料大规模养猪,也就是利用生物将原料转变为产品。实际上,生物技术的发展和应用可以追溯到一千多年以前,人们利用生物体和古老的生物技术进行酿酒、制醋以及酱油、泡菜、干酪等制作;而人类有意识地利用酵母进行大规模发酵生产则是始于 19 世纪。当时,大规模生产的发酵产品主要有丙酮、丁醇、乙醇、乳酸、柠檬酸、面包酵母、蛋白酶、淀粉酶等初级代谢产物。1928 年英国学者 Fleming 发现了青霉素,经过美国学者 Florey 和 Chain 等人(1940)提取、纯化,又经过临床验证,终于在 1943 年开始进行大规模生产;从此,生物技术产品中又增添了新的成员——抗生素。以后,链霉素、金霉素、红霉素等抗生素相继问世,形成了一个以获取细菌次级代谢产物——抗生素为主要特征的抗生素工业成为生物技术的支柱产业。20 世纪 50 年代氨基酸发酵工业、60 年代酶制剂工业加盟促进了生物技术产业的进一步发展,70 年代基因工程、细胞工程问世又翻开了生物技术新的篇章。

根据生物技术发展过程的技术特征,人们通常将生物技术划分为 3 个不同的发展阶

段:传统生物技术、近代生物技术和现代生物技术。

0.1.2.1 传统生物技术

传统生物技术的应用历史悠久,如石器时代后期的谷物酿酒,周代后期的豆腐、酱、醋等制作,公元前 6000 年开始的啤酒发酵,公元前 4000 年开始的面包制作等;它们的基本技术特征是酿造技术。然而,在很长时期内,人们并不了解这些技术的本质所在。直到荷兰人 Leeuwen Hoek(1676)成功制造了能放大 170~300 倍的显微镜,人们才了解到了微生物的存在;法国学者 Louis Pasteur (1857)利用实验方法证明酒精发酵是由活酵母发酵引起的,其他发酵产物是由其他微生物发酵所形成;1897 年人们发现,经过碾磨破碎的“死”酵母同样能使糖类发酵变成酒精……经过一系列研究,发酵的奥秘才逐渐被人们揭开。从 19 世纪末到 20 世纪 30 年代,人们首先发现了不需通气搅拌的厌氧菌纯种发酵技术,并相继出现了如乳酸、乙醇、丙酮-丁醇、柠檬酸、甘油、淀粉酶等许多产品的工业化发酵生产。这一时期的生产过程较为简单,多数为兼气发酵或表面发酵,对设备要求不高,产品基本属于微生物初级代谢产物。

0.1.2.2 近代生物技术

20 世纪 40 年代,由于青霉素大规模发酵的推动,极大地促进了大规模液体深层通气搅拌发酵技术的发展,给发酵工业带来了革命性的变化。抗生素、有机酸、酶制剂等发酵工业在世界各地蓬勃开展。到 20 世纪 50 年代中期以后,随着对微生物代谢途径和调控研究的不断深入,在发酵工业上找到了能突破微生物代谢调控以积累代谢产物的手段,并很快应用于工业生产。以后,人们又开发了一系列发酵新技术,如无菌技术、补料技术、控制技术等等。这就开始了近代生物技术产业的兴旺发达。

近代生物技术时期的主要特点如下:①产品类型多,不仅有生物体初级代谢产品(如有机酸、氨基酸、多糖、酶),还包括次级代谢产物(如抗生素等)、生物转化产物(如甾体转化等)、酶反应产物(如 6-氨基青霉烷酸酰化等);②生产设备规模巨大,如常用的发酵罐体积可达几十到几千立方米;③生产技术要求高,如需要在无外来微生物污染条件下发酵,多数需要通入无菌空气进行需氧发酵,产品质量要求高等;④技术发展速度快,如产量和质量大幅度提高,发酵控制技术飞速发展等。同时,由于化学工程工作者加盟,经过大量理论与实践研究,于 20 世纪 40 年代形成了一门新型的学科——生化工程,并得到长足发展,目前已经成为现代生物技术的重要组成部分。

近代生物技术主要还是通过微生物初级发酵来生产产品,其主要技术过程通常包括 3 个阶段:第一阶段是对粗材料进行加工以作为微生物营养和能量的来源,即所谓的上游过程;第二阶段是微生物在一个大的生物反应器中大量生长并连续生产目标产物如抗生素、有机酸、氨基酸、蛋白质、酶等,即发酵与转化过程;最后是将所需要的目标产物提取、纯化及成品化的下游加工过程。

20 世纪 60 年代到 70 年代,人们的研究目标主要集中在上游过程、生物反应器设计和优化、下游加工过程等方面,这些研究使得对发酵过程和反应体系的监测、大规模微生物培养技术、相关检测仪器设备等都得到了长足发展(表 0.1)。在大规模发酵生产过程

中,最难以优化的环节是第二阶段。科学家们通常采用化学诱变、紫外照射等方法产生突变体以改良菌种、提高产量,这些方法已经有许多成功的例子。然而采用传统的方法只能使产量得到有限的提高,因为在突变菌株内如果某一个组分合成过多,其他一些代谢产物的合成势必会受到影响,结果会影响到微生物在发酵过程中的生长;并且常规的诱变、筛选只能提高微生物已有的遗传特性,而不能赋予生物体其他的遗传性状。基因工程技术的出现使这种状况发生了根本性变化。

表 0.1 现代生物技术中部分重要仪器和设备

仪器和设备名称	主要用途
DNA 自动合成仪	合成已知寡核苷酸序列
PCR 仪(聚合酶链式反应仪)	DNA 快速扩增
蛋白质(多肽)自动合成仪	合成已知序列的蛋白质或多肽
DNA 自动测序仪	测定核酸的核苷酸序列
蛋白质(多肽)自动测序仪	测定蛋白质或多肽氨基酸序列
基因转移系统	将外源 DNA 导入目标细胞
显微注射系统	细胞核移植、人工授精等
流式细胞仪	分离单个细胞、测定细胞或染色体数量等
生物反应器	动物细胞、植物细胞、微生物分批或连续培养
高效液相色谱仪	物质分离、纯化和纯度(定性)鉴定等
电泳分析系统	物质分离、纯化和纯度(定性)鉴定等
凝胶电泳仪	蛋白质、核酸分离与分析等
毛细管电泳仪	质量控制、组分分离与分析
超速、高速(冷冻)离心机	生物大分子分析、分离
电子显微镜	观察组织、细胞超微结构
质谱仪	蛋白质、多肽研究
冷冻干燥仪	蛋白质、核酸、抗生素等热敏物质干燥
喷雾干燥机	生物物质干燥

0.1.2.3 现代生物技术

1953年,美国学者 Watson 和英国学者 Crick 共同提出的 DNA 双螺旋结构模型奠定了分子生物学基础,从而揭开了生命科学史上划时代的一页。此后,越来越多的科学家投身于分子生物学研究,取得了一系列分子生物学和现代生物技术的新发现与新进展(表 0.2)。1972年,P. Berg 和他的科研小组将 λ 噬菌体基因和大肠埃希氏菌乳糖操纵子插入猴病毒 SV40 DNA 中,首次构建出了 DNA 的重组体;然而,令人遗憾的是由于 SV40 能使动物致癌,出于安全考虑,他们的工作没有进行下去。1973年,美国加利福尼亚大学旧金山分校的 Herber Boyer 和斯坦福大学的 Stanley Cohen 两位教授共同完成的基因转移试验为基因工程开启了通往现实的大门,使人们可以按照自己的意愿设计出全新的生命体。这项技术的出现使传统的生物技术迅速完成了向现代生物技术的飞跃,使现代生物技术成为代表 21 世纪发展方向、具有广阔前景的新兴学科和产业。

表 0.2 1953 年以来现代生物技术领域的重要事件

年 代	重 要 事 件
1953	Watson 和 Crick 阐明了 DNA 双螺旋结构; Grubhofer 和 Schleith 提出了酶固定化技术
1956	提出了遗传信息通过 DNA 碱基序列进行传递的理论
1957	DNA 复制过程包括双螺旋互补链分离得到证实
1958	获得了 DNA 聚合酶 I, 并用该酶在试管内成功合成了 DNA
1960	发现 mRNA, 并证明 mRNA 指导蛋白质合成
1961	《现代生物技术与生物工程》杂志创刊
1961~1966	破译全部遗传密码
1967	获得了 DNA 连接酶
1970	分离得到第一个限制性内切酶; 发现逆转录酶
1971	用限制性内切酶酶切产生 DNA 片段, 用 DNA 连接酶获得第一个重组 DNA 分子
1972	Khorana 等合成了完整的 tRNA 基因; P. Berg 首次构建 DNA 重组体
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	DNA 测序技术诞生; 第一个 DNA 重组技术规则问世
1977	重组人生长激素抑制因子在大肠埃希氏菌中成功表达
1978	美国 Genentech 公司在大肠埃希氏菌中成功表达胰岛素
1980	美国最高法院对 Chakrabarty 和 Diamond“超级细菌”专利案作出裁定, 经过基因工程操作的微生物可以获得专利
1981	第一个单克隆抗体试剂盒在美国被批准使用
1982	第一个 DNA 重组技术生产的动物疫苗在欧洲被批准使用; 美国批准重组人胰岛素上市
1983	基因工程 Ti 质粒用于植物转化; Ulmer KM 提出蛋白质工程的概念
1988	PCR 技术诞生; 美国授予 Leder 和 Stewart“对肿瘤敏感的基因工程小鼠”以专利
1990	第一个体细胞治疗方案在美国获得批准; 人类基因组计划启动
1994	Wilkins 和 Williams 提出了蛋白组(proteome)的概念; 中国基因组计划启动
1997	英国培育出世界上第一只克隆羊; 转录组学(transcriptomics)概念被提出
1998	美国批准 AIDS 疫苗进行人体试验; 日本培育出克隆牛, 英、美等国家培育出克隆鼠
1999	RNA 组学(RNomics)的研究任务被提出; 中国正式加入国际基因组测序计划
2000	人类基因组草图宣告完成
2002	中国杨焕明等科学家完成了对水稻(籼稻)基因组序列草图的测定和初步分析
2003	人类基因组序列图绘制成功, 人类基因组计划的所有目标全部实现

近年来, 现代生物技术领域的研究与开发所取得的丰硕成果为人类更多地制造和创造有用的商品创造了条件(图 0.1)。迄今为止, 大量的与人类健康密切相关的基因已经得到克隆和表达, 胰岛素、生长激素、多种细胞因子、多种单克隆抗体、多种重组疫苗等几十种医药产品已经被批准上市。现代农业生物技术在提高农作物抗虫、抗病、抗逆和改良农作物品质等方面已经发挥了重要作用, 到 1998 年 4 月, 全球已经批准进行转基因农作物大田释放就有 4 387 项……总而言之, 现代生物技术已经在医药、农业、食品、轻工、环保、能源、海洋等诸多方面得到日益广泛的应用; 以此同时, 医药生物技术、农业生物技术、家畜生物技术、海洋生物技术等一批新型产业已经形成和正在迅速形成。

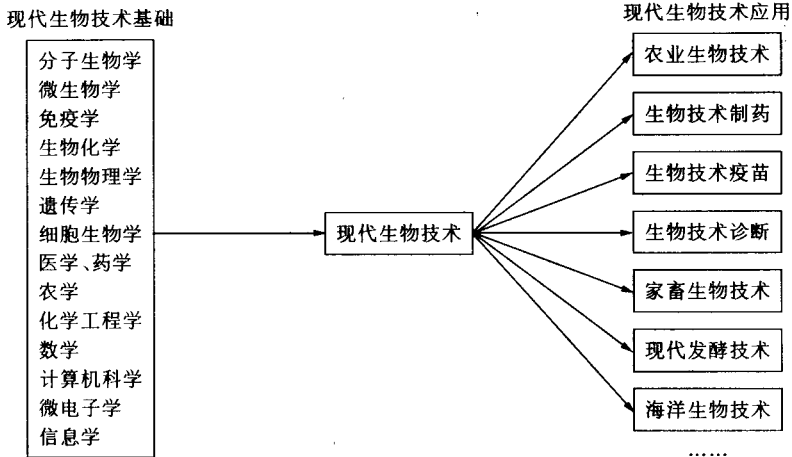


图 0.1 现代生物技术是一门分支众多、涉及学科很广的综合性技术体系

从技术内容来看,现代生物技术是一门正处于迅猛发展中的以基因工程为核心、细胞工程为主导的高技术综合体系。其主要技术内容包括:①DNA 重组技术和其他基因转化技术;②细胞和原生质体融合技术;③酶和细胞固定化技术;④动、植物细胞大规模培养技术;⑤植物脱毒与快速繁殖技术;⑥动物胚胎工程技术;⑦现代微生物发酵技术(高密度发酵、连续发酵和其他新型发酵技术等);⑧蛋白质工程技术;⑨现代生物反应工程和生物分离工程(下游加工过程)技术;⑩海洋生物技术等。现代生物技术的发展则主要表现为以下方面:①基因操作技术日新月异并不断完善,新的技术、方法一经问世便迅速在市场上加以应用;②基因工程药物与疫苗的研究与开发进展迅速,使得 21 世纪整个医药工业面临巨大而全面的革命;③转基因动物和植物取得的重大突破给农牧业带来了崭新的飞跃,第二次农业革命将全面展开;④生命体基因组阐明、基因组编码的蛋白质结构和功能研究是当代生命科学发展的主流方向之一,与人类疾病相关基因结构和功能及其与农作物产量、质量、抗性等相关基因的结构和功能的阐明和应用是未来研究的热点和重点之一;⑤基因治疗的重大进步使得对恶性肿瘤、AIDS 等严重危害人类健康的疾病防治可能产生重大的突破,并有可能给整个医疗领域带来革命;⑥由基因工程发展而来的蛋白质工程将分子生物学、结构生物学、计算机科学等有机结合,并形成了一门高度综合的学科体系;⑦信息技术向生命科学领域高度渗透形成了令人瞩目的现代高新科学——生物信息学;⑧网络通讯的日益发展使现代生物技术研究、开发和应用大大加速。

0.1.3 Herber Boyer & Stanley Cohen 基因重组实验及其意义

1973 年,美国加利福尼亚大学旧金山分校的 Herber Boyer 和斯坦福大学的 Stanley Cohen 两位教授共同完成一项非常著名的实验。Boyer 和 Cohen 选用了只有一个只含有单一 *EcoR* I 酶切位点的质粒载体 pSC101,用 *EcoR* I 将质粒切割成线形分子,然后将该线性分子与同样具有 *EcoR* I 黏性末端的另一质粒 DNA 片段和 DNA 连接酶混合在一起,由