

董文宾 主编

生物工程分析



Chemical Industry Press



化学工业出版社

生物工程分析

董文宾 主编

赵旭博 于琴 王顺民 张建华 参编



化学工业出版社

· 北京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

生物工程分析/董文宾主编. —北京: 化学工业出版社, 2006. 3

ISBN 7-5025-8342-4

I. 生… II. 董… III. 生物工程-分析 IV. Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 014214 号

生物工程分析

董文宾 主编

赵旭博 于琴 王顺民 张建华 参编

责任编辑: 赵玉清

文字编辑: 周 侗

责任校对: 顾淑云

封面设计: 胡艳玮

*

化学工业出版社出版发行

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

购书咨询: (010) 64982530

(010) 64918013

购书传真: (010) 64982630

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

大厂聚鑫印刷有限责任公司印刷

三河市延风装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 28½ 字数 777 千字

2006 年 4 月第 1 版 2006 年 4 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-8342-4

定 价: 48.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

前 言

为生物工程、生物技术或生物化工专业的大学生开设专业分析课程的重要性,完全等同于为食品工程专业开设《食品分析》、为发酵工程专业开设《工业发酵分析》、为生物制药专业开设《生物药物分析》、为制糖专业开设《制糖工业分析》课程等,因为专业分析课程是上述各类专业大学生必须学习和掌握的一门专业课,也是相关专业一门实践性很强的主干课程,并且是大学生将来从事科学研究或生产技术工作必须具备的技能。

据调查,在中国近 10 多年来陆续开设生物工程、生物技术、生物化工、生物医学工程、环境生物工程等本科专业的高等院校已多达 330 所以上(同一学校设置几个不同专业方向的仍按一所计算),而且不少学校已在全校范围内开设《生物工程概论》、《生物技术导论》、《生命科学技术概论》等选修课程进行大众化普及教育,但据作者了解,至今尚无一种适合生物工程专业大方向的专业分析教材出版发行。

作者根据自己从事《食品分析》、《工业发酵分析》等课程教学 20 余年的体会以及近 10 年来为生物工程本科生讲授《生物工程分析》课程的自编讲义内容,同时参考近 3 年出版的其他专业分析教材编写而成本书。

全书共 18 章,包括绪论、生物工程分析的基础知识、物理分析法、化学分析法、紫外-可见吸收光谱分析、荧光分光光度法、薄层色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法、电泳法和高效毛细管电泳法、核磁共振波谱法、生物质谱分析法、生物检定法、酶法分析、免疫分析、生物传感器、其他分析检测新技术的进展及样品制备新技术。

本书可作为高等院校生物工程、生物化工、生物技术、食品质量与安全等专业的本科生及研究生有关分析检测技术课程的教学或参考用书;也可作为从事技术监督、质量检验、卫生防疫、食品及药品质量管理部门的质检技术人员,从事化学化工、生物制药、微生物工程、生化制品生产和环境保护与监测等单位的工程技术人员以及相关科研机构的技术人员的参考用书。

在本书编写过程中曾参考引用了不少作者的文献(主要参考文献列于书末),得到了编者所在单位领导以及化学工业出版社的大力支持,陈合教授、吕嘉枬教授审阅了部分书稿,在此一并表示感谢。

由于作者水平有限,成书时间仓促,书中不妥之处敬请广大读者批评指正。

编 者

2006 年 1 月

目 录

第 1 章 绪论	1
1.1 生物工程的含义及其研究领域	1
1.1.1 生物工程及其学科基础	1
1.1.2 生物工程的主要研究领域及其相互关系	2
1.2 生物工程服务的领域	5
1.2.1 农业、养殖业及食品工业	5
1.2.2 人类健康事业	6
1.2.3 资源和能源	8
1.2.4 环境保护	9
1.3 生物工程分析的任务、作用、内容及特点	9
1.3.1 生物工程分析的任务与作用	9
1.3.2 生物工程分析的内容及特点	11
1.4 本书的编写思路及使用建议	13
1.4.1 编写思路	13
1.4.2 使用建议	13
第 2 章 生物工程分析的基础知识	14
2.1 概述	14
2.1.1 样品前处理在生物工程分析中的地位	14
2.1.2 样品前处理的目的	14
2.1.3 样品前处理的评价准则	15
2.2 分析样品的采集、制备及保存	16
2.2.1 样品的采集	16
2.2.2 样品制备	19
2.2.3 样品的保存	19
2.3 生物样品预处理的一般方法	21
2.3.1 溶解法	21
2.3.2 蒸馏法	22
2.3.3 干法灰化	22
2.3.4 湿法消化	22
2.3.5 氧瓶燃烧法	22
2.3.6 超声波法	23
2.4 生物样品预处理的特殊方法	24
2.4.1 生物活性物质的分离和纯化	24
2.4.2 细胞破碎和固液分离	27
2.4.3 包含体产物的分离	29
2.4.4 液液萃取	31

2.4.5	超临界萃取	33
2.4.6	沉淀	33
2.4.7	膜分离	34
2.4.8	色谱分离技术	34
2.5	误差及分析方法的选择	48
2.5.1	误差	48
2.5.2	分析方法的选择	49
第3章	物理分析法	52
3.1	概述	52
3.2	常用物理分析法	52
3.2.1	密度与相对密度法	52
3.2.2	折光法	56
3.2.3	旋光法	60
第4章	化学分析法	67
4.1	概述	67
4.2	酸碱滴定法应用示例	67
4.2.1	白酒中总酸、挥发酸、非挥发酸的测定	67
4.2.2	电位滴定法测定啤酒的总酸度	68
4.2.3	白酒中总酯的测定	68
4.2.4	甲醛滴定法测定总氨基酸含量	69
4.2.5	微量克氏 (Kjeldahl) 定氮法	69
4.2.6	水杨酸类药物测定	71
4.3	氧化还原滴定法应用示例	72
4.3.1	还原糖的测定——直接滴定法	72
4.3.2	高锰酸钾滴定法测定钙	74
4.3.3	白酒中总醛的测定	75
4.3.4	啤酒花中单宁的测定	76
4.3.5	维生素 C 的定量测定——2,6-二氯酚酚滴定法	77
4.4	配位滴定法应用示例	80
4.4.1	酿造用水的硬度测定	80
4.4.2	酿造用水中钙的含量测定	81
4.5	重量法应用示例	82
4.5.1	总灰分的测定	82
4.5.2	生物化工原料中磷的测定	84
4.5.3	淀粉质原料的水分测定——直接干燥法	85
4.5.4	粗脂肪含量的测定——索氏抽提法	85
第5章	紫外-可见吸收光谱分析	87
5.1	概述	87
5.2	方法原理	87
5.2.1	有机化合物的紫外-可见吸收光谱	87
5.2.2	无机化合物的紫外-可见吸收光谱	89
5.2.3	朗伯-比尔吸收定律	89
5.3	仪器结构与原理	90

5.3.1	辐射光源	90
5.3.2	分光器	90
5.3.3	吸收池	91
5.3.4	检测器	91
5.3.5	记录器和信号显示系统	91
5.4	实验技术	91
5.4.1	样品的制备	91
5.4.2	测定条件的选择	91
5.4.3	反应条件的选择	92
5.4.4	参比溶液的选择	92
5.4.5	共存离子干扰的消除方法	93
5.4.6	表观摩尔吸收系数的精确求法	93
5.5	紫外-可见吸收光谱的应用范围	93
5.5.1	定性分析	93
5.5.2	纯度鉴定	93
5.5.3	定量测定	94
5.6	紫外-可见吸收光谱分析法在生物工程分析中的应用	95
5.6.1	考马斯亮蓝法测定蛋白质含量	95
5.6.2	RNA 的定量测定	96
5.6.3	血清胆固醇的定量测定	98
第 6 章	荧光分光光度法	99
6.1	概述	99
6.2	方法原理	99
6.2.1	激发光谱和发射光谱	101
6.2.2	荧光量子产率与分子结构	103
6.3	荧光分析法	105
6.3.1	基本原理与主要仪器装置	105
6.3.2	荧光分光光度计的分类	106
6.3.3	影响荧光分析的因素	107
6.3.4	荧光分析方法	110
6.3.5	F-4500 (HITACHI) 荧光分光光度计简介	110
6.4	荧光分光光度法在生物工程分析中的应用	114
6.4.1	维生素 E 的荧光分光光度测定法	115
6.4.2	血清中氯喹的荧光分光光度测定法	116
6.4.3	尿中氨苄西林的荧光分光光度测定法	117
第 7 章	薄层色谱法	118
7.1	概述	118
7.2	薄层色谱法的基本原理	119
7.3	薄层色谱的操作技术	121
7.3.1	载板及吸附剂选择	121
7.3.2	薄层板的制备	123
7.3.3	点样	124
7.3.4	展开	126

7.3.5	定位和显色	127
7.3.6	定性	127
7.4	薄层定量分析	128
7.4.1	目视比较法	128
7.4.2	洗脱法	128
7.4.3	薄层扫描法	129
7.5	薄层色谱法进展	136
7.5.1	高效薄层色谱法	136
7.5.2	反相薄层色谱法	136
7.5.3	过压薄层色谱法	137
7.5.4	旋转薄层色谱法	139
7.5.5	薄层色谱-氢火焰离子化检测系统 (TLC-FID 系统)	140
7.5.6	超薄层色谱法	141
7.5.7	薄层色谱-光声光谱联用技术	142
7.6	薄层色谱法在生物工程分析中的应用	144
7.6.1	薄层色谱扫描法测定 FB-3 新型保鲜剂	144
7.6.2	薄层扫描法测定复方丹参片中丹参和三七有效成分	145
第 8 章	气相色谱法	146
8.1	概述	146
8.1.1	气相色谱分离原理及流程	146
8.1.2	气相色谱法的特点	149
8.2	基本理论	149
8.2.1	基本概念	149
8.2.2	塔板理论	150
8.2.3	速率理论	151
8.3	色谱柱及固定相	152
8.3.1	色谱柱	152
8.3.2	固定相	153
8.4	检测器	156
8.4.1	检测器的主要性能指标	156
8.4.2	热导检测器	157
8.4.3	氢火焰离子化检测器	158
8.4.4	电子捕获检测器	159
8.4.5	氮磷检测器	160
8.5	定性和定量分析方法	160
8.5.1	定性分析方法	161
8.5.2	定量分析方法	161
8.6	气相色谱条件的选择	163
8.6.1	色谱柱的选择	163
8.6.2	柱温的选择	164
8.6.3	载气及其流速的选择	164
8.6.4	担体和固定液含量选择	164
8.6.5	其他条件的选择	165

8.7 气相色谱法在生物工程分析中的应用	165
8.7.1 蔬菜中草酸含量的测定	165
8.7.2 气相色谱法直接测定植物生长素	166
第9章 高效液相色谱法	168
9.1 概述	168
9.1.1 原理与分类	168
9.1.2 高效液相色谱法的应用范围及使用局限	169
9.2 高效液相色谱的基本理论	171
9.2.1 色谱过程	171
9.2.2 基本概念	172
9.2.3 定性参数	172
9.2.4 柱效参数	173
9.2.5 相平衡参数	174
9.2.6 分离参数	175
9.2.7 高效液相色谱速率理论	176
9.3 高效液相色谱仪	177
9.3.1 高效液相色谱仪的基本原理	178
9.3.2 高效液相色谱法分析的一般步骤	183
9.4 高效液相色谱法在生物工程分析中的应用	185
9.4.1 氨基酸分析	185
9.4.2 肽和蛋白质的分离分析	186
9.4.3 核酸与DNA分析	188
第10章 电泳法和高效毛细管电泳法	191
10.1 概述	191
10.1.1 电泳法	192
10.1.2 高效毛细管电泳法	194
10.2 电泳法和高效毛细管电泳法的基本理论	196
10.2.1 电泳的基本原理	196
10.2.2 毛细管电泳法的基本理论	198
10.2.3 基本概念	200
10.2.4 理论效率及其表示方法	203
10.3 电泳仪和高效毛细管电泳仪	205
10.3.1 电泳仪	205
10.3.2 高效毛细管电泳仪	208
10.4 电泳、高效毛细管电泳分析法分析条件选择策略	211
10.4.1 电泳分析法	211
10.4.2 高效毛细管电泳分析法	214
10.5 应用示例	217
10.5.1 核酸的分离分析	218
10.5.2 糖的分离检测	222
第11章 核磁共振波谱法	224
11.1 概述	224
11.1.1 核磁共振波谱法的发展历史及研究现状	224

11.1.2	核磁共振波谱法在生物工程领域中的应用	224
11.2	核磁共振波谱法的基本理论和概念	225
11.2.1	基本理论	225
11.2.2	核磁共振法中几个常用的参数	229
11.3	核磁共振波谱仪	230
11.3.1	射频发射系统	230
11.3.2	探头	231
11.3.3	磁场系统	231
11.3.4	接收检测系统	232
11.3.5	信号处理与控制系统	232
11.4	核磁共振波谱法的基本实验技术	233
11.4.1	样品的制备	233
11.4.2	标准参考样品	233
11.4.3	图谱解析	234
11.4.4	NMR 常用脉冲技术及其功能	234
11.4.5	一维、二维核磁共振实验	238
11.5	应用示例	242
11.5.1	NMR 法测定蛋白质和核酸等的三维结构	242
11.5.2	NMR 测定细胞生物膜结构及细胞内 pH	246
11.5.3	NMR 测定生物新药	248
11.5.4	NMR 在代谢组学中的应用	251
第 12 章	生物质谱分析法	255
12.1	概述	255
12.2	质谱分析法原理	256
12.2.1	质谱技术的基本原理	256
12.2.2	质谱名词与术语	257
12.3	质谱仪	258
12.3.1	质谱仪的基本结构	258
12.3.2	质谱仪的主要性能指标	262
12.3.3	质谱图及其判读	263
12.4	生物质谱分析法	264
12.4.1	生物质谱分析技术	264
12.4.2	激光解吸离子化与电喷雾离子化质谱分析实验	266
12.5	生物质谱分析法应用示例	269
12.5.1	肽和蛋白质分析	269
12.5.2	糖蛋白和寡糖分析	272
12.5.3	核苷酸分析	274
第 13 章	生物检定法	277
13.1	概述	277
13.2	生物制品的生物学检定方法	278
13.2.1	细菌学检查	278
13.2.2	纯菌试验	279
13.2.3	微生物限变检查	280

13.2.4	支原体检查	280
13.2.5	动物试验	280
13.2.6	热原试验	282
13.2.7	内毒素检测	283
13.2.8	效价检测	285
13.2.9	生物检定统计法	287
13.3	生物学检定法应用示例	289
13.3.1	抗生素微生物检定法	289
13.3.2	胰岛素生物检定法	292
13.4	分子生物学分析方法	292
13.4.1	基因探针技术	292
13.4.2	聚合酶链反应	295
13.4.3	多位点酶电泳	301
13.4.4	限制酶分析	302
13.4.5	随机扩增多态性 DNA 分析	304
13.4.6	脉冲电场凝胶电泳分析	306
13.4.7	生物芯片分析检测技术	308
第 14 章	酶法分析	315
14.1	概述	315
14.2	酶法分析的原理	315
14.2.1	酶的特性与分类编号	315
14.2.2	酶法测定的原理	317
14.3	酶法分析及应用示例	323
14.3.1	酶活性测定的方法	323
14.3.2	酶活性测定的应用示例	326
14.3.3	底物及底物类似物的测定	328
14.3.4	活化剂和抑制剂的分析及测定	332
14.3.5	固定化酶在分析流动系统中的应用	333
14.3.6	有机化合物的分析	333
14.3.7	无机化合物的分析	334
14.4	酶法分析在生物工程中应用的发展趋势	334
14.4.1	单细胞分析	334
14.4.2	酶作为标记物的分析	334
14.4.3	模拟酶分析	334
第 15 章	免疫分析	336
15.1	概述	336
15.2	免疫分析基础知识	336
15.2.1	基本原理	336
15.2.2	抗体的制备	337
15.2.3	抗体质量的鉴定及免疫分析方法的评价	340
15.3	放射免疫分析法	342
15.3.1	标记抗原的制备	342
15.3.2	游离标记物与结合标记物的分离方法	344

15.3.3	标准曲线的绘制	345
15.3.4	样品测定基本步骤	346
15.4	酶联免疫吸附测定法	346
15.4.1	原理	347
15.4.2	几种常用类型的 ELISA 测定法	348
15.4.3	酶结合物	349
15.4.4	实验条件	352
15.5	荧光免疫分析法	353
15.5.1	荧光偏振免疫分析	354
15.5.2	荧光酶免疫分析	355
15.5.3	猝灭荧光免疫分析	356
15.6	免疫分析的新技术和新趋势	356
15.6.1	生物素-亲和素系统	356
15.6.2	化学发光酶免疫分析	356
15.6.3	酶级联放大	356
15.6.4	脂质体放大技术	357
15.6.5	免疫检测试剂条	357
15.6.6	免疫乳胶检测试剂	357
15.6.7	基因工程抗体	357
15.6.8	自动化和实用的免疫分析法	358
15.6.9	免疫分析法与其他技术的联用	359
15.6.10	基于温敏水凝胶的相分离免疫分析	359
15.7	免疫分析法应用示例	359
15.7.1	RIA 法在体内药物分析中的应用示例	359
15.7.2	ELISA 法应用示例	360
15.7.3	FIA 法的应用示例	361
第 16 章	生物传感器	363
16.1	概述	363
16.1.1	生物传感器的定义	363
16.1.2	生物传感器的发展史	363
16.1.3	生物传感器的特点	364
16.1.4	生物传感器的基本组成及其工作原理	365
16.1.5	生物传感器的分类	367
16.1.6	生物传感器的应用	368
16.2	酶传感器	370
16.2.1	酶传感器的结构	370
16.2.2	酶传感器的分类	370
16.2.3	几种新型酶传感器	371
16.2.4	酶传感器的应用	372
16.3	生物组织传感器	373
16.3.1	动物组织传感器	374
16.3.2	植物组织传感器	374
16.4	细胞及细胞器传感器	374

16.4.1	线粒体传感器	375
16.4.2	肝微粒体传感器	375
16.4.3	叶绿体传感器	375
16.5	微生物传感器	375
16.5.1	微生物传感器的类型	375
16.5.2	微生物敏感膜的制备技术	376
16.5.3	电化学微生物传感器	376
16.5.4	压电高频阻抗型微生物传感器	377
16.5.5	燃料电池型微生物传感器	377
16.5.6	其他类型的微生物传感器	378
16.5.7	微生物传感器的应用	378
16.6	免疫传感器	380
16.6.1	免疫传感器的类型	380
16.6.2	电化学免疫传感器	380
16.6.3	光学免疫传感器	381
16.6.4	压电晶体免疫传感器	382
16.6.5	表面等离子体共振型免疫传感器	383
16.6.6	场效应晶体管生物传感器	384
16.6.7	光寻址电位传感器	384
16.6.8	受体免疫传感器	384
16.6.9	免疫芯片	385
16.6.10	免疫传感器存在的问题及发展前景	385
16.7	核酸生物传感器(基因传感器)	385
16.7.1	核酸生物传感器的产生及分类	385
16.7.2	DNA 生物传感器和 DNA 杂交传感器	386
16.7.3	电化学 DNA 传感器	386
16.7.4	光学 DNA 生物传感器	387
16.7.5	表面等离子体共振 DNA 传感器	388
16.7.6	压电晶体 DNA 传感器	389
16.8	几种新型生物传感器简介	389
16.8.1	光导纤维生物传感器	389
16.8.2	仿生型生物传感器	389
16.8.3	分子印迹生物传感器	390
16.9	生物传感器的发展现状及应用前景	390
第 17 章	其他分析检测新技术的进展	392
17.1	现代分析方法的应用和发展趋势	392
17.1.1	概述	392
17.1.2	分析方法的发展趋势	392
17.1.3	分析仪器的的发展趋势	393
17.2	放射性同位素分析技术	395
17.2.1	基本原理	395
17.2.2	测量仪器及方法	396
17.2.3	放射自显影	400

17.3	色谱联用技术	402
17.3.1	色谱联用技术的产生	402
17.3.2	色谱联用接口技术	403
17.3.3	气相色谱联用技术	403
17.3.4	液相色谱联用技术	409
17.3.5	其他色谱联用技术简介	415
17.4	流动注射分离分析技术	415
17.4.1	概述	415
17.4.2	流动注射分析的装置及基本操作原理	416
17.4.3	FIA 的基本流路	417
17.4.4	FIA 在线浓缩与分离技术	417
17.4.5	流动注射技术的应用	418
第 18 章	样品制备新技术	420
18.1	膜分离技术	420
18.1.1	膜分离技术的原理	420
18.1.2	膜分离技术的分类	421
18.1.3	膜分离技术的特点	421
18.1.4	膜的分类和性质	421
18.1.5	膜分离技术在生物工程中的应用	422
18.2	泡沫分离技术	422
18.2.1	泡沫分离的基本原理	423
18.2.2	影响泡沫分离效果的因素	423
18.3	固相萃取技术	424
18.3.1	固相萃取技术的基本原理	424
18.3.2	固相萃取的方法	425
18.3.3	固相萃取技术的发展方向	425
18.3.4	固相萃取技术的应用	425
18.4	固相微萃取技术	427
18.4.1	固相微萃取技术的原理	427
18.4.2	固相微萃取的装置及萃取方法	427
18.4.3	固相微萃取技术萃取条件的选择	428
18.4.4	固相微萃取技术的应用	429
18.5	微波协助萃取技术(微波溶出法)	429
18.5.1	微波萃取的原理	429
18.5.2	微波萃取的基本操作方法	429
18.5.3	萃取条件的选择	430
18.5.4	微波萃取的特点	430
18.5.5	微波萃取技术的应用	430
18.6	顶空气相色谱技术	431
18.6.1	静态顶空色谱技术与应用	431
18.6.2	吹扫-捕集色谱技术	433
18.7	高速逆流色谱分离纯化技术	435
18.7.1	高速逆流色谱的原理	435

18.7.2	高速逆流色谱的特点.....	435
18.7.3	高速逆流色谱的仪器.....	436
18.7.4	高速逆流色谱的应用.....	436
18.7.5	高速逆流色谱在生物工程领域中的应用.....	437
参考文献		439

第 1 章 绪 论

20 世纪 70 年代重组 DNA 技术和杂交瘤技术实现重大突破, 现代生物技术产业 (生物工程) 随之迅速崛起。而 20 世纪 90 年代掀起的对生物基因组、干细胞和生物芯片等科学技术的研究热潮则昭示了生物工程发展的无限生机。经过近半个世纪的孕育和发展, 以基因工程为核心的生物技术已逐步成为当今世界高新技术群体中最富有活力的领域之一, 并与信息技术、纳米技术、新材料等其他高新技术相互结合, 在全球范围内形成了具有巨大经济效益的增值产业链, 正在带动着现代农业、生物医学、生物药物、食品工业、化工轻纺、环境保护、能源工业等领域技术的革命性发展。

生物工程是生命科学和工程科学的交叉科学, 生物工程分析就是以研究和讨论生物工程领域所需要的分析检测技术的方法原理、仪器装置、操作要点以及应用范围等为主要内容的一门工具学科, 它是生物工程学科一个重要的组成部分。从生物工程的研究成果最终总是通过规模化、产业化而形成产品来造福人类的目的来说, 将生物工程分析称为生物工业分析也是恰当的; 从人才培养角度出发, 生物工程分析则是生物工程以及相关专业大学生或研究生必须学习的一门专业技术基础课程, 只有熟悉和掌握了本课程所述及的各种分析技术, 才能在生物工程领域的科研开发、生产管理、质量安全、流通消费、技术监督等岗位上有一定的作为。

“工欲善其事, 必先利其器。”生物工程分析是生物工程产业化部门进行全程质量监控的“眼睛”, 是生物工程科技创新的“利器”。纵观生物工程学科的发展历史即可看出, 生物工程分析的技术手段一直与生物工程相伴而行、互相促进, 甚至互为因果, 尤其是现代生物技术的高速发展在很大程度上得益于分析检测技术的长足进步。例如, X 射线晶体衍射分析对 DNA 双螺旋结构的阐明奠定了现代分子生物学的基础, 从此使人类对生命科学的微观领域的认识迈出了决定性的一步; 而以阵列毛细管电泳和激光荧光技术为基础的大规模、自动化测序技术的问世, 才使 20 世纪生命科学领域最为宏大的研究项目——人类基因组计划得以提前完成; 另据科学家断言, 二维凝胶电泳法、蛋白质芯片技术以及诞生于 20 世纪 80 年代的生物质谱等技术, 将为和正在为当今功能基因组——蛋白质组的研究工作做出重大贡献。人们完全有理由认为, 如果没有先进适用的生物工程分析检测技术手段, 就不会有现在已拥有的现代生物工程的丰硕成果及其辉煌的未来。

由于生物工程与技术所包括的内容极其丰富, 注定了生物工程分析的内容非常广泛, 可以说生物工程学科涵盖的范围有多大, 生物工程分析的渗透范围就有多广。

鉴于生物工程分析内容的广泛性以及非生物工程专业大学生或研究生学习的需要, 本章拟就生物工程学科的含义、基本范围及其服务领域等内容首先做回顾简述, 然后讨论生物工程分析的有关内容。

1.1 生物工程的含义及其研究领域

1.1.1 生物工程及其学科基础

生物工程 (bioengineering) 也叫生物技术 (biotechnology), 通常主要指以现代生物学研究成果为基础, 以基因工程为核心的现代生物技术。所谓生物工程, 即是指人们以现代生命科学为基础, 结合其他基础学科的科学原理, 采用先进的工程技术手段, 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的一门新兴的综合性科学技术。

先进的工程技术手段是指基因工程、细胞工程、酶工程、微生物工程（发酵工程）、蛋白质工程和生物分离工程等新技术。改造生物体是指获得品质优良的动物、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产生的能利用的物质，如淀粉、糖蜜、纤维素等有机物，也包括一些无机化学品，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、金属等。达到某种目的则包括疾病的预防、诊断与治疗，食品检验以及环境污染检测、治理等。

生物工程是由多门学科相结合而形成的一门新兴学科，生物科学为其最重要的基础学科。就生物科学而言，它包括了微生物学、生物化学、细胞生物学、免疫学、育种技术等几乎所有与生命科学有关的学科，特别是现代分子生物学的最新理论成就。现代生命科学的发展已在分子、亚细胞、组织和个体等不同层次上，揭示了生物的结构和功能的相互关系，从而使人们对生物体进行不同层次的设计、控制、改造或模拟，并由此给人类带来巨大的经济效益。

1.1.2 生物工程的主要研究领域及其相互关系

生物工程涵盖的范围很广，最为重要和得到普遍认同的研究领域包括基因工程、细胞工程、酶工程、微生物工程（发酵工程）、蛋白质工程等。

1.1.2.1 基因工程

基因工程又称为重组 DNA 技术，它是生物工程的核心技术。基因工程是指在体外将目的基因插入质粒或其他载体分子中构成遗传物质的新组合，并导入到原先没有这类基因的寄主细胞内，让其持续稳定地使目的基因在寄主细胞内表达，产生出人类需要的基因产物。

基因工程以 DNA 为基本材料，其操作流程主要包括目的基因分离、与克隆载体重组、转入受体细胞、筛选和鉴定克隆子。分离目的基因常采用聚合酶链反应（PCR）技术从基因组 DNA 中扩增含目的基因的 DNA 片段，或者用分子杂交等方法从构建的 cDNA 文库或基因组文库中获得含目的基因的克隆子。克隆载体有质粒载体和病毒（噬菌体）载体以及它们彼此重组与其他基因组 DNA 片段重组的载体，供不同试验要求选择使用。在 DNA 连接酶的作用下，含目的基因的 DNA 片段与克隆载体连接成为重组 DNA 分子。在连接之前，一般先分别用限制性内切核酸酶切割，如有必要再用修饰酶修饰末端，使待连接的两个 DNA 片段末端成为互补黏性末端或平末端。重组 DNA 分子导入原核生物细胞可采用 CaCl_2 处理的转化法、病毒颗粒感染的转导法和三亲本接合转化法等；导入植物细胞需采用农杆菌介导的 Ti 质粒载体转化法、电穿孔法、微弹轰击法、花粉管通道法等；导入动物细胞常用的方法有病毒颗粒介导的病毒载体转导法、磷酸钙转染法和显微注射法等。筛选克隆子常采用克隆载体携带的选择标记基因、供体 DNA 携带的报告基因等方法。

开展基因工程研究 20 多年来，科研人员已建立了多种分别适用于微生物、动物、植物转基因的载体受体系统，克隆了一批有用的目的基因，研发出数十种价格不菲的珍贵的基因工程药物，培育了一些具有特殊性状的转基因动植物。

1.1.2.2 细胞工程

细胞工程就是在细胞水平上研究、开发、利用各类细胞的工程，亦即人们根据科学设计改变细胞的遗传基础，通过无菌操作大量培养细胞、组织乃至整个个体的技术。迄今为止，人们已经从染色体水平、细胞器水平以及细胞水平开展了多层次的研究工作，在细胞培养、细胞融合、细胞代谢物的生产和生物克隆等诸多领域取得了一系列重大成果。

细胞工程又可分为植物细胞工程、动物细胞工程和微生物细胞工程 3 个领域。细胞培养和组织培养是细胞工程的基本实验技能，严格的无菌操作是实验成功的前提条件。要从植物的细胞培养或组织培养中产生出胚状体乃至植株，调节好各阶段生长素和细胞分裂素的比例最为关键。用细胞融合的手段获得能合成单一抗体的杂交瘤细胞并大量培养和提取各种单克隆抗体已