

《中国农业百科全书·生物学》卷分册

生物技术

黄为一 周湘泉 谢福祥 主编

农业出版社

1
Q-33

H1007

Y+112/15

《中国农业百科全书·生物学》卷分册

生 物 技 术

黄为一 周湘泉 谢福祥 主编

农 业 出 版 社

(京)新登字060号

《中国农业百科全书·生物学》卷分册

生 物 技 术

黄为一 周翔泉 谢福祥 主编

• • •

责任编辑 郭何生

农业出版社出版 (北京市朝阳区农展馆北路2号)
新华书店北京发行所发行 通县向阳印刷厂印刷

850×1168mm32开本 6.25 印张 143千字
1991年12月第1版 1991年12月北京第1次印刷
印数 1-3120 册 定价 4.80 元

ISBN 7-109-02164-5/Q·103

前 言

本书是《中国农业百科全书·生物学》卷的一个分册。由生物技术和常用生物学实验技术的条目汇集而成。

从人类文明一开始，人们就注意选择生物机体改进种植业、畜牧业。这类活动，如品种改良、家畜育种、酿酒等可称为“传统生物技术”。近年来，特别是1973年首次成功地把外源DNA定向地导入到细菌中之后，选择和操纵遗传物质的能力奇迹般地进展，激发人们空前地关注生物体和生命机制，并引向多种产业的产品、工艺的创造和改良。DNA重组、细胞融合、单克隆抗体技术、酶工程、发酵工程等组成了新生物技术的主体。新生物技术从经济方面对整个世界产业的冲击和随之而来的多方面的巨大效益，使关注未来的人们对它发生浓厚的兴趣。希望了解它，利用它，甚至参与生物技术研究 and 利用。

生物技术跨越多种学科，它的研究与应用要涉及到多学科的训练。本书将满足对生物技术感兴趣的人们的希求，将分散在不同学科中的有关生物技术的基本知识集中起来，便于查阅和融汇贯通。

本书由南京农业大学、北京农业大学、中国科学院生物化学研究所、中国科学院微生物研究所、中国科学院遗传研究所、西北农业大学、南京林业大学、中国农业科学院、中国科学院细胞研究所、武汉大学等单位的专家、教授撰稿、审订而成。全书共63个条目、约14万字，可供生物科学工作者、农业科技推广人

员、大专院校师生、农业技术干部、生物技术产业管理开发人员阅读。

编辑出版专业性百科全书我们尚缺经验，且生物技术的发展日新月异，书中疏漏之处，恳请读者批评指正。

编者

1990.12.20

目 录

前言

条目分类目录

| | |
|------------------------------------|----|
| 生物技术..... | 1 |
| 遗传工程 (见染色体工程、重组 DNA 技术、细胞技术) | 4 |
| 染色体工程..... | 4 |
| 基因工程 (见生物技术) | 8 |
| 动植物抗性基因工程..... | 8 |
| 重组 DNA 技术 | 11 |
| 基因导入法..... | 16 |
| 核酸分子杂交..... | 19 |
| 核酸分子探针..... | 22 |
| 核苷酸序列分析..... | 24 |
| RFLP 分析技术..... | 26 |
| 分子克隆技术..... | 27 |
| 基因文库..... | 35 |
| PCR 技术..... | 38 |
| 蛋白质工程..... | 41 |
| 合成肽技术..... | 43 |
| 蛋白质分析技术..... | 44 |
| 酶工程..... | 46 |
| 固定化酶..... | 47 |

| | |
|------------------------|-----|
| 固定化细胞..... | 49 |
| 发酵工程 (见生物技术) | 50 |
| 细胞技术..... | 50 |
| 植物组织培养..... | 51 |
| 细胞培养..... | 54 |
| 植物细胞悬浮培养..... | 60 |
| 细胞建系及建株..... | 62 |
| 细胞融合技术..... | 66 |
| 原生质体融合 (见细胞融合技术) | 70 |
| 单克隆抗体..... | 70 |
| 杂交瘤技术 (见单克隆抗体) | 71 |
| 细胞冻存..... | 71 |
| 显微操作技术..... | 73 |
| 相差显微镜..... | 76 |
| 荧光显微镜..... | 79 |
| 暗视野显微镜..... | 82 |
| 透射电子显微镜检术..... | 83 |
| 扫描电子显微镜检术..... | 90 |
| 扫描隧道显微镜..... | 95 |
| 生物制片技术..... | 97 |
| 细菌染色技术 | 107 |
| 微生物培养技术 | 111 |
| 灭菌 | 117 |
| 消毒 | 119 |
| 菌种保藏 | 120 |
| 免疫学技术 | 123 |
| 血清学技术 | 129 |

| | |
|----------------|-----|
| 荧光抗体技术 | 134 |
| 免疫酶技术 | 135 |
| 放射免疫测定 | 141 |
| 组织化学技术 | 143 |
| 离心技术 | 152 |
| 层析技术 | 155 |
| 电泳 | 162 |
| 同位素示踪技术 | 167 |
| 辐射育种技术 | 171 |
| 胚胎技术 | 172 |
| 植物实验胚胎发生 | 179 |
| 离体受精 | 181 |
| 花药与花粉培养 | 182 |
| 胚培养 | 185 |
| 胚珠培养 | 187 |
| 子房培养 | 188 |
| 胚乳培养 | 189 |

生物技术 (biotechnology) 以生命科学为基础,利用生物体系和工程原理生产生物制品和创造新物种的综合性科学技术,又称生物工程。主要包括基因工程、细胞工程、酶工程和发酵工程四个领域。

传统的生物技术如微生物发酵技术,已在食品、制药和轻工业等部门广泛应用、并形成了庞大的产业,取得了巨大的经济效益和社会效益。70年代以来,随着基因重组、细胞(包括原生质体)和组织培养,酶的固定化、动植物细胞大规模培养、现代化生物反应器和计算机的应用以及产品分离、纯化等技术的迅速发展,生物技术进入了新的发展阶段,为解决人类所面临的食物与营养、物资与能源、环境与健康等重大问题开辟了新途径,逐渐形成一批新兴产业,并将对传统技术的改造和产业结构的调整产生深远的影响,具有巨大的经济潜力。

发酵工程 是传统的、古老的生物技术。酿酒、制醋以及酱油和豆腐乳的酿造,在中国已有几千年历史,但发酵科学理论的建立,只不过100多年。19世纪中期,法国伟大的微生物学家巴斯德(L.Pasteur)首先揭露了发酵作用的实质是由微生物引起的,由此奠定了发酵工程的科学基础,此后人们可以有意识地利用纯种微生物在特定的发酵器中生产有用的微生物产品。20世纪40年代抗生素的发现,不但引起了医药的革命性变化,使不少过去难以治疗的传染病,能有效地加以控制,而且也将传统的厌气发酵技术发展成为现代化的深层通气搅拌培养,包括菌种的分

离、选育、发酵器设计、空气净化、发酵条件以及产品分离、提纯等技术。人们可以利用这套技术大规模生产人类必需的氨基酸和维生素，用于食品和化工原料的有机酸和有机溶剂，刺激植物生长的赤霉素，促进肉用牛和羊增重的玉米赤霉醇、杀灭线虫和螨类的驱虫素以及甾体物质的转化、疫苗、酶制剂和饲料用单细胞蛋白等，从而形成了一个庞大的发酵工业，同时也展示出微生物确是一个庞大的资源宝库，有待人们进一步开发和利用。

80年代又将微生物发酵技术移植到大规模培养植物细胞，用以产生有特殊价值的植物次生代谢产物（如中草药的有效成分）。新的生物反应器、和传感器以及电子计算机应用于发酵工业，实现了生产自动化控制，大大提高了发酵的效率。当前，也有人将生物反应器单列为生物技术内容之一。

酶工程 将生物体内具有特定催化作用的酶类分离出来，在体外进行催化反应。酶反应特点是在常温、常压下，专一性地快速进行催化反应；但酶不稳定，容易失活，为了提高酶的稳定性和适于连续作业，发展了酶的固定化技术，将酶固定在特定的载体上，当反应物通过固定化酶时，即可快速催化生成相应的产物。

当前酶制剂的生产，主要依靠微生物发酵技术，自微生物发酵液或细胞中提取有用的酶类，如 α -淀粉酶、糖化酶、蛋白酶、脂酶、果胶酶、纤维素酶、葡萄糖氧化酶、葡萄糖异构酶以及用于DNA重组技术的各种工具酶等。这些酶类已被广泛用于食品加工、纺织、制革、医药、加酶洗涤剂生产和基因工程中。

从动、植物中提取的酶类尚不多，但也有巨大潜力，如从木瓜中可提取木瓜蛋白酶，用作肉的嫩化和啤酒的防浊；从牛胃中提取的凝乳酶，可用以制作奶酪；从尿或蚯蚓中提取的尿激酶或蚯蚓酶，可用以治疗脑血栓等。人们已开始研究来源于动、植物

的酶基因，将其引入微生物体进行表达，企图快速大量地生产廉价的酶。

被称为第二代生物技术的蛋白质工程的一个重要任务，是将酶分子定向地加以化学修饰和改造，使之成为更有效的酶分子。

细胞工程 将生物细胞或去壁的原生质体在离体条件下进行培养、繁殖和精细的人工操作，使其特性按照人们的意志发生改变，从而达到改良生物品种或创造新物种的目的。

中国在细胞工程方面的研究已进入世界先进行列。不少植物的细胞原生质体都已再生成为完整的植株。最近，突破了水稻、小麦、玉米、棉花和大豆的原生质体再生成株的难关，这就为利用原生质体融合产生杂种以及向原生质体引入外源基因，从而达到改良性状，创建新物种的目的打下了基础。此外，用花粉培养技术已培育出小麦、水稻等的优良品种，并大面积进行了推广；利用组织培养技术生产试管苗木，可大大加快繁殖速度，有些已进入工厂化生产。当前正在研究将组织培养的胚包上外衣，制成人工种子，播种后可发育成植株。

在动物方面，人和家畜的体外受精和胚胎移植技术，已产生了试管婴儿、试管牛、羊等；利用胚胎分割技术，已将牛、羊等的受精卵一分为二或四，并各自发育成完整的动物，加速了繁殖的速度。此外，向受精卵中注入特定的外源基因，可获得转基因动物，如在老鼠受精卵中注入人的生长素基因，可发育成巨大的超级老鼠。

杂交瘤技术的建立，可以产生**单克隆抗体**，高度专一性地作用于相应的抗原，不但可以精确快速地诊断病原，而且也有可能发展成为定向导弹药物，治疗某些癌症。当前针对动植物病原，已研制成上百种单克隆抗体，并制成了诊断试剂盒，作为商品出售。

基因工程 现代生物技术的核心。以类似工程设计的方法，按照人们的意志，通过一定程序，将具有遗传信息的基因(DNA片断)，在离体条件下，用工具酶加以剪切、组合和拼接，再将人工重组的基因，引入适当的受体中进行复制和表达，使受体获得产生该基因产物的新性状。基因工程的突破(1973年)，使某些物种的基因可以超越种间的障碍，引入其它物种的细胞中进行表达，产生原本不能产生的物质和性状。人们已将人的干扰素基因和猪的生长素基因引入大肠杆菌中进行高效表达，从而可以利用大肠杆菌，快速、大量地生产人的干扰素和猪的生长素。此外，原本是细菌的基因也可以引入动植物细胞中进行表达，使动植物能产生细菌的产物，例如将苏云金杆菌的毒素蛋白(可杀死多种为害作物的鳞翅目幼虫)基因引入植物细胞中，由此发育的植物也能产生这种毒素蛋白，当害虫吃这种植物时就中毒死亡。

现代生物技术是在已有的传统生物技术基础上发展起来的，传统的生物技术要用现代生物技术加以改造，才能发挥更大的经济效益和社会效益。

现代生物技术是多学科综合性的高技术，它的理论基础是分子生物学，同时结合微电子、电子计算机和化工等技术。

参考书目

- [日]户田清著，莫锡荣译：《生物技术概说》，化学工业出版社，北京，1988。
(户田清著：《バイオテクノロジー——のはなれ》，日刊工业新闻社，东京，昭和58年。)

(李季伦)

遗传工程 见染色体工程、重组DNA技术、细胞技术

染色体工程 (chromosome engineering) 按设计有计划

削减、添加和代换同种或异种染色体的方法和技术。也称为染色体操作。染色体工程一词，虽然在20世纪70年代初才提出，但早在30年代，美国西尔斯 (E.R.Sears)及其学生就已开始研究。它不仅在改良植物的遗传基础培育新品种上受到重视，而且也是基因定位，和染色体转移等基础研究的有效手段。

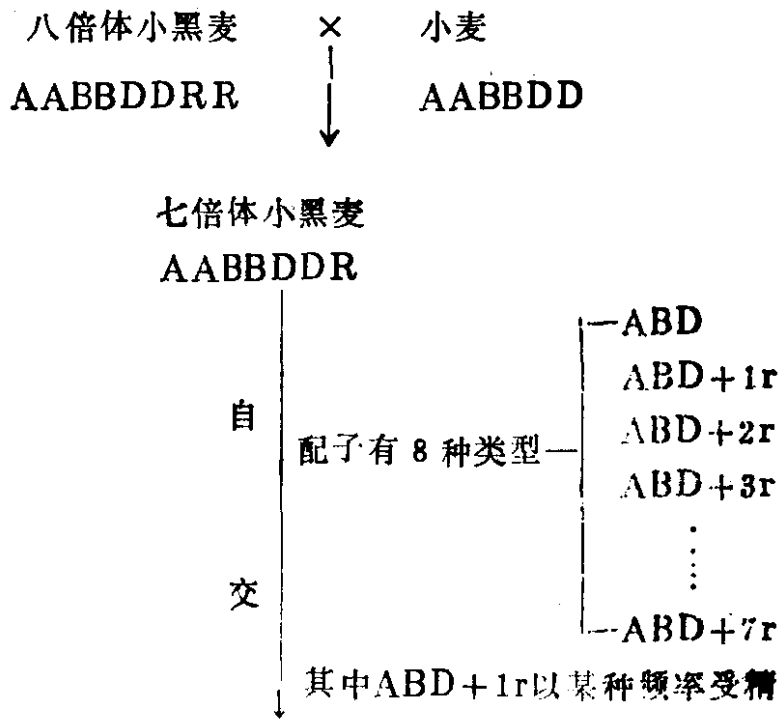
原理和方法 植物染色体工程的基本程序是人工杂交，细胞学鉴定，在杂种或杂种后代中筛选所需要的材料。以普通小麦为例，常用的材料如下：

单体与缺体系统 要从小麦细胞中消除一条染色体，获得 $2n=41$ 的单体小麦，可用单倍体小麦($n=3x=21$)与二倍体普通小麦($2n=6x=42$)杂交。单倍体小麦减数分裂时，基本上不形成二价体，可形成具有不同染色体数目的配子，其中只有具21条或20条染色体的配子有受精能力。故单倍体小麦与二倍体小麦杂交后，在杂种中就会出现正常小麦和单体小麦。通过细胞学鉴定(染色体观察)，选出单体小麦，单体小麦有21种不同类型，称小麦的单体系统。单体小麦自交后可产生 $2n=40$ 的缺体小麦，其频率约3%。用花药培养方法(离体)诱导普通小麦产生单倍体，经过受精，可以直接获得缺体和单体，单体系统和缺体系统是研究多倍体植物基因定位的基础材料，也是创制代换系的基础材料。

三体系统 用三倍体植物与二倍体杂交，从其杂种中可望得到三体植物。三倍体植物产生的雌配子中应有染色体数为 $n+1$ 的类型，与二倍体植物的雄配子(n)受精，产生的合子染色体数为 $2n+1$ ，发育成为三体植物。现在曼陀罗，玉米、大麦、黑麦、水稻、棉花、番茄、金鱼草等植物都已得到三体系统。三体系统是二倍体植物基因定位的基础材料。

异附加系 细胞中添加异种染色体的系统称异附加系。为了

获得小麦-黑麦附加系，将黑麦与小麦杂交，使杂种染色体加倍，得八倍体小黑麦 ($2n=56$)，小黑麦与小麦回交两次，第一次回交的杂种染色体组型为AABBDDR，第二次回交的杂种中将出现正常小麦和附加有一条乃至七条黑麦染色体的类型。通过细胞学观察选出 $21II+1I$ 的类型。多出的一条是黑麦染色体。这种材料自交，可以获得异附加系，程序如下：



| | | | |
|---------------|---------------|---------------|----|
| AABBDD+2r | AABBDD+1r | AABBDD | 其他 |
| 二体附加系 | 单体附加系 | 正常小麦 | |
| ($2n = 44$) | ($2n = 43$) | ($2n = 42$) | |

上述程序中，R为黑麦染色体组，1 r为一条黑麦染色体，2r为两条黑麦染色体等。小麦的黑麦异附加系有七种类型。目前小麦中除附加黑麦的异附加系外，还有附加簇毛麦、天蓝冰草、大麦等的异附加系。

异代换系 一种植物的一对染色体被他种植物的一对染色体所代换而成的新类型。创造异代换系的基本材料是缺体植物和异附加系。如用黑麦的2R染色体代换小麦的2A染色体时，需用小

麦缺体 $2A$ ($2n=42-2A_2$) 与小麦附加黑麦 $2R$ 的附加系 ($2n=42+2R_2$) 杂交。杂种 F_1 的染色体数应为 $2n=42$ ，其中有一条 $2A$ 染色体和一条 $2R$ 染色体。减数分裂时染色体构型为 $20II+2I$ ，两个一价体是 $2A$ 和 $2R$ 。减数分裂后产生的配子应有4种类型： $n=20+2A+2R$ ， $n=20+0$ ， $n=20+2A$ 和 $n=20+2R$ 。因此杂种 F_1 自交时，下代可望出现除20对小麦染色体外加一对 $2R$ 黑麦染色体的类型。即 $2n=40+2R_2$ ($2n=42=21II$)。 F_1 自交后代用正常的小麦测交，测交子代的减数分裂染色体构型若是 $20II+2I$ ，即为异代换系。

易位系 通过代换或附加异源染色体，虽然可以把有利基因引入小麦等栽培植物，但引入的染色体还常带有不利基因。建立异源易位系可能将异源染色体上的有利基因转入栽培植物中，而减少或避免不利基因的作用。

创制小麦异源易位系的方法是，对带有目的基因的单体异附加系进行辐射处理，以这种基因的表型性状为标记，在后代中选择带有这种基因性状而染色体数为 $2n=42$ 的个体。这种个体就是易位系。选用八倍体小黑麦等与普通小麦杂交，其七倍体杂种可产生具有21~28不同染色体数的八种配子类型。通过花粉培养获得的花粉单倍体植株，八种不同染色体组成的配子重组体都能保存下来，其中包括异代换系和异附加系。这是常规杂交法难以获得的材料。此外，花药培养过程中，常常发生染色体断裂、融合和重排等现象，可直接获得易位系。

实践意义 用染色体工程获得的小麦附加天蓝冰草的异附加系抗秆锈和叶锈病，冰草染色体替代的小麦染色体 $3D$ 的异代换系能抗15种秆锈病生理小种，有黑麦 $6R$ 的小麦异代换系抗白粉病，还有小偃6号是具有两个偃麦草染色体的小麦易位系，能抗各种锈病、耐干热风、丰产，已在生产上大面积推广应用。表明

染色体工程在培育抗病新品种上有重要意义。

参考书目

郝水编著：《细胞生物学教程》，高等教育出版社，北京，1984。

(郝水 胡舍)

基因工程 见生物技术

动植物抗性基因工程(genetic engineering of animals and plants for resistance) 根据分子遗传学原理，以培育具有特定抗性的动、植物新品种为目标的一套完整的生物技术。主要包括鉴定和分离抗性基因，抗性基因的重组，将抗性基因导入受体及获得抗性能够表达并稳定遗传的再生个体四个部分。近几年来，它在动植物抗性基因工程研究中应用较多，并取得了成果。

植物抗性基因工程 包括植物抗虫基因工程、抗病基因工程、抗除草剂基因工程和抗逆基因工程四大部分。植物抗虫基因工程的目的基因是编码对人畜无毒，可杀死一种或几种植物害虫的物质的基因，使害虫拒食或破坏害虫的消化系统功能的物质的基因等，将这些基因转入植物后可获得抗虫的工程植物。1987年菲斯可夫(D.A.Fischhoff)最早将苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)体内的一种晶体蛋白毒素(Ho-1毒素)的基因克隆出来，与花椰菜花叶病毒(CaMV) 35S启动子构成嵌合基因，以Ti质粒为载体将之转移到番茄植株中并得到表达，鳞翅目昆虫的幼虫取食这种转基因植物后产生厌食等症状，几天内即死亡。目前已将苏云金杆菌不同亚种的 δ -内毒素基因以类似的途径转移到烟草、水稻和棉花等植物中并表现出对鳞翅目、鞘翅目或双翅目昆虫的抗性。另一类被利用的抗虫基因是蛋白酶抑制剂的基

因，如来自豇豆的胰蛋白酶抑制剂基因，害虫取食这类转基因的植物后因消化系统中蛋白酶被钝化，不能消化食物而死亡。

植物抗病基因工程包括植物抗病毒、抗真菌、抗细菌等病原生物的基因工程。抗性基因可从植物或病原物本身，也可从其它来源获得。其中最为成功的是植物抗病毒病基因工程中病毒外壳蛋白基因的利用。1986年，美国华盛顿大学和孟山都遗传工程公司首次将烟草花叶病毒（TMV）的外壳蛋白基因转移到烟草和番茄中，成功地获得了抗TMV的工程植株并能稳定的遗传给后代，现已通过大田的试验。这种转基因植物能抑制TMV的复制，并能在一定程度上降低或阻止TMV在植株内的系统侵染。病毒的卫星RNA是病毒的寄生物，它不能独立生存，完全依赖其支持病毒进行复制。1988年中国科学工作者成功地把黄瓜花叶病毒（CMV）的卫星RNA基因克隆进入烟草，继之又转移到番茄中。转基因植株中病毒含量显著降低，植株发病率大大下降。此外，病毒的反义RNA基因、病毒中存在的具有内切酶作用的RNA序列和病毒在动物中产生抗体的基因等，都已被用来进行植物抗病毒的基因工程。植物抗病毒基因工程已在10多种病毒上获得成功。对于植物真菌和细菌病害，由于对其生理生化及遗传背景了解较少而远远落后于抗病毒基因工程。目前的研究主要集中在以下四个方面：一是研究病菌与寄主相互作用的机制；二是研究与抗性有关的cDNA；三是研究与植物抗性有关的蛋白；四是研究外源的抗菌蛋白基因向植物中转移。以促进抗病基因工程研究的更大发展。

植物抗除草剂的基因工程是用基因工程方法培育对除草剂不敏感的作物新品种。一种途径是将某种能以除草剂为底物的酶的基因转入植物，这样的转基因植物因能分解除草剂而不致受害。另一种途径是改造植物中除草剂作用的靶物位点或增加靶物产