

西安交通大学“十一五”规划教材

基因工程学原理

(第2版)

马建岗



西安交通大学出版社
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY PRESS

基因工程学原理

(第二,2 版)

马建岗 主编

西安交通大学出版社

内 容 提 要

本书较为全面、系统地阐述了基因工程的基本理论和基本概念,并力求反映该学科的最新进展。全书共14章,包括基因工程的基础理论,如生物大分子、基因工程的工具酶、目的基因的获得、基因扩增、基因的体外重组、基因的转移与重组体的检测、克隆基因的表达;基因工程在不同领域的应用,如酵母菌的基因工程、植物的基因工程、哺乳动物的基因工程、医药工业的基因工程、遗传检测与基因治疗;以及基因工程与社会伦理道德等有关问题。

本书可作为生物工程专业基因工程课程的教材,也可供相关学科各专业的教师、学生和科研工作者参考。

图书在版编目(CIP)数据

基因工程学原理/马建岗主编. —2版. —西安:西安交通大学出版社,2007.9

西安交通大学“十一五”规划教材

ISBN 978-7-5605-2455-9

I. 基… II. 马… III. 基因—遗传工程 IV. Q78

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第056542号

- 书 名 基因工程学原理(第2版)
主 编 马建岗
出版发行 西安交通大学出版社
地 址 西安市兴庆南路10号(邮编:710049)
电 话 (029)82668357 82667874(发行部)
(029)82668315 82669096(总编办)
印 刷 陕西江源印刷科技有限公司
字 数 420千字
开 本 727mm×960mm 1/16
印 张 23
版 次 2007年9月第1版 2007年9月第1次印刷
书 号 ISBN 978-7-5605-2455-9/Q·6
定 价 31.00元

版权所有 侵权必究

此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com

第 2 版前言

《基因工程学原理》第 1 版出版以来,承蒙各高等院校师生的厚爱,已重印数次,本人甚感欣慰。近年来基因工程又有了新的进展,同时本教材在这 5 年的使用过程中作者也注意收集了来自各方面的意见和建议,在西安交通大学教务处和出版社的大力支持下,终于完成了对第 1 版的修订工作。《基因工程学原理》第 2 版与第 1 版相比,主要进行了如下改动:

(1) 取消了第 3 章“DNA 的提取与纯化”,增添了新的第 3 章“基因工程的工具酶”、第 13 章“遗传检测与基因治疗”和第 14 章“基因工程与社会伦理道德”。

(2) 每章的卷首增加了“内容提要”,卷尾增加了“思考题”,以便学习者更容易掌握该章的内容,也更易于复习。同时将每章后的参考文献集中排列在书末。

(3) 对各章的内容作了必要的修订、补充和删减,使全书内容更加准确和系统。

值此第 2 版完成之际,作者对几年来使用本教材的教师、学生和其他读者,对所有关心、支持本教材的同事、朋友,对审阅、编辑和其他工作人员深表谢意。第 2 版修订章节的部分插图引自 *An Introduction of Genetic Engineering* 和 *Principles of Genetics*, 谨向原书作者 Desmond S. T. Nicholl 和 D. P. Sunstad、M. J. Simmons 表示衷心的感谢。

马建岗

2007 年春于西安交通大学

第 1 版前言

20 世纪 70 年代初诞生的基因工程,开创了人类按照自己的意愿在体外操纵生命过程的新纪元。在随后的 30 年间,基因工程的基本理论已日趋完善,而以此理论为指导的基因工程操作,也出现了令人振奋的成就。为了跟踪这一研究领域的最新进展,并将有关的研究成果及时介绍给勇于接受新事物的莘莘学子们,我们为本科生和研究生开设了基因工程学原理课程,并逐渐形成和完善了本课程的教材。

本书编写的具体分工为:马建岗编写第 1 章、第 6 章~第 12 章;王健编写第 2 章;林淑萍编写第 3 章;刘莉扬编写第 4 章;刘欣洁编写第 5 章。全书由马建岗统稿。

本课程理论授课时间为 48 学时。考虑到本课程的系统性,安排了生物大分子一章。由于学生对该章的内容在生物化学课程上已有所了解,可不作课堂讲解,留作阅读内容即可。此外,由于本教材未配专门的实验指导书,故有关章节(如 DNA 的提取与纯化、基因扩增)内容叙述较为详细,课堂讲授时可有所取舍。

赵文明教授、董兆麟教授审阅了全书,为本书的修改和定稿提出了不少宝贵的意见。西安交通大学教务处和出版社的同志在本教材出版过程中给予了热情的指导、帮助与支持,在此一并表示衷心的感谢。此外,本书的部分插图引自《Recombinant DNA》、《Molecular Cloning》和《基因工程原理》,在此向原书作者 James D. Watson, Michael Gilman, Jan Witkowski, Mark Zoller; J. Sambrook, E. F. Fritsch, T. Maniatis 和吴乃虎表示感谢。

由于基因工程的发展异常迅速,加之编写人员时间仓促,水平有限,缺点和错误在所难免,热忱欢迎使用本书的同学和同行专家指正,以便将来进一步完善。

马建岗

2001 年 7 月于
西安交通大学

目 录

第 1 章 绪论

1.1 基因与基因工程	(1)
1.1.1 基因的概念	(1)
1.1.2 基因工程与生物工程的关系	(3)
1.2 基因工程的操作和应用	(4)
1.2.1 基因工程的操作流程	(4)
1.2.2 基因工程的应用	(4)
思考题	(10)

第 2 章 生物大分子

2.1 核酸的结构与性质	(12)
2.1.1 核苷酸	(12)
2.1.2 DNA 的结构	(12)
2.1.3 RNA 的结构	(15)
2.1.4 核酸的性质	(17)
2.2 蛋白质的结构和性质	(18)
2.2.1 蛋白质的一级结构	(18)
2.2.2 蛋白质的二级结构	(19)
2.2.3 蛋白质的三级结构	(21)
2.2.4 蛋白质的性质	(21)
2.3 基因的组织	(22)
2.3.1 原核生物基因的结构	(22)
2.3.2 真核生物基因的结构	(23)
2.4 大分子间的信息传导	(25)
2.4.1 DNA 的复制	(25)
2.4.2 遗传信息的转录	(26)
2.4.3 RNA 的翻译	(30)
思考题	(35)

第3章 基因工程的工具酶

3.1 限制性核酸内切酶	(36)
3.1.1 寄主的限制和修饰现象	(36)
3.1.2 限制性核酸内切酶的类型	(38)
3.1.3 限制性核酸内切酶的命名	(44)
3.1.4 影响限制性核酸内切酶活性的因素	(45)
3.1.5 限制性核酸内切酶对 DNA 的消化作用	(47)
3.1.6 限制性核酸内切酶反应的终止	(48)
3.2 DNA 修饰酶	(49)
3.2.1 核酸酶	(49)
3.2.2 聚合酶	(50)
3.2.3 修饰 DNA 分子末端的酶	(51)
3.3 DNA 连接酶	(53)
3.3.1 大肠杆菌和 T4 噬菌体的 DNA 连接酶	(53)
3.3.2 影响连接反应的因素	(55)
思考题	(56)

第4章 目的基因的获得

4.1 从基因组 DNA 中获得目的基因	(58)
4.1.1 碱抽提法提取 DNA	(58)
4.1.2 层析法获得细胞总 RNA	(62)
4.1.3 核酸的定量和纯度测定	(63)
4.2 从基因文库中筛选目的基因	(68)
4.2.1 基因组文库的构建	(68)
4.2.2 cDNA 文库的构建	(70)
4.3 化学法合成目的基因	(76)
4.3.1 磷酸二酯法	(76)
4.3.2 亚磷酸三酯法	(78)
4.3.3 寡核苷酸的连接	(79)
4.4 通过 PCR 获得目的基因	(79)
思考题	(79)

第5章 基因扩增

5.1 PCR 技术	(81)
------------	------

5.1.1	PCR 技术的发明	(81)
5.1.2	PCR 技术的原理	(82)
5.1.3	PCR 技术的特点	(84)
5.2	聚合酶链式反应的最适条件	(85)
5.2.1	Taq DNA 聚合酶	(85)
5.2.2	引物	(90)
5.2.3	模板	(92)
5.2.4	dNTP	(93)
5.2.5	Mg ²⁺ 浓度	(94)
5.2.6	PCR 系统中的其他成分	(94)
5.2.7	PCR 的热循环计划	(94)
5.3	聚合酶链式反应技术的应用	(96)
5.3.1	基因克隆	(96)
5.3.2	反向 PCR 与染色体步移	(97)
5.3.3	不对称 PCR 与 DNA 序列测定	(98)
5.3.4	RT-PCR 与 RNA 分析	(99)
5.3.5	基因的体外诱变与突变的检测	(101)
5.3.6	基因组的比较研究	(101)
	思考题	(102)

第 6 章 基因的体外重组

6.1	基因克隆策略	(103)
6.2	克隆载体	(104)
6.2.1	质粒载体	(104)
6.2.2	噬菌体载体	(120)
6.2.3	柯斯质粒载体	(136)
6.2.4	人工染色体载体	(141)
6.3	DNA 的连接	(141)
6.3.1	DNA 片段在体内和体外的连接——粘性末端的连接	(141)
6.3.2	平齐末端的连接	(143)
	思考题	(147)

第 7 章 基因的转移与重组体的检测

7.1	重组体向寄主细胞的导入	(148)
-----	-------------	-------

7.1.1	重组体 DNA 分子的转化或转染	(149)
7.1.2	λ DNA 的体外包装	(151)
7.1.3	体外包装的 λ 噬菌体的转导	(153)
7.2	重组体克隆的筛选与鉴定	(155)
7.2.1	遗传检测法	(155)
7.2.2	物理检测法	(161)
7.2.3	核酸杂交筛选法	(162)
7.2.4	免疫化学检测法	(165)
7.2.5	DNA-蛋白质筛选法	(170)
7.2.6	转译筛选法	(171)
	思考题	(174)

第 8 章 克隆基因的表达

8.1	外源基因在原核细胞中的表达	(176)
8.1.1	原核生物基因表达的特点	(177)
8.1.2	基因表达的调控序列	(178)
8.1.3	几种类型的原核表达载体	(184)
8.1.4	提高克隆基因表达效率的途径	(187)
8.2	外源基因在真核细胞中的表达	(197)
8.2.1	真核细胞基因克隆载体	(197)
8.2.2	哺乳动物基因转移的选择标记	(206)
8.2.3	外源基因导入真核细胞的方法	(208)
	思考题	(213)

第 9 章 酵母的基因工程

9.1	酵母基因的克隆	(215)
9.1.1	穿梭质粒	(215)
9.1.2	利用大肠杆菌突变互补法克隆酵母生物合成基因	(217)
9.1.3	用简单的互补法克隆酵母基因	(219)
9.2	以酵母为材料对真核生物功能的研究	(221)
9.2.1	酵母的同源重组	(221)
9.2.2	酵母基因与高等生物基因具有相似的信号途径	(225)
9.2.3	用酵母遗传实验解答某些生化难题	(228)
9.2.4	用酵母遗传分析鉴别和研究高等生物基因	(231)

思考题..... (232)

第 10 章 植物的基因工程

10.1 再生植株..... (233)

10.1.1 植物在遗传工程方面的优缺点..... (233)

10.1.2 原生质体再生植株..... (234)

10.1.3 叶盘再生植株..... (236)

10.2 植物基因转移的途径..... (237)

10.2.1 土壤农杆菌的 Ti 质粒引起冠瘿瘤 (237)

10.2.2 Ti 质粒的 T-DNA 部分转移至植物细胞 (238)

10.2.3 T-DNA 经过改造后作为基因载体 (239)

10.2.4 用报告基因证明转移基因在植物组织中的表达..... (244)

10.2.5 病毒作为植物基因转移的载体..... (245)

10.2.6 用基因枪和电击法将 DNA 转移入植物细胞 (246)

10.2.7 用 DNA 包裹的粒子轰击可产生转基因细胞器 (248)

10.3 植物基因的表达..... (250)

10.3.1 植物表达抗感染的病毒外壳蛋白..... (250)

10.3.2 植物表达微生物毒素以阻止昆虫蚕食..... (252)

10.3.3 抗除草剂植物..... (254)

10.3.4 转基因花卉植物..... (256)

10.3.5 利用转基因植物生产有重要价值的蛋白质..... (256)

思考题..... (257)

第 11 章 哺乳动物细胞的基因工程与转基因动物

11.1 哺乳动物细胞的基因转移..... (259)

11.1.1 永久性细胞系的建立与基因转移..... (259)

11.1.2 哺乳动物细胞的选择性标记..... (259)

11.1.3 磷酸钙共沉淀与病毒粒子的基因转移..... (261)

11.1.4 应用于特殊细胞类型的转染方法..... (265)

11.1.5 用病毒载体将外源 DNA 引入细胞 (266)

11.1.6 外源 DNA 在转染入细胞后的瞬时表达 (267)

11.1.7 利用基因扩增使蛋白质高水平表达..... (270)

11.1.8 利用 COS 细胞使蛋白质高水平表达 (271)

11.1.9 牛痘病毒和杆状病毒用于蛋白质的高水平表达..... (272)

11.1.10	基因的长期稳定表达	(275)
11.2	转基因小鼠	(277)
11.2.1	转基因小鼠的微注射途径	(277)
11.2.2	转基因小鼠的胚胎干细胞途径	(279)
11.2.3	转基因的组织特异性表达	(281)
11.2.4	转基因小鼠的应用	(282)
11.3	转基因家畜	(285)
11.3.1	重组牛生长激素促进动物泌乳和改善饲料利用率	(285)
11.3.2	转基因家畜	(286)
11.3.3	用转基因动物生产药物蛋白	(287)
11.3.4	通过转基因表达病毒外壳蛋白以保护家畜免受病毒感染	(289)
	思考题	(289)

第12章 基因工程与药物蛋白生产

12.1	利用基因工程技术生产胰岛素和生长激素	(291)
12.1.1	生产重组蛋白的表达系统	(291)
12.1.2	重组人胰岛素的生产	(292)
12.1.3	重组人生长激素的生产	(293)
12.2	利用基因工程技术生产疫苗和其他复杂蛋白质	(295)
12.2.1	乙型肝炎病毒疫苗的生产	(295)
12.2.2	用哺乳动物细胞大规模生产人的复杂蛋白质	(297)
12.3	利用基因工程技术生产抗体	(298)
12.3.1	单克隆抗体	(298)
12.3.2	对识别特异性抗原的抗体直接克隆和选择	(300)
12.3.3	单克隆抗体的人源化	(301)
12.3.4	蛋白质工程使抗体具有特殊用途	(303)
	思考题	(303)

第13章 遗传检测与基因治疗

13.1	基因诊断	(304)
13.1.1	基因诊断的特点和对象	(304)
13.1.2	基因诊断技术	(305)
13.1.3	基因诊断的应用示例	(308)
13.2	基因治疗	(311)

13.2.1	基因治疗的发展过程及基本策略	(311)
13.2.2	反义核酸技术与基因治疗	(313)
13.2.3	RNA 干扰与基因治疗	(316)
13.2.4	核酶与基因治疗	(318)
13.3	基因图谱	(323)
13.3.1	RFLP 图谱	(324)
13.3.2	RAPD 图谱	(326)
13.3.3	AFLP 图谱	(330)
13.3.4	SSR 图谱	(333)
	思考题	(336)

第 14 章 基因工程与社会伦理道德

14.1	基因工程与宗教信仰和非政府组织的冲突	(337)
14.2	基因工程在医学领域的伦理道德问题	(338)
14.3	基因工程技术本身的社会伦理道德问题	(339)
14.3.1	转基因食品的安全问题	(339)
14.3.2	转基因的环境安全问题	(340)
14.3.3	克隆技术的安全问题	(341)
14.3.4	基因工程的其他社会和伦理道德问题	(342)
	思考题	(342)

	参考文献	(343)
--	------	-------

第 1 章

绪 论

内容提要:基因工程起源于 20 世纪 70 年代初,它是指将不同生物的基因在体外进行剪切、组合和拼接,使遗传物质重新组合,然后通过载体转入微生物、植物或动物细胞内,进行无性繁殖,或使所需要的基因在细胞中表达,产生出人类所需要的产物或组建成新的生物类型。基因工程在生物工程技术系统中占主导地位。基因工程与农业、工业、环境保护和医学等方面有密切的关系,对人类所面临的能源、粮食、人口、环境和疾病等日趋严重的社会问题正在并且将要发挥越来越大的作用。

20 世纪 70 年代初,在生命科学发展史上发生了一个伟大的事件,美国科学家 S. Cohen 第一次将两个不同的质粒加以拼接,组合成一个杂合质粒,并将其引入大肠杆菌体内表达。这种被称为基因转移或 DNA 重组的技术立即在学术界引起了很大的震动。很多科学家深刻认识到这一发现所包含的深层含义以及将会给生命科学带来的巨大变化,惊呼生命科学一个新时代的到来,并且预言 21 世纪将是生命科学的世纪。由于基因转移是将不同的生命元件按照类似于工程学的方法组装在一起,生产出人们所期待的生命物质,因此也被称为基因工程。基因工程的出现使人类跨进了按照自己的意愿创建新生物的伟大时代。虽然从它的诞生至今不足 40 年,但这一学科却获得了突飞猛进的发展。本书将着重介绍基因工程学的基本原理以及它的一些应用。

1.1 基因与基因工程

1.1.1 基因的概念

人们对基因的认识经历了长时间的发展过程,而且随着生命科学的发展,基因的概念还在不断深化。

1866 年,遗传学的始祖孟德尔(G. J. Mendel)在他的豌豆杂交实验论文中,将控制性状的遗传因素称为遗传因子,并且用大写字母代表显性性状,用小写字母表示隐性性状。虽然当时孟德尔对遗传的物质基础一无所知,但事实上他所讲的遗

传因子已经形成了基因的雏形。时至今日,在遗传学的分析上我们还经常用这些字母来表示所分析的基因。

1909年,丹麦的遗传学家 W. L. Johanssen 首次提出用“gene”来代替孟德尔的遗传因子(我国著名遗传学家谈家桢先生首先将“gene”翻译为“基因”),提出了基因型与表现型的区别,指出前者是一个生物的基因成分,后者是这一基因表现的性状。当时提出的基因概念仅仅是一代表遗传性状符号的改变,并未涉及遗传的物质概念。

1910年以后,美国遗传学家以果蝇为材料进行杂交实验,第一次把代表某一个性状的特定基因与某一特定染色体上的特定位置联系起来,发现了连锁交换定律。摩尔根(T. H. Morgan)提出了遗传粒子理论,认为基因是一粒一粒在染色体上呈直线排列的,且互不重叠,就像连在线上的佛珠一样。摩尔根理论的重要性在于基因已不再是一个抽象的符号,而是与染色体紧密相关的一个实体。

20世纪40年代初,物理学家和化学家把研究方向转移到对基因本质问题的探讨上。1944年,O. Avery 等首次证实遗传的物质基础是DNA,把基因位于染色体上的理论进一步推进到基因位于DNA上。1953年,J. Watson 和 F. Crick 提出了DNA双螺旋结构模型,这时,人们接受了基因是具有一定遗传效应的DNA片段的概念。

1955年,S. Benzer 基于T4噬菌体的顺反互补试验,提出了顺反子的概念。过去人们认为基因是三合一体,即既是一个功能单位,也是一个突变单位和一个交换单位。S. Benzer 通过研究证实,一个基因内部的许多位点可以发生突变,并且可以在这些位点之间发生交换,说明一个基因并不是一个突变单位或一个交换单位。实际上顺反子要比突变单位或重组单位大得多。一个顺反子内部可以发生突变或重组,即包含着许多突变子和重组子。到此为止,已经从功能单位的意义上把顺反子和基因统一起来了,顺反子实际上成为基因的同义词。

20世纪60年代,法国遗传学家 F. Jacob 和 J. Monod 在研究细菌基因调控中证实:基因是可分的,功能上是有差别的,即既有决定合成某种蛋白质的结构基因,又有阻遏或激活结构基因转录和合成蛋白质的调节基因,还有其他无翻译产物的基因。操纵基因的发现修正了一个基因就有一条多肽,或决定一个蛋白质功能的结构单位的说法,同时也提出了顺反子代替基因概念的不确切性。

20世纪70年代以后,人们陆续发现了断裂基因、重叠基因、跳跃基因,对基因的认识更进一步深化。

科学家们在比较DNA序列与相应的mRNA序列以后发现:一个基因往往由几个互不相邻的段落组成;它的内部还包含一段或几段最终不相应出现在成熟mRNA中的片段,这些不相应出现在成熟mRNA中的片段称为内含子,而相应出

现在成熟 mRNA 中的片段则称为外显子;有时一个基因可被几百个至几千个碱基所间隔,经过转录加工后在成熟的 mRNA 中这些碱基被除去。在珠蛋白基因、卵清蛋白基因、rDNA、tRNA 等的基因中均发现了这种间隔的片段。

1977年,F. Sanger 在测定噬菌体 ϕ X174 全部核苷酸序列时发现 D 基因中包含着基因 E。基因 E 的第一个密码子从基因 D 的中央一个密码子 TAT 的中间开始,因此,两个部分重叠的基因所编码的两个蛋白质大小不等,氨基酸的组成也不同。

可移动遗传因子(mobile genetic element)的发现动摇了基因是带有一定遗传信息的稳定结构的概念,使人们认识到也有跳跃的遗传因子。

综上所述,我们对基因的认识可以肯定以下几点:基因是实体,它的物质基础是 DNA(或 RNA)。基因是具有有一定遗传效应的 DNA 分子中的特定核苷酸序列。基因是遗传信息传递和性状分化发育的依据。基因是可分的。根据基因的产物可将其分为编码蛋白质的基因(包括编码酶和结构蛋白的结构基因以及编码作用于结构基因的阻遏蛋白或激活蛋白的调节基因),无翻译产物的基因(如转录成为 RNA 以后不再翻译成为蛋白质的转运核糖核酸 tRNA 基因和核糖体核酸 rRNA 基因)以及不转录的 DNA 区段(如启动区、操纵基因等)。概括说来,基因是一个含有特定遗传信息的核苷酸序列,它是遗传物质的最小功能单位。

1.1.2 基因工程与生物工程的关系

生物工程亦称生物技术,是 20 世纪 70 年代初在分子生物学、细胞生物学和遗传学基础上发展起来的一个新兴领域。它主要包括以下 5 个方面。

(1)基因工程 对不同生物的遗传物质——基因,在体外进行剪切、组合和拼接,使遗传物质重新组合,然后通过载体(质粒、噬菌体或病毒等)转入微生物、植物或动物细胞内,进行无性繁殖,并使所需要的基因在细胞中表达,产生出人类所需要的产物或组建成新的生物类型。

(2)细胞工程 包括细胞融合、细胞大规模培养以及植物组织培养快速繁殖技术。细胞融合技术是指将两种不同种类的细胞,通过化学、生物学或物理学手段使之融合在一起,从而产生出兼备两个亲本遗传特性的新的细胞。细胞大规模培养技术是以工业化生产为目的,摆脱气候、产地、季节的限制,从大量培养的细胞中获得药物或其他有用物质。植物组织培养快速繁殖技术是利用植物细胞的全能性由扩增的细胞分化再生成植株,这样就有可能用细胞器官和组织的再生苗来代替种子实生苗,无限地扩大繁殖系数。

(3)酶工程 包括酶的生产应用、酶和细胞的固定化以及酶的分子修饰技术。酶是生物体内产生的具有催化作用的蛋白质。其催化效率超出化学催化千百倍,

而且是在常温、常压下进行,专一地催化某一反应。所谓酶工程,就是在一定的生物反应器中,利用酶的催化作用将相应的原料转化成有用物质的技术。

(4)微生物发酵工程 包括菌种选育、菌体生产利用、代谢产品的生产利用以及微生物机能的利用技术。微生物发酵工程是利用微生物的特定性状,通过现代化工程技术,生产有用物质或直接应用于工业生产的一种技术体系。

(5)生化工程 包括生物反应器设计制造、传感器的研制以及产物的分离提取和精制技术。

以上5个方面的工程技术系统是相互依赖、相辅相成的,但在这些技术系统中,基因工程占主导地位。因为,只有用基因工程改造过的微生物和细胞,才能真正按照人们的意愿进行工程设计,产生出特定的生物工程产品。而微生物发酵工程又常常是基因工程的基础和必备条件。生化工程是其他生物工程技术转化为生产力时所必不可少的重要环节。正是由这5个工程技术系统,共同组成了现代生物工程学。从图1-1我们可以更清楚地理解它们之间的关系。

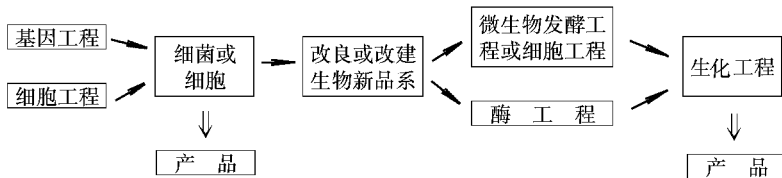


图 1-1 基因工程与生物工程的关系

1.2 基因工程的操作和应用

1.2.1 基因工程的操作流程

一个完整的基因工程流程一般包括目的基因的获得、载体的制备、重组体的制备、基因的转移、基因的表达、基因工程产品的分离提纯等过程。

传统的基因工程操作是将真核生物细胞的基因在原核生物细胞内表达。这一过程包括真核细胞基因的分离、目的基因与载体分子在细胞外的重组、重组体分子转化原核细胞等环节(图1-2)。

1.2.2 基因工程的应用

尽管基因工程出现后的一段时间内带给人们的是猜疑和恐惧,但它还是以迅猛的速度发展。实践表明,基因工程会给人类带来难以估量的经济效益和社会效

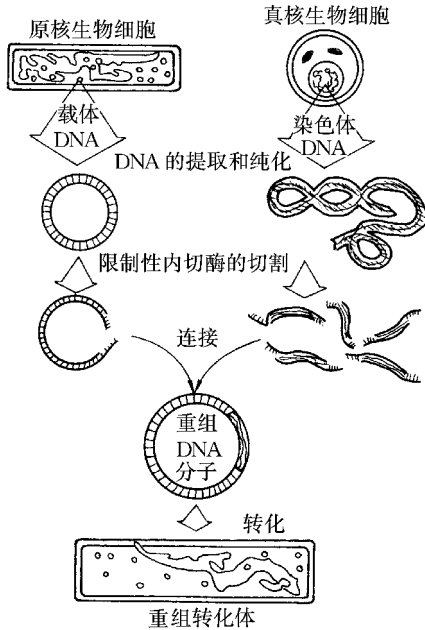


图 1-2 典型的重组 DNA 实验

益。特别是对人类所面临的能源、粮食、人口、环境和疾病等日趋严重的社会问题，基因工程正在并且将要发挥越来越大的作用。

1. 基因工程与农业

基因工程在农业中的应用主要包括提高植物光合作用效率、扩展植物的固氮能力、生产转基因植物和转基因动物等。

(1) 光合作用 光合作用是指绿色植物将大气中的二氧化碳转化为碳水化合物，并向周围环境释放氧气的过程。这一过程是在叶绿体中进行的，叶绿体是绿色植物特有的细胞器，其功能与生存是受核基因组控制的。

绿色植物光合作用的产物约占植物干重的 95% 以上，它是地球上一切动物（包括大多数微生物）的生命源泉，同时也是人类社会的主要物质和能量的来源。然而，地球上的植物利用太阳能的效率相当低。据统计，农作物的产量还不到转变为生物量的太阳能的 5%。因此，提高光合作用效率具有重要意义。应用基因工程技术，已经克隆了许多种参与光合作用的基因并分析了光对基因表达的调节作用。目前的工作主要有如下两个方面：一是深入研究在 CO_2 的固定反应中起关键作用的二磷酸核酮糖羧化酶 (RuBisCo)，以便提高其与 CO_2 的亲合力，以及取消或减少光呼吸的竞争反应。实验表明，通过交换 RuBisCo 亚基的基因，将不同来源