

基础篇

第一章 绪论

学习要求 概要了解生物技术的含义、特点及其发展简史。了解现代生物技术的各项技术及其与其他学科的相互关系。了解现代生物技术的主要应用及其对人类社会发展的影响。

生物技术是当今世界发展最快、潜力最大和影响最深远的一项高新技术，被视为 21 世纪人类彻底解决人口、资源、环境三大危机，实现可持续发展的有效途径之一。所以，世界各国都将生物技术确定为增强国力和经济实力的关键技术之一。我国政府同样十分重视生物技术，并组织力量追踪和攻关。现代生物技术为什么会引起世界各国如此普遍的关注和重视？它同国民经济和理、工、农、医等科技与生产实践有何关系？首先，生物技术是解决全球经济问题的关键技术，在迎接人口、资源、能源、食物和环境五大危机的挑战中将大显身手。其次，生物技术将广泛地应用于医药卫生、农林牧渔、轻工、食品、化工、能源和环境等领域，促使传统产业的技术改造和新兴产业的形成，对人类社会生活将产生深远的革命性的影响。所以，生物技术是现实生产力，也是具有巨大经济效益的潜在生产力。生物技术是 21 世纪高新技术的核心内容，生物技术产业是 21 世纪的支柱产业。

第一节 现代生物技术的概念

一、生物技术的含义

生物技术 (biotechnology)，有时也称为生物工程 (bioengineering)，是指

人们以现代生命科学为基础，结合先进的工程技术手段和其他基础学科的科学原理，利用生物体或其体系或它们的衍生物来制造人类所需要的各种产品或达到某种目的的一门新兴的、综合性的学科。

先进的生物工程技术一般是指基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程及生化工程（后处理工序）等中的新技术。生物体是指经改造而获得优良特性的动物、植物或微生物品系。生物原料则指生物体的某一部分或其生长过程产生的能利用的物质，如蛋白质、淀粉、脂肪、纤维素等有机物或无机物。为人类生产所需要的产品包括医药、食品、化工原料、能源、金属等各种产品。达到某种目的则包括疾病的预防、诊断与治疗、环境污染的检测和治理等。

二、生物技术的内容

生物技术是一门综合性的新兴学科。根据其操作的对象及操作技术的不同，生物技术主要包括基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程和生化工程 5 项工程技术。

（一）基因工程

基因工程（gene engineering）是 20 世纪 70 年代初随着 DNA 重组技术的发展应运而生的一门新技术，是指在基因水平上的操作并改变生物遗传特性的技术。即按照人们的需要，用类似工程设计的方法将不同来源的基因（DNA 分子）在体外构建成杂种 DNA 分子，然后导入受体细胞，并在受体细胞内复制、转录和表达的操作，也称 DNA 重组技术。因此，由该技术构建的且具有新遗传性状的生物称为基因工程生物或转基因生物。

（二）细胞工程

一般认为，细胞工程（cell engineering）是指以细胞为基本单位，在体外条件下进行培养、繁殖或人为地使细胞某些生物学特性按人们的意愿发生改变，从而达到改良生物品种和创造新品种的目的，加速繁育动植物个体，或获得某种有用物质的技术。细胞工程主要包括动植物细胞的体外培养技术、细胞融合技术（也称细胞杂交技术）、细胞器移植技术等。

（三）酶工程

酶工程（enzyme engineering）是利用酶、细胞器或细胞所具有的特异催化功能或对酶进行修饰改造，并借助生物反应器和工艺过程来生产人类所需产品的技术。主要包括酶的固定化技术、细胞固定化技术、酶的修饰改造技术及酶反应器的设计技术等。

(四) 发酵工程

发酵工程 (fermentation engineering) 是指利用包括工程微生物在内的某些微生物或动、植物细胞及其特定功能, 通过现代工程技术手段 (主要是发酵罐或生物反应器的自动化、高效化、功能多样化、大型化) 生产各种特定的有用物质; 或者把微生物直接用于某些工业化生产的一种技术。由于发酵多与微生物密切联系在一起, 所以又有微生物工程或微生物发酵工程之称。

(五) 生化工程

生化工程 (biochemical engineering) 是生物化学工程的简称。它是利用化学工程原理和方法对实验室所取得的生物技术成果加以开发, 使之成为生物反应过程的技术。

应该指出, 上述 5 项技术并不是各自独立的, 它们彼此之间是互相联系、互相渗透的 (图 1-1)。其中的基因工程技术是核心技术, 它能带动其他技术的发展。如通过基因工程对细菌或细胞改造后获得的工程菌或细胞, 都必须分别通过发酵工程或细胞工程来生产有用的物质; 同样可通过基因工程技术对酶进行改造以增加酶的产量、提高酶的稳定性以及酶的催化效率等。而生化工程则是上述各项技术产业化的下游关键技术。

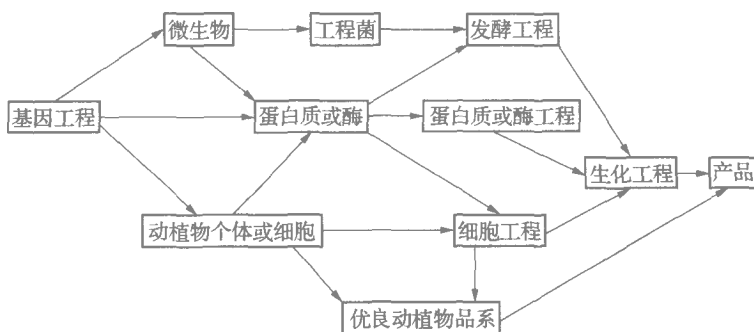


图 1-1 现代生物技术五大工程之间的相互关系

三、现代生物技术涉及的学科

现代生物技术是自然科学领域中涵盖范围最广的学科之一。它们以包括分子生物学、细胞生物学、微生物学、免疫学、生理学、生物化学、生物物理学、遗传学等几乎所有的生物学科的次级学科为支撑, 又结合诸如化学、化学工程学、数学、物理、微电子技术、计算机科学等生物学领域之外的基础学科, 从而形成了一门多学科互相渗透的综合性学科 (图 1-2)。其中以生命科

学领域的重大理论和技术的突破为基础。例如：没有 DNA 双螺旋结构及 DNA 半保留复制模式的阐明，没有遗传密码的破译及 DNA 与蛋白质关系等理论上的突破，没有 DNA 限制性内切酶、DNA 连接酶等工具酶的发现，就没有基因工程高技术的出现；没有动、植物细胞培养的方法以及细胞融合方法的建立，就不可能有细胞工程的出现；没有蛋白质结晶技术及蛋白质三维结构的深入研究以及化工技术的进步，就不可能有酶工程和蛋白质工程的产生；没有生物反应器及传感器以及自动化控制技术的应用，就不可能有现代发酵工程的出现；没有计算机信息技术等发展，就不可能有基因组学、蛋白质组学和生物信息学的建立。此外，所有生物技术领域还使用了大量的高精密的仪器设备(表 1-1)。没有这些仪器设备的使用和技术的结合渗透，生物技术研究就不可能深入到分子水平，也就不可能有现代生物技术。

表 1-1 重要的现代生物技术仪器和设备

名 称	用 途
1. DNA 自动测序仪	自动测定核酸的核苷酸序列
2. 蛋白/多肽自动测序仪	测定蛋白质、多肽的氨基酸序列
3. 半自动 DNA 测序仪	测定核酸的核苷酸序列
4. DNA 自动合成仪	合成已知寡核苷酸序列
5. 蛋白/多肽自动合成仪	合成已知氨基酸序列的蛋白质或多肽
6. 生物反应器	细胞的连续培养
7. 发酵罐	微生物细胞培养
8. 热循环仪（聚合酶链式反应仪、PCR 仪）	DNA 快速扩增
9. 基因转移设备	将外源 DNA 引进靶细胞
10. 高效液相色谱仪	物质的分离与纯化及纯度鉴定
11. 电泳设备	物质的分离与纯化及纯度鉴定
12. 凝胶电泳设备	蛋白质和核酸的分离与分析
13. 毛细管电泳仪	质量控制与组分分析
14. 超速、高速离心机	分离生物大分子物质
15. 电子显微镜	观察细胞及组织的超微结构

人类已进入知识经济时代，知识经济的基本特征就是知识不断创新，高新技术迅速产业化。生物技术具有的先进性、优越性和不可替代性以及与其他高

新技术的交叉渗透和集成，特别是人类基因组研究的进展、生物芯片、组织工程等技术的兴起，使得生物技术也迅速产业化。生物技术产业涉足的领域非常广泛，它包括医药、农业、畜牧业、食品、化工、林业、海洋、环境、采矿冶金、材料、能源等领域（图 1-2）。

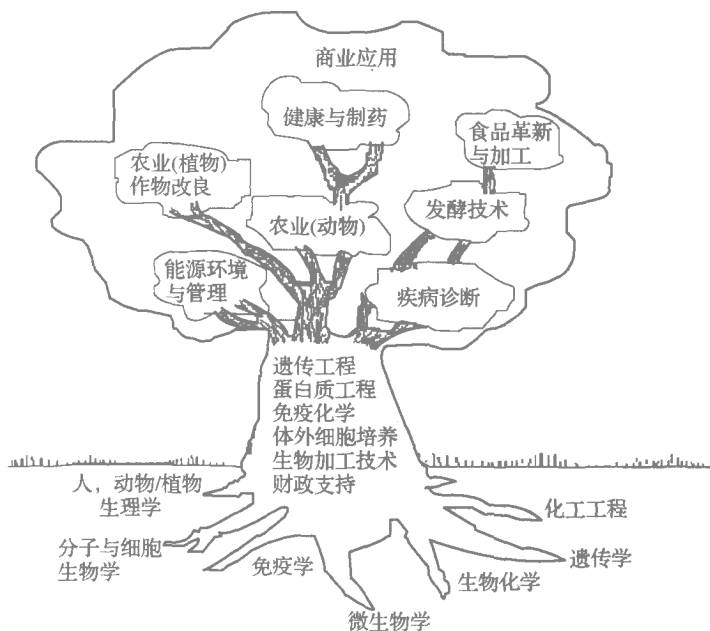


图 1-2 生物技术树

第二节 生物技术的发展简史

生物技术的发展经历了三个阶段：①以制酒、食品加工、农业、畜牧业为主的作坊式的生物技术；②以抗生素为代表，发酵工程为主要技术的工业化的生物技术；③现代生物技术。现代生物技术是以基因工程为源头，基因工程和基因组工程为主导技术，是与其他高技术相互交叉、渗透的一项高新技术。

生物技术可追溯到史前时代，在石器时代后期，我国人民就利用谷物造酒，这是最早的发酵技术。在公元前 221 年，周代后期，我国人民就开始制作豆腐、酱和醋。公元 10 世纪我国就有了预防天花的活疫苗。公元前 6000 年苏美尔人和巴比伦人就已开始啤酒发酵。埃及人则在公元前 4000 年就开始制作面包。随着显微镜的制作，到 19 世纪 60 年代法国科学家 L.Pasteur（1822—

1895) 首先证实发酵是由微生物引起的, 并首先建立了微生物的纯种培养技术, 从而为发酵技术的发展提供了理论基础, 使发酵技术纳入科学的轨道。发酵技术被广泛地应用于食品、抗生素和化工原料的生产, 极大地推动了传统生物技术的发展。

现代生物技术是以 20 世纪 70 年代 DNA 重组技术的建立为标志的。基因工程技术的形成和发展, 带动了现代发酵工程、现代酶工程、现代细胞工程以及蛋白质工程的发展, 加速了基因组学、蛋白质组学和生物信息学的产生以及生物芯片、组织工程等新技术的兴起, 促进了现代生物技术的不断发展 (表 1-2)。

表 1-2 现代生物技术发展史上的主要事件

年代	事 件
1917	Karl Ereky 首次使用“生物技术”一词
1943	大规模工业生产青霉素
1944	Avery、Macleod 和 McCarty 通过实验证明 DNA 是遗传物质
1953	Watson 和 Crick 发现了 DNA 的双螺旋结构
1958	Crick 提出了遗传信息传递的中心法则
1961	Monod 和 Jacob 提出操纵子学说
1961	《Biotechnology and Bioengineering》杂志创刊
1966	Nireberg 等人破译遗传密码
1967	发现 DNA 连接酶
1970	Smith 和 Wilcox 分离出第一个限制性内切酶 <i>Hind</i> II
1970	Baltimore 和 Temin 等人发现逆转录酶, 打破了中心法则, 使真核基因的制备成为可能
1971	Crick 对中心法则做了补充, 提出了三角形中心法则
1972	Khorana 等人合成了完整的 tRNA 基因
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	第一个 DNA 重组技术规则问世
1976	DNA 测序技术诞生
1977	Itakura 实现了真核基因在原核细胞中的表达
1978	Genentech 公司在大肠杆菌中表达出胰岛素
1980	美国最高法院对经基因工程操作的微生物授予专利
1981	第一台商业化生产的 DNA 自动测序仪诞生
1981	第一个单克隆抗体诊断试剂盒在美国被批准使用
1982	用 DNA 重组技术生产的第一个动物疫苗在欧洲获得批准

(续)

年代	事 件
1983	基因工程 Ti 质粒用于植物转化
1988	美国对肿瘤敏感的基因工程鼠授予专利
1988	PCR 技术问世
1990	美国批准第一个体细胞基因治疗方案
1997	英国培养出第一只克隆羊多莉
1998	美国批准艾滋病疫苗进行人体试验
1998	日本培养出克隆牛, 英美国培养出克隆鼠
2000	人类基因组草图正式发表
2001	德国科学家首次报道了 RNA 干扰技术
2002	中国科学家率先绘制成水稻基因组“精细图”
2002	中国科学家率先开发出癌症检测生物芯片

第三节 现代生物技术的主要应用

现代生物技术与电子信息技术和新材料技术一样, 是当今极重要的三大高新技术之一。它的发展已深刻影响到人类的生活及工农业生产、医学卫生、食品、能源、环保等各个领域, 给人类带来了大量有价和无价的效益。

一、农业生产上的应用

“民以食为天”, 粮食问题是一个国家经济健康发展的基础。世界人口已超过 50 亿, 2010 年将达到 60 亿, 而耕地面积不但不会增加, 反而有减少的趋势。所以, 在今后几十年的发展中如何满足人们对食品增加的需求, 将是各国政府首先要解决的问题。现代生物技术提供了一条有效的途径。

(一) 提高农作物产量和品质

1. 培育抗逆的作物优良品系 通过基因工程技术可对生物进行基因转移, 使生物体获得新的优良品性, 即转基因技术。通过转基因技术获得的生物体称为转基因生物, 例如转基因植物, 就是对植物进行基因转移, 其目的是培育出具有抗寒、抗旱、抗盐、抗病虫害等抗逆特性及品质优良的作物新品系。至 1994 年, 全世界批准进行田间实验的转基因植物已达 1 467 例, 转基因作物包括马铃薯、油菜、烟草、玉米、番茄、甜菜、棉花、大豆、苜蓿等。转基因性

能包括抗除草剂、抗病毒、抗盐碱、抗旱、抗虫、抗病以及作物品质改良等。

2001 年全世界转基因作物的种植面积已达到 $44.2 \times 10^6 \text{ hm}^2$ 。

我国是人口大国，人多地少，粮食问题更是我国经济发展、社会稳定的关键。我国政府对农业生物技术极为重视，投入了大量人力、物力，并取得了举世瞩目的成就，已培育了包括水稻、棉花、小麦、油菜、甘蔗、橡胶等一大批作物新品系。例如，我国首创的两系法水稻杂交优势利用，已先后培育出了具有实用价值的梗型光敏核不育系 N5047S、7001S 等新品系，一般增产达 10% 以上，高产可增产 40%。国家杂交水稻工程技术中心袁隆平教授，1997 年试种其培育的“超级杂交稻” 0.24 hm^2 (3.6 亩)，平均产量高达 $13\,260 \text{ kg/hm}^2$ (亩产 884 kg)。超级杂交水稻的大面积生产产量已达 $10\,500 \sim 12\,000 \text{ kg/hm}^2$ 。1998 年总理特批基金 1 000 万元，用于支持该项研究的深化与推广。我国学者还将苏云金杆菌的 *Bt* 杀虫蛋白基因转入棉花，培育抗虫棉，对棉铃虫杀虫率高达 80% 以上。

2. 植物种苗的工厂化生产 利用细胞工程技术可对优良品种进行大量的快速无性繁殖，实现工业化生产。该项技术又称植物的微繁殖技术。植物细胞具有全能性，一个植物细胞有如一株潜在的植物。利用植物的这种特性，可以从植物的根、茎、叶、果、穗、胚珠、花药或花粉等植物器官或组织取得一定量的细胞，在试管中培养这些细胞，使之生长成为所谓的愈伤组织。愈伤组织具有很强的繁殖能力，可在试管内大量繁殖。在一定的植物激素作用下，愈伤组织又可分化出根、茎、叶，成为一株小苗。利用这种无性繁殖技术，可在短时间内得到大量遗传稳定的小苗（这种小苗称为试管苗，以区别于种子萌发的实生苗），并可实现工厂化生产。一个 10 m^2 的恒温室，可繁殖 1 万 ~ 50 万株小苗。所以，该项技术可使有价值的、自然繁殖慢的植物在很短的时间内和有限的空间内得到大量的繁殖。

利用植物微繁殖技术还可培育出不带病毒的脱毒苗。由于植物的根尖或茎尖分生组织常常是不带病毒的，用这种细胞在试管中进行无菌培养而繁育的小苗也是不带毒的，减少了病毒感染的可能性。

植物的微繁殖技术已广泛地应用于花卉、果树、蔬菜、药用植物和农作物的快速繁殖，实现商品化生产。我国已建立了多种植物试管苗的生产线，如葡萄、苹果、香蕉、柑橘、花卉等。

3. 提高粮食品质 生物技术除了可培育高产、抗逆、抗病害的新品系外，还可培育品质好、营养价值高的作物新品系。例如，美国威斯康星大学的学者用菜豆贮藏蛋白基因转移到向日葵中，使向日葵种子含有菜豆贮藏蛋白。利用转基因技术培育番茄可延缓其成熟变软，从而避免运输中的破损。大米是我们

的主要粮食，含有人体自身不能合成的 8 种必需氨基酸，但其蛋白质含量很低。人们正试图将大豆贮藏蛋白基因转移到水稻中，培育高蛋白质的水稻新品系。利用反义 RNA 技术抑制玉米、水稻等作物中淀粉合成途径的关键酶可改变淀粉的含量和直链与支链淀粉的比例。

4. 生物固氮，减少化肥使用量 现代农业均以化肥做肥料，如尿素、硫酸铵作为氮肥的主要来源。化肥的使用不可避免地造成了土地板结，导致土壤肥力下降；化肥的生产又导致环境污染。科学家们正努力将具有固氮能力的细菌的固氮基因转移到作物根际周围的微生物体内，希望这些微生物进行生物固氮，减少化肥的使用量。例如，日本学者将固氮基因转移到水稻根际微生物中，这些微生物提供了水稻需氮量的 $1/5$ 。我国已成功地构建了 12 株水稻粪产碱菌耐铵工程菌，使用这种细菌可节约化肥 $1/5$ ，平均增产 $5\% \sim 12.5\%$ 。

(二) 发展畜牧业生产

1. 动物的大量快速无性繁殖 植物细胞有全能性，所以可采用微培养技术大量快速无性繁殖，达到工厂化生产的目的。那么，动物细胞是否可能呢？这在 1997 年之前，还只能证实高等动物的胚胎 2 细胞到 64 细胞团具有全能性，可进行分割培养，即所谓的胚胎分割技术。1997 年 2 月英国 Roslin 研究所在世界著名的权威刊物《自然》杂志上刊登了用绵羊乳腺细胞培育出一只小羊——多莉。这意味着动物体细胞也具有全能性，同样有可能进行动物的大量快速无性繁殖。

2. 培育动物的优良品系 利用转基因技术，可将与动物优良品质有关的基因转移到动物体内，使动物获得新的品质。第一例转基因动物是 1983 年美国学者将大鼠的生长激素基因导入小鼠的受精卵里，再把受精卵转移到借腹怀胎的雌鼠内。生下来的小鼠因带有大鼠的生长激素基因而使其生长速度比普通小鼠快 50% ，并可遗传给下一代。除了小鼠外，科学家们已成功地培育了转基因羊、转基因兔、转基因猪、转基因鱼等多种动物新品系。

我国在转基因动物研究方面，同样做了大量的工作，有的已达到了国际领先水平。先后培育了生长激素转基因猪、抗猪瘟病转基因猪、生长激素转基因鱼（包括红鲤、泥鳅、鲫鱼）等。

二、医药产业上的应用

医药生物技术是生物技术领域中最活跃，产业发展最迅速，效益最显著的领域。其投资比例（图 1-3）及产品市场（表 1-3）均占生物技术领域的首位。这是因为生物技术为探索妨碍人类健康的因素和提高生命质量提供了最有

效的手段。生物技术在医药领域的应用上涉及新药开发、新诊断技术、预防措施及新的治疗技术。

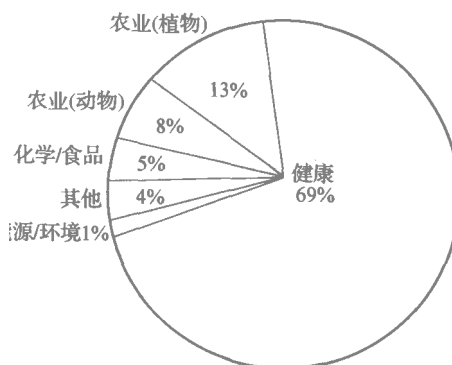


图 1-3 美国工业化生物技术研究与发展基金分布图

表 1-3 美国生物技术产品销售预测 (百万美元)

领 域	1998 年	2003 年	2008 年	年增长率 (%)
人类疾病治疗	9 120	16 100	27 000	11
人类疾病诊断	2 100	3 100	4 300	7
农业	420	1 000	2 300	19
特制品	390	900	2 000	18
非医疗检验	270	400	600	8
合计	12 300	21 500	36 200	11

(一)开发制造奇特而又贵重的新型药品

抗生素是人们最为熟悉、应用最广泛的生物技术药物。已分离到 6 000 多种不同的抗生素,其中约 100 种被广泛使用。抗生素的每年销售额约 100 亿美元。

1997 年,美国首先采用大肠杆菌生产了人类第一个基因工程药物——人生长激素释放抑制激素,开辟了药物生产的新纪元。该激素可抑制生长激素、胰岛素和胰高血糖素的分泌,用来治疗肢端肥大症和急性胰腺炎。如果用常规方法生产该激素,50 万头羊的下丘脑才能生产 5 mg,而用大肠杆菌生产,生产 5 mg 的该激素只需 9 L 细菌发酵液。

由于细菌与人体在遗传体制上的差异较大,许多人类所需的蛋白质类药物用细菌生产往往是没有生物活性的。人们不得不放弃用细菌生产这种最简单的方法而另找其他方法,利用细胞培养技术或转基因动物来生产这些蛋白质药物

是近几年发展起来的另一种生产技术。如转基因羊生产人凝血因子Ⅸ；转基因牛生产人促红细胞生成素；转基因猪生产人体球蛋白等。

用基因工程生产的药物，除了人生长激素释放抑制激素外，还有人胰岛素、人生长激素、人干扰素、肿瘤坏死因子、集落刺激因子等。全世界已有 20 多种基因工程药物面市。另外，还有约 400 多种生物制剂正在进行临床实验，2 000 多种处于前期的实验室研究阶段。1987 年所有上市的基因工程药品价值约 5.4 亿美元，到了 1993 年，10 种主要基因工程药品的经销额已达到 77 亿美元。20 世纪末已达到 100 亿美元，预计到 2004 年将达到 140 亿美元。这清楚地表明，基因工程药物的产业前景十分光明，本世纪整个医药工业将进行更新换代。

(二)疾病的预防和诊断

前面提到，我国人民早在公元 10 世纪就已开始种痘预防天花。这是利用生物技术手段达到疾病预防的最早例子。但由于传统的疫苗生产方法对某些疫苗的生产和使用，存在着免疫效果不够理想、被免疫者有被感染的风险等不足，科学家们一直在寻找新的生产手段和工艺，而用基因工程生产重组疫苗可以达到安全、高效的目的，如已经上市或已进入临床实验的病毒性肝炎疫苗（包括甲型和乙型肝炎等）、肠道传染病疫苗（包括霍乱、痢疾等）、寄生虫疫苗（包括血吸虫、疟疾等）、流行性出血热疫苗、EB 病毒疫苗等。

1998 年初，美国食品和药物管理局（FDA）批准了首个艾滋病疫苗进入人体实验。这预示着艾滋病或许可以像乙型肝炎、脊髓灰质炎等病毒性疾病那样得到有效的预防。

利用细胞工程技术可以生产单克隆抗体，既可用于疾病治疗，又可用于疾病的诊断。如用于肿瘤治疗的“生物导弹”，就是将治疗肿瘤的药物与抗肿瘤细胞的抗体连接在一起，利用抗体与抗原的亲合性，使药物集中于肿瘤部位以杀死肿瘤细胞，减少药物对正常细胞的毒副作用。单克隆抗体更多的是用于疾病全部诊断和治疗效果的评价。目前单克隆抗体用于免疫检测大约占全部诊断试剂的 30%。

用基因工程技术还可以生产诊断用的 DNA 试剂，称为 DNA 探针，主要用来诊断遗传性疾病和传染性疾病。

(三)基因治疗

导入正常的基因来治疗由于基因缺陷而引起的疾病，一直是人们长期以来追求的目标。但由于其技术难度很大，困难重重，一直到 1990 年 9 月，美国 FDA 才批准用 ADA（腺苷脱氨酶）基因治疗严重联合型免疫缺陷症（一种单基因遗传病），并取得了较满意的结果。这标志着人类疾病基因治疗的开始。

已有涉及恶性肿瘤、遗传病、代谢性疾病、传染病等的 90 个基因治疗方案通过了 FDA 的审查,其中 60 个方案正在实施中。我国则有包括血友病、地中海贫血、恶性肿瘤等多个基因治疗方案正在实施中。

(四)人类基因组计划

1986 年美国生物学家诺贝尔奖获得者 Dulbecco 首先倡议,全世界的科学家联合起来,从整体上研究人类的基因组,分析人类基因组的全部序列以获得人类基因所携带的全部遗传信息。毫无疑问,该项工作的完成,将使人们深入认识许多困扰人类的重大疾病的发病机理;阐明种族和民族的起源与演化,进一步揭示生命的奥秘。1990 年春,美国国立卫生研究院(NIH)和能源部(DOE)联合发表了美国的人类基因组计划,1990 年 10 月 1 日正式启动,历时 3 个五年计划(1990—2005),耗资 30 亿美元。

20 世纪 90 年代的人类基因组计划的科学意义如同 60 年代的登月计划。所以继美国之后,欧盟国家、日本、俄罗斯、加拿大、澳大利亚和我国也相继启动了人类基因组计划。无疑,人类基因组计划的实施和完成将会对生命科学产生重大影响。

三、能源开发和环境保护方面的应用

(一)开发清新能源

我们日常生活中的每一个方面(包括衣、食、住、行)都离不开能源。目前,石油和煤炭是我们生活中的主要能源。然而,地球上的这些化石能源是不可再生的,也终将枯竭。开发新型、清洁、再生能源将是人类面临的一个重大课题。生物能源将是最有希望的新能源之一,而其中又以乙醇最有希望成为新型、清洁的替代能源。

远古时代,人们就已经开始了乙醇的发酵生产。但由于它使用谷物作为原料,且发酵效率较低,成本较高,不适合于能源生产。科学家们希望找到一种特殊的微生物,这种微生物可以利用大量的农业废弃物(如杂草、木屑、植物的秸秆等纤维素或木质素物质)或其他工业废弃物作为原料生产乙醇。同时改进生产工艺以提高乙醇得率,降低生产成本。

通过微生物发酵或固定化酶技术,将农业或工业的废弃物变成沼气或氢气,也是一种取之不尽,用之不竭的能源。

生物技术还可用来提高石油的开采率。目前石油的一次采油,仅能开采储量的 30%。二次采油需加压、注水,也只能获得储量的 20%。深层石油由于吸附在岩石空隙间,难以开采。加入能分解蜡质的微生物后,利用微生物分解

蜡质使石油流动性增加而获取石油，称为三次采油。

(二)环境保护

传统的化学生产过程大多在高温高压下进行，呈现在人们面前的几乎都是大烟囱冒浓烟的景象。这是一个典型的耗能过程并带来环境的严重恶化。如果改用生物技术方法来生产，不仅可以节约能源，而且还可以避免环境污染。例如，用化学方法生产农药，不仅耗能而且严重污染环境，如改用苏云金杆菌生产毒性蛋白，即可节约能源，而且该蛋白质对人体无毒。

现代农业及石油、化工等现代工业的发展，开发了一大批天然或合成的有机化合物，如农药、石油及其化工产品、塑料燃料等工业产品，这些物质连同生产过程中大量排放的工业废水、废气、废物已给我们赖以生存的地球带来了严重的污染。已发现的有致癌活性的污染物达 1 100 多种，严重威胁着人类的健康。但是小小的微生物有着惊人的降解这些有害物质的能力。人们可以利用这些微生物净化有毒的化合物、降解石油污染、清除有毒气体和恶臭物质、综合利用废水和废渣、处理有毒金属等，达到净化环境、保护环境、废物利用并获得新的产品的目的。

四、工业生产上的应用

(一)制造工业原料

利用微生物在生长过程中积累的代谢产物，生产食品工业原料，种类繁多。概括起来，主要有以下几个大类：①氨基酸类，目前能够工业化生产的氨基酸有 20 多种，大部分为发酵技术生产的产品，主要的有谷氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、天冬氨酸、缬氨酸等；②酸味剂，主要有柠檬酸、乳酸、苹果酸、维生素 C 等；③甜味剂，主要有高果糖浆、天冬甜精（甜度是砂糖的 2 400 倍、氯化砂糖的 600 倍）。

发酵技术还可用来生产化学工业原料。主要生产传统的通用型化工原料（如乙醇、丙酮、丁醇等产品）、特殊用途的化工原料（如制造尼龙、香料的原料癸二酸，石油开采使用的原料丙烯酰胺，制造电子材料的粘康酸，制造合成树脂、纤维、塑料等制品的主要原料衣康酸，制造工程塑料、树脂、尼龙的重要原料长链二羧酸，合成橡胶的原料 2, 3-丁二醇，合成化纤、涤纶的主要原料乙烯等）。

(二)生产贵重金属

在冶金工业方面，高品位富矿不断耗尽。面对数量庞大的废渣矿、贫矿、尾矿、废矿，采用一般的采矿技术已无能为力，惟有利用细菌的浸矿技术才能

对这类矿石进行提炼。可浸提的金属包括金、银、铜、铀、锰、钼、锌、钴、镍、钡、铈等 10 多种贵重金属和稀有金属。

生物技术正以巨大的活力改变着传统的社会生产方式和产业结构，给国民经济带来极为深远的影响。当今人类社会面临的人口剧增、能源和资源日渐枯竭、环境污染严重等重大问题的解决，在很大程度上将依赖于现代生物技术的发展。

小 结

生物技术是指人们以现代生命科学为基础，结合先进的工程技术手段和其他基础学科的科学原理，利用生物体或其体系或它们的衍生物来制造人类所需要的各种产品或达到某种目的的一门新兴的、综合的学科。它主要包括基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程及生化工程五项新技术。这五项技术是互相联系、互相渗透的，其中以基因工程为核心。

现代生物技术是以 20 世纪 70 年代 DNA 重组技术的建立为标志的。基因工程技术的形成和发展带动了现代发酵工程、现代酶工程、现代细胞工程以及蛋白质工程的发展，促进了基因组学、蛋白质组学和生物信息学的产生以及生物芯片、组织工程等新技术的兴起，形成了现代生物技术的体系。

现代生物技术的应用领域非常广泛，涉及农业、工业、医学、药理学、能源、环保、冶金、化工原料等。这些领域的应用必将对人类社会的政治、经济等方面产生巨大影响。

复 习 思 考 题

1. 什么是现代生物技术？它包括哪些主要内容？
2. 为什么说现代生物技术是一门综合学科？它与其他学科有什么关系？
3. 简要说明生物技术发展史。
4. 简述现代生物技术的主要应用领域。

主要参考文献

- [1] 宋思杨，楼士林主编. 生物技术概论. 北京：科学出版社，2000
- [2] 中国科学院. 高技术发展报告. 北京：科学出版社，2001
- [3] 李亚一等. 生物技术——跨世纪技术革命的主角. 北京：中国科学技术出版社，1994
- [4] 朱圣庚等. 生物技术. 上海：上海科学技术出版社，1995
- [5] 莽克强主编. 农业生物工程. 北京：化学工业出版社，1998
- [6] 冉秉利，魏林学主编. 生物工程与应用. 北京：中国科学技术出版社，1996

第二章 基因工程

学习要求 学习基因工程的概念、主要步骤和相关的分子生物学基础知识。了解基因工程中常用工具酶的催化反应机制及主要用途，三种基因克隆载体的一般生物学特性、结构及其应用，目的基因的制备，重组体的构建及导入受体细胞的方法，重组子的筛选与鉴定技术。

在漫长的生物进化过程中，基因重组从来没有停止过。在自然力量作用下，通过基因突变、基因转移和基因重组等途径，推动生物界不断进化，使物种趋向完善，出现了今天各具特性的繁多物种。有的能忍耐高温，有的不怕严寒，有的能适应干旱的沙漠，有的可在高盐度的海滩上或海水中生长繁殖，有的能固定大气中的氮素等等。但是地球上没有一种完美无缺的生物，这促使科技工作者不断寻求新的技术和方法对生物加以改造。而基因工程技术的诞生使人们能按照自己的愿望，打破物种界限，通过体外 DNA 重组和转移等技术，有目的地改造生物种性，创造出新的生物类型。

第一节 基因工程基础

一、概述

基因工程是一门以分子遗传学为理论基础、以分子生物学和微生物学的现代技术方法为手段的新兴交叉学科，它诞生于 1973 年，其发展十分迅速，新知识、新概念、新技术不断涌现，并广泛渗透到生命科学的各个领域，带动了整个生命科学的发展，是现代生物技术中的核心技术。

二、基因工程的定义

基因工程,是指按人们的需要,用类似工程设计的方法将不同来源的基因(DNA 分子),在体外构建成交杂 DNA 分子,然后导入受体细胞,并在受体细

胞内复制、转录、表达的操作。因此，人类利用基因工程技术，就有可能根据需要，通过体外重组，跨越生物种属间的屏障，改变生物原有的遗传特性，定向培养或创造新的生物品种。

基因工程又称 DNA 重组技术，其最大特点是分子水平上的操作，细胞水平上的表达。基因工程的实施包括四个必要条件：工具酶、基因、载体和受体细胞。

三、基因工程的内容和方法

基因工程的主要内容包括 ①分离制取带有目的基因的 DNA 片段；②在体外，将目的基因连接到适当的载体上；③将重组 DNA 分子导入受体细胞，并扩增繁殖；④从大量的细胞繁殖群体中，筛选出获得了重组 DNA 分子的重组体克隆；⑤外源基因的表达和产物的分离纯化。

现代分子生物学实验方法的进步，为基因工程的创立和发展奠定了强有力的技术基础。基因工程的基本实验技术，除了较早出现的密度梯度超速离心和电子显微镜技术之外，还包括 DNA 分子的切割与连接、核酸分子杂交、凝胶电泳、细胞转化、DNA 序列结构分析以及基因的人工合成、基因定点突变和 PCR 扩增等多种新技术、新方法。

四、基因工程的分子生物学基础

(一)脱氧核糖核酸

生物的遗传物质是 DNA (脱氧核糖核酸，deoxyribonucleic acid)。DNA 是由大量的脱氧核糖核苷酸组成的线状或环状大分子。脱氧核糖核苷酸由碱基、脱氧核糖和磷酸基组成。磷酸基团连接在脱氧核糖的 5' 位上，而碱基则共价结合于脱氧核糖的 1' 位上。在 DNA 分子中，脱氧核糖核苷酸 5' 位上的磷酸基团与其相邻核苷酸的 3' 羟基之间结合形成磷酸二酯键，从而把一个个核苷酸连接成多聚核苷酸。DNA 含有 4 种杂环碱基，即腺嘌呤 (A)、鸟嘌呤 (G)、胞嘧啶 (C) 与胸腺嘧啶 (T)。由于 DNA 分子中的核苷酸是重复单体，因此通常以核苷酸上的碱基字母 A、T、G、C 来表示 DNA 分子的核苷酸序列，并且从 5' 端向 3' 端的方向书写核苷酸的碱基顺序。在两条 DNA 链之间，其碱基序列 A 与 T、G 与 C 是互补的，且 GC 碱基对间有三对氢键连接，AT 碱基对间有两对氢键连接。DNA 携带着决定生物遗传、细胞分裂、分化、生长以及蛋白质生物合成等生命过程的控制信息。

(二) DNA 变性、复性与杂交

在高温及强碱条件下, 双链 DNA 分子氢键断裂, 两条链完全分离, 形成单链 DNA 分子, 这种情况称为 DNA 变性 (denaturation)。

变性 DNA 经处理又可重新形成天然 DNA, 这个过程称为复性 (renaturation) 或退火 (annealing)。降低温度、pH 及增加盐浓度均可促进 DNA 的复性 (退火)。当复性 DNA 分子由不同的两条链分子形成时, 这种复性称为杂交 (hybridization)。

(三) DNA 的复制

DNA 的复制过程非常复杂。首先在复制起点处 DNA 解旋酶将双链 DNA 解旋, 形成复制叉, 子链 DNA 总是按 $5' \rightarrow 3'$ 的方向进行合成, 复制后每一个新的双链 DNA 分子都是由一条亲链和一条新合成的子链组成 (半保留复制)。两条新合成的链中, 一条是连续合成, 叫前导链。另一条链是在模板 DNA 的指导下, 通过 DNA 引发酶识别模板链上一个短的引发序列并合成一短的 RNA 引物 (大约 10 个核苷酸组成), 为 DNA 聚合酶 III 提供 $3'-OH$, 然后合成一个冈崎片段, 然后 DNA 聚合酶 I 识别 (先前) 引物的 $5'$ 游离末端并利用其外切核酸酶活性去除 RNA 引物, 同时利用它的聚合酶活性以相应的 DNA 填补缺口, 再经 DNA 连接酶通过 $3', 5'$ 磷酸二酯键将其连接, 完成此子链的合成, 这条链叫后随链。DNA 的复制过程中, 随着两条子链的延长, 复制叉不断前移。

DNA 复制的特点: ①DNA 分子的复制是从特定的位点开始并按特定的方向进行的; ②DNA 分子的复制是半保留复制; ③DNA 分子的复制是半不连续复制; ④DNA 分子复制是通过 DNA 聚合酶及各种相关酶蛋白、蛋白因子的协同有序的工作完成的; ⑤DNA 分子复制具有高度的精确性和准确性。DNA 分子复制速度: 在细菌中为 $10^4 \sim 10^5$ 核苷酸/min, 而在真核细胞中 (如哺乳动物细胞) 为 $500 \sim 5\,000$ 核苷酸/min。

由于 DNA 的半保留复制是严格地按照碱基配对原理进行的, 因此新合成的子代 DNA 分子忠实地保存了亲代 DNA 分子所携带的全部遗传信息。通过这样的复制, 基因便能够代代相传, 准确地保留下去。同时 DNA 在生物体中为适应环境或遭受刺激时会稍稍改变其结构, 使物种适应新环境而生存。因此遗传是相对的, 变异是绝对的, 这是生物进化过程中的必然现象。

(四) DNA 的修复

DNA 复制时可能由 DNA 聚合酶引发偶然错误, 或者由于环境因素 (如辐射、致突变的化学物质诱发) 致使 DNA 产生序列上的错误, 此时生物体内存在着的修复系统就会对 DNA 的变异起保护修复作用。但 DNA 的损伤或突变