

普通高中课程标准实验教科书

经全国中小学教材审定  
委员会2004年初审通过

# 生物

选修

3

## 现代生物科技专题

■ 主编 刘植义 付尊英



北京师范大学出版集团  
BEIJING NORMAL UNIVERSITY PUBLISHING GROUP  
北京师范大学出版社

# 目 录

《现代生物科技专题》模块学习目标 .....	1
<b>第 1 章 生态工程 .....</b>	<b>2</b>
第 1 节 生态工程的理论依据 .....	4
第 2 节 农业生态工程 .....	8
第 3 节 城市生态工程 .....	13
第 4 节 生态工程的综合运用 .....	16
<b>第 2 章 胚胎工程 .....</b>	<b>22</b>
第 1 节 胚胎工程的理论基础 .....	24
第 2 节 胚胎工程实验技术 .....	31
<b>第 3 章 细胞工程 .....</b>	<b>44</b>
第 1 节 植物细胞工程 .....	46
【实验】 小麦种胚的组织培养 .....	47
第 2 节 动物细胞工程 .....	53
<b>第 4 章 基因工程 .....</b>	<b>64</b>
第 1 节 基因工程的基本原理和技术 .....	66
第 2 节 基因工程的操作程序 .....	72
【实验】 大肠杆菌质粒DNA 的提取 .....	74
【实验】 利用花粉管通道法将目的基因导入棉花 .....	78
第 3 节 基因工程的应用及产业化前景 .....	83
第 4 节 蛋白质工程的崛起 .....	91
<b>第 5 章 生物技术的安全性和伦理问题 .....</b>	<b>94</b>
第 1 节 转基因生物的安全性问题 .....	96

第 2 节 生物技术中的伦理道德问题 .....	100
第 3 节 生物武器对人类的威胁 .....	105
附录 I 中英文词汇对照表 .....	110
附录 II 书海拾贝 .....	111

## 《现代生物科技专题》模块学习目标

关注生态工程的建设。  
简述生态工程的原理。  
举例说出生态工程。  
简述动物胚胎发育的基本过程。  
简述胚胎工程的理论基础。  
举例说出胚胎干细胞的移植。  
举例说出胚胎工程的应用。  
简述植物的组织培养。  
简述动物的细胞培养与体细胞克隆。  
举例说出细胞融合与单克隆抗体。  
简述基因工程的诞生。  
简述基因工程的原理和技术。  
举例说出基因工程的应用。  
简述蛋白质工程。  
关注转基因生物的安全性问题。  
举例说出生物武器对人类的威胁。  
讨论生物技术中的伦理问题。

# 第1章 生态工程

## 主要内容

### 1. 生态工程的理论依据

- 什么是生态工程
- 生态工程的相关理论

### 2. 农业生态工程

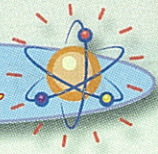
- 我国农业生态工程的主要技术
- 种植业生态工程
- 养殖业生态工程

### 3. 城市生态工程

- 环境控制工程
- 生物控制工程

### 4. 生态工程的综合运用

- 构建物质能量的多层分级利用系统
- 建立水陆交换的物质循环系统
- 实现“废物”再生的环境调节系统
- 建立多功能污水自净系统
- 构建多功能联合生产系统
- 生态工程的意义



生态工程是在全球生态危机爆发和人们寻求解决对策以及强调资源环境保护的背景下，于20世纪60年代应运而生的。

生态工程一词最早是我国生态学家马世骏在1954年提出的。20世纪60年代，美国著名的生态学家奥德姆(H. T. Odum)再次提出这一概念。20世纪80年代初期，欧洲生态学家乌尔曼(Uhlmann)、斯特拉斯克拉巴(Straskraba)与嘉穆克(Gnamck)提出了“生态工艺技术”，将它作为生态工程的同义语。20世纪80年代末，美国的米什(Mitsch)与丹麦的乔根逊(Jorgenson)联合将生态工程定义为“为了人类社会及其自然环境的利益而对人类社会及其自然环境进行的设计”。1989年，联合国环境规划署工业与环境协调中心制定了“清洁生产计划”，并将该计划列入环境与发展大会通过的《里约宣言》和《21世纪议程》中，其主要内容包括清洁能源、清洁工艺和清洁产品。

20世纪末，世界各国在生态工程的应用方面都取得了一定的进展。如美国在加利福尼亚州南部河口区建立了利用香蒲为主的湿生植物，治理煤矿含硫化铁的酸性废水的生态工程；荷兰建立了应用调控一些湖泊中生物种类比例的方法防治富营养化的生态工程等；我国在湖北鸭儿湖建立了治理有机磷和有机氯的生态工程；在苏州外城河建立了污水资源化生态工程；在太湖建立了水污染治理工程等。

目前，全人类已经越来越强调社会生产与环境的协调发展，生态工程已经成为国际上极其活跃的研究领域。

## 第 1 节 生态工程的理论依据

在一些农村，农民用作物的秸秆和动物的粪便制造沼气 (biogas, 图 1-1)。沼气是一种绿色能源，可以代替电、煤、天然气、石油等，供给人们做饭、取暖、照明。沼气渣归还给农田，是一种很好的有机肥料。还有人将沼气渣处理后作为饲料喂养其他动物，增加了经济收入。这就是一种非常有效的生态工程，不仅增加了农民的经济收入，而且减少了生活、生产造成的环境污染，生态、社会、经济效益显著提高。

科学的理论是合理实施一切工程技术的前提和基础。生态工程 (ecological engineering) 的设计、实施是以哪些理论作为主要依据的呢？

### ● 什么是生态工程

我国生态学家马世骏在 1954 年提出：“生态工程是应用生态系统中物种共生与物质循环再生原理、结构与功能协调原则、结合系统分析的最优化方法，设计的促进分层多级利用物质的生产工艺系统。生态工程的目标就是在促进自然界良性循环的前提下，充分发挥资源的生产潜力，防治环境污染，达到经济效益与生态效益同步发展”

随着生态工程理论与实践的发展，生态工程的概念也在不断地得到充实与完善。经过对多年研究的积累与总结，人们将生态工程简单地定义为：应用生态学、经济学的有关理论和系统论方法，以生态环境保护与社会经济协同发展 (可持续发展) 为目的，对人工生态系统、人类社会环境和资源进行保护、改造、治理、调控和建设的综合工艺技术体系或综合工艺过程 (图 1-2)。

### ● 生态工程的相关理论

目前生态工程尚属于一个有待于进一步发展的新兴科学领域，其中有许多问题还需要



图 1-1 沼气生产设备



#### 小资料

沼气是一种由人畜粪便和植物的秸秆发酵后产生的无毒、无味、可燃烧的气体。沼气的使用目前我国农村已经得到了较为广泛的推广，有近千万农户使用沼气进行照明、取暖、做饭，农民的经济收入显著提高，原来农村环境脏、乱、差的局面得到有效的改善。同时减少了由于能源缺乏导致的对森林资源的破坏，农民和国家共同受益。

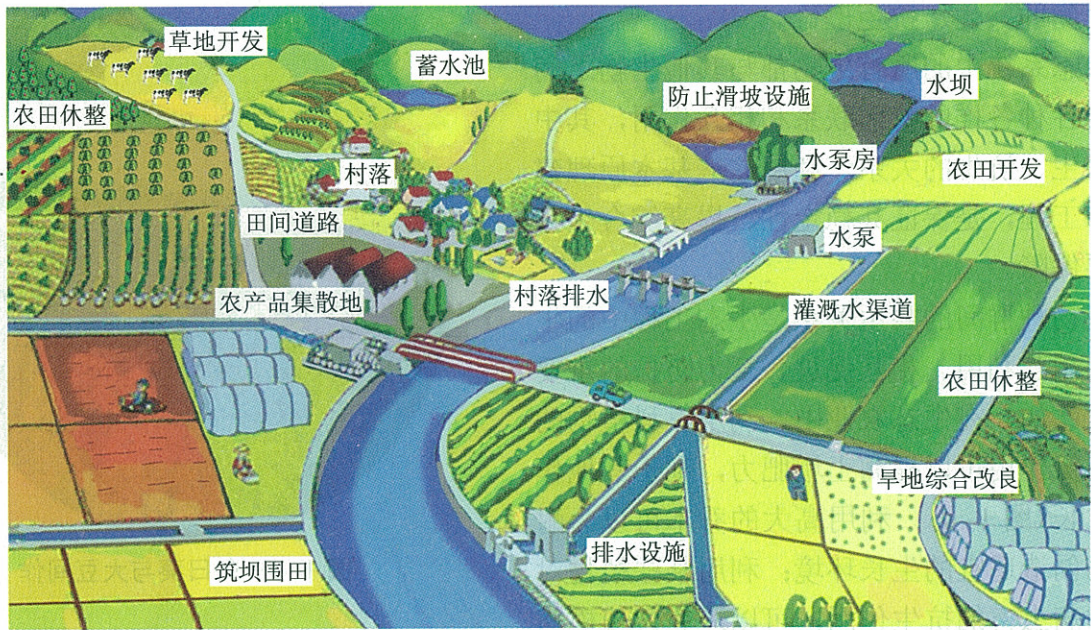


图 1-2 综合性农业生态工程

不断丰富和完善。但作为一个工程进行设计，必须遵循以下基本理论：系统论、生态学的有关理论、社会经济学理论和工程学理论。

### 系统论

生态工程本身是一个复杂的大型系统工程，因而必须遵循系统论的基本理论。系统论的创始人 L. V. 贝塔朗菲对系统的定义是：相互联系的诸要素的综合体。一般来说，系统具有以下基本特征：系统是一个有序的有机整体；一个系统执行特定的功能；系统具有较强的整体功能；系统的组成成分之间发生相互作用；系统具有一定的边界。生态工程概念的最早提出者马世骏将“整体、协调、循环、再生”作为生态工程的基本原则。其中的“整体”就是针对生态工程的“系统性”而言的。

生态工程建设的目的在于构建一个有利于人类和环境协调发展的生态系统(图 1-3)，因而在对其进行研究、设计和调控的过程中，必须遵循系统论的基本理论。



图 1-3 人类与环境协调发展



### 生物之间的共生、抗生理论

生态系统中的所有生物都与其他生物之间存在着各种各样的普遍联系和相互作用，其中包括共生、抗生的关系。利用这些基本原理建造生态工程，是保证其稳定性、提高综合效益的重要保障。

生物种群间的共生关系是生态工程中的生物之间相互利用、相互促进、互为防护的重要机制。比如，在生态农业中，利用豆科植物的生物固氮作用可以提高土壤肥力，利于其他作物的生长(图 1-4)；利用高大的乔木可以为耐阴植物创造适宜的生长环境；利用某些植物对特殊的病虫害的抗生作用，可以避免大规模病虫害的发生。另外，在生态工程设计时，还应注意避免由于生物间的抗生而产生的不利影响，如某种植物释放出的化学物质会对周围的生物产生不良影响等。



图 1-4 向日葵与大豆间作

### 生物多样性理论

在自然的生态系统中，由于其生物种群数量较丰富，结构及营养关系复杂，因而具有

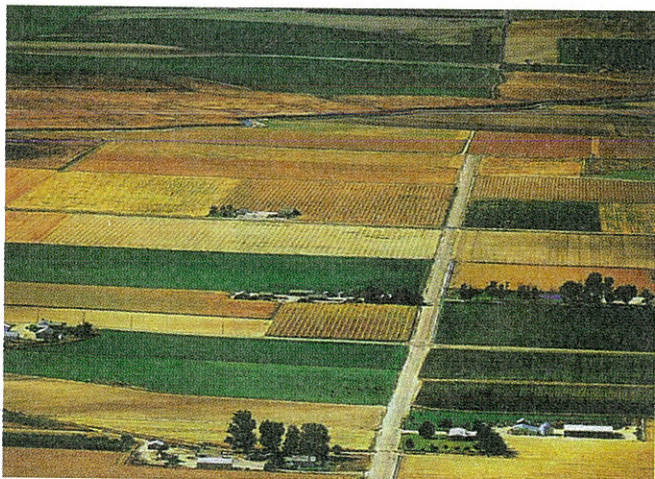


图 1-5 物种多样的农业生态系统

较高的稳定性。而人为的生态系统(例如农田)，其种群组成单一，稳定性很低。为了保证生态工程所构建的生态系统具有较高的稳定性，而且能够创造良好的生态效益和经济效益，在生态工程设计和实施的过程中，必须以生物多样性(biodiversity)为重要原则(图 1-5)。

### 食物链理论

生态系统中的生物通过食物链(food chain)彼此联系，可以将某种形式的能量和物质转变成另一种形式的能量和物质。通过食物链可以把一种生物产品转化成

为另一种类型的生物产品；通过食物链的作用可以使低能量的生物产品转化为高能量的生物产品；通过食物链的作用可以将一些低价值的产品转变为高价值的产品；可以通过食物链某一环节生物产品的增加或减少，调节另一环节的生物产品数量。在人为的生态工程系统中，可以通过对食物链各环节的调控，改变物质、能量的转移途径和富集方式。比较典型的实例就是将湿地内疯长的水草收割后贮存起来，作为圈养家畜的饲料，在治理后的水体中养鱼，这样既发展了经济，又疏通了河道，保护了生态环境(图 1-6)。



1 水草蔓延的湿地；2~5 收割并贮存水草；6 圈养家畜；7 水体内养鱼；  
8 水质得到改善；9 河道变得畅通

图 1-6 湿地治理生态工程

除以上列举的各种理论外，生态工程在设计和实施的过程中，还应遵循生态学的其他理论，以及相关学科的基本理论。在应用这些理论建设生态工程的过程中，还必须坚持生态效益、社会效益和经济效益协调的原则。只有这样，才能在更多的行业领域建立起众多的可持续发展的生态工程系统，保障生态工程健康、有序地发展。



### 自我检测

山区农民充分利用当地自然资源进行科学规划，合理布局，山顶种树、山腰种果、果园养鸡、山脚养猪、坑塘养鱼、猪粪制沼、沼渣肥田，形成一整套合理的生态工程系统。请简要叙述在这样的生态工程系统中是如何科学应用生态工程原理的。

## 第 2 节 农业生态工程

在我国北方,小麦收割完后,在小麦畦中间播种大豆,不仅能增加经济收入,还可以利用大豆根瘤菌的固氮作用,肥沃农田,使土壤保持较高的生产能力。在水稻种植区,稻田内养鱼,鱼的粪便肥田,促进水稻的良好生长。蔗田种菇,可以加速甘蔗落叶的分解,将营养元素归还给农田,同时提高经济效益。这些农业生产措施都是在朴素、古老的生态学观点的指导下进行的,其理论和实践都基本符合生态工程学的基本理论。随着生态工程理论的逐步形成,我国的农业(agriculture)生态工程是如何开发的呢?

### ●我国农业生态工程的主要技术

#### 物质良性循环技术

物质良性循环技术是利用不同种类生物存在相互利用、相互促进关系的特性,建立起来的分级利用和各取所需的生态工程系统。如在基塘循环模式中,充分利用基上的桑、蚕等生物与塘中的鱼之间存在的食物及营养关系,构建出了“桑→蚕→蚕沙→鱼→塘泥→桑”的桑基鱼塘生态工程(图 1-7)。



图 1-7 水网地带的桑基鱼塘

#### 生物立体布局技术



#### 阅读与分析

阅读下面资料,分析在稻田养鱼生态工程系统中,生物间的立体布局技术表现在哪些方面?

稻田养鱼在我国南方、北方都已得到较普遍的推广,具体做法是:在水稻插秧返青后,稻田灌水,放入一定量的食草鱼苗,在进行晒田、施肥或病虫害防治等管理时,使鱼苗随水进入事先挖好的鱼沟内,收稻时先把长大的鱼捞出,再转入精养鱼塘。在养鱼的稻田中,水稻为鱼提供遮阴、适宜水温和充足饵料等条件,而鱼为稻田除草、灭虫、充气和施肥,使稻田的大量杂草、浮游生物和光合细菌转化为鱼产品。这样一来,稻、鱼共生互利,相互促进,形成了良好的共生生态系统。这不但促进了养鱼业的发展,也提高了水稻产量,减少了化肥、农药、除草剂的施用量,提高了土壤肥力。

生物立体布局技术是利用自然生态系统中不同物种的特点,通过合理组合,建立各种形式的立体结构,以达到充分利用空间,提高生态系统光能利用率和土地生产力,增加物质生产的目的。它可以实现空间上多层次和时间上多序列的产业结构,使各种生物处于不同的生态位,各得其所,相得益彰,既充分利用太阳辐射能和土地资源,又为农作物形成一个良好的生态环境。这种生态农业类型在我国普遍存在,数量较多,包括植物与植物、植物与动物、动物与动物等的立体布局,如蔗田种菇,稻田养鱼,稻田养鸭(图 1-8),鲢鱼、鳙鱼、草鱼、鲫鱼、河蚌混养技术等。

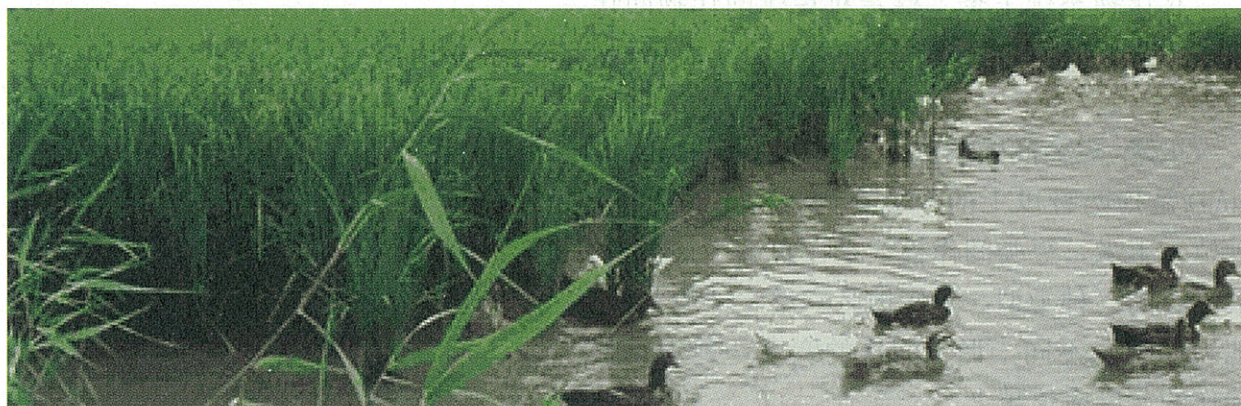


图 1-8 稻田养鸭

### 资源综合开发技术

资源的综合开发技术是充分利用生态系统中的各种能源,通过工程措施与生物措施,将生态系统中的能源转化为可以被人类直接利用的能量形式。包括太阳能利用技术(图 1-9)、生物能利用技术(如沼气)、农业副产品利用技术(如秸秆利用)等。

### 水土流失综合治理技术

水土流失(soil and water loss)是高原、丘陵、坡地等地带农业生产过程中面临的重要问题。水土流失的综合治理技术主要是利用各种农业耕作方法,减少表层土壤伴随降水的冲刷而产生的流失,保持水土。这类技术主要包括作物栽培耕作技术(如作物在同一水平面上耕种)、农业工程改造技术(如梯田,图 1-10)、生物工程治理技术(如间作)等。其中生物工程治理技术是一种省力、省钱、高效、有前途的方法。



图 1-9 太阳能发电站



图 1-10 丘陵地带的梯田

## ● 种植业生态工程

以栽培各种农林植物为主的种植业生态工程是生态工程的重要类型，也是农业生态工程的基础。其技术体系既包括传统的间作、套作等精耕细作技术，又包含对现代高新技术的综合与配套应用。

### 农作物系统生态工程

农作物系统生态工程是对传统的作物间作、套作进行改进，使之成为种植业生态工程的组成部分。

**玉米、豆类间作模式** 间作 (companion cropping) 是指两种以上的作物在同一季节成行间隔种植。玉米、豆类间作模式是在农业生产上应用最广泛的一种类型，适应地区广泛。一般要根据地力的强弱不同，调节间作的宽度，地力越强，间作的宽度应该越大。

**麦类、大豆、玉米套作模式** 套作 (double cropping) 是指在前一作物的生长后期，于株间或行间种植后一作物。在麦类、大豆、玉米套作模式中(图 1-11)，通过大豆的调节作用，增强地力，增加玉米产量，缓和粮油作物争地的矛盾。

**小麦、玉米复种模式** 复种 (succession of crops) 是指在一块地上一年内种植、收获两季以上作物的种植方式。小麦、玉米复种模式广泛用于华北地区，小麦收割后播种玉米，一年有两季收成。

### 农林复合系统生态工程

农林复合系统又叫做混农林业，是一种在全世界广泛应用的、持续有效的土地使用管理体系，其主要内容就是进行农林间作(图 1-12)。



图 1-12 农林复合系统

**枣粮间作模式** 枣粮间作是典型的优质、高产、高效种植业生态工程，广泛分布于华北、西北地区，仅河北省沧州地区就有  $5 \times 10^4 \text{ hm}^2$ 。该类型的生态工程不仅可以增加经济收入，同时还可以改善农田系统生态环境，“三大效益”显著提高。

**农杨间作模式** 农杨间作模式主要分布在山西半干旱地区、山东临沂、聊城的黄泛区、江汉



图 1-11 大豆田套作玉米



### 思考

不同地区由于气候条件不同，农作物系统的耕种方式也存在一定的差异。在你生活的地区，哪些农作物的耕种方式属于间作、套作？有没有复种的耕种方式？农作物又是如何布局的？

平原、洞庭湖区、东北牡丹江林区。农杨间作模式具有较高的生态效益，林网具有保持水分、防风固沙、减轻霜冻的作用，可以促进农业的高产、稳产。

**橡胶茶树间作模式** 橡胶茶树间作模式已经形成较为完善的经营体系，可以充分利用土地、光照及其他气候资源，产生良好的经济、社会、生态效益。

### ● 养殖业生态工程

养殖业生态工程是一种以家养动物为主，应用生态学、生态经济学与系统科学的基本原理，采用生态工程方法，将相应的人工养殖动物、植物、微生物等生物种群有机匹配，建立起来的稳定、高效、持续的人工复合生态系统。

#### 山地围栏养鸡

选择阳光充足、林草旺盛、昆虫较多、地势较平缓、靠近水源的低山半阳坡进行围栏，在围栏内养鸡，鸡群采取补料与放养相结合的方式进行养殖。鸡群可以有效利用阳光、土地、水、生物资源，这样既节约饲料，又促进了鸡的快速生长。此外，还可以改善局部生态环境。

#### 林区养兔

林区养兔生态工程采取人工食物链转化模式，充分利用低值的绿色植物，通过人工饲喂转化成高值的肉食品，提高了经济、社会、生态效益(图 1-13)。

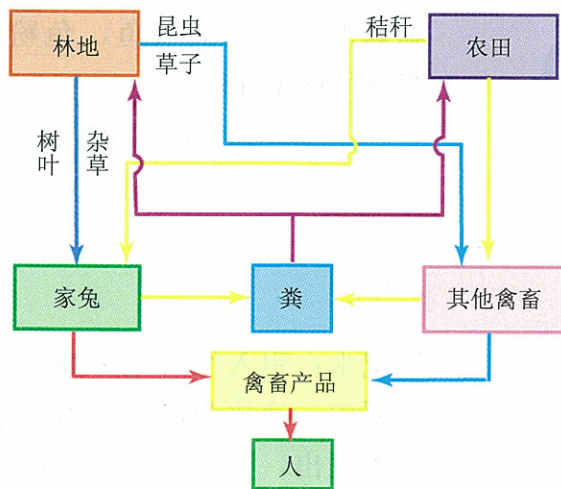


图 1-13 以养兔为主的人工食物链模式



### 小资料

利用果树行间空地，合理间作，可以达到用地养地结合、提高果园整体效益的目的。但间作时必须注意以下 4 点：①忌侵占树盘的营养面积。一般间作物种要离开树干 2 m 远，避免间作物种与果树争肥争水或耕作时损伤果树。②忌间作高秆和攀缘作物，避免阻碍空气流通，挡住果树阳光，影响果树生长发育。③忌间作吸肥力强以及与果树相抗生的作物。④忌连续间作、套作，避免某一作物吸收土壤养分不平衡，同时要避免某种病虫害在果园繁衍发生危害。



### 思考

你了解哪些养殖业生态工程？举例说明这些工程是如何设计实施的。

### 种草养羊

通过人工种草，可以开发山地资源，增加牧草的产量。采取划区轮牧的方式，合理配套养殖，经济效益显著(图 1-14)。



图 1-14 山地种草牧羊生态工程

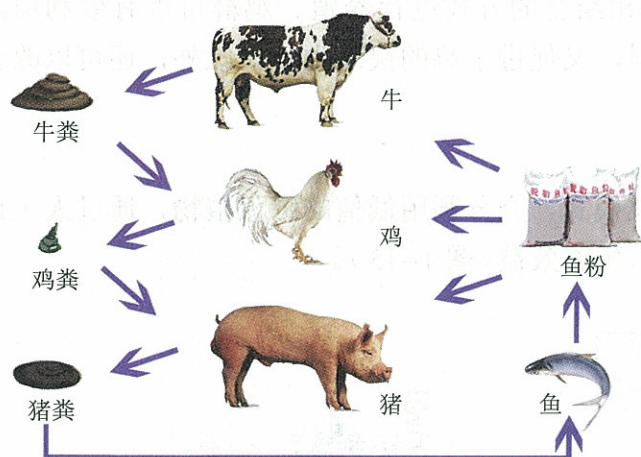


图 1-15 牛、鸡、猪、鱼循环模式

### 牛、鸡、猪、鱼循环养殖

将牛、鸡、猪的粪便按适宜的方法进行发酵处理后，拌在饲料中喂养家畜、家禽、鱼等，可以降低饲料的投入，增加经济收入，同时保护生态环境。具体做法是：牛粪喂鸡，鸡粪喂猪，猪粪喂鱼，鱼粉喂牛、鸡、猪(图 1-15)。

### 生态养猪

将猪粪投入凤眼莲(俗名水葫芦)池，净化为二级肥水；引入绿萍池，净化为三级肥水；引入鱼、蟹池，净化为四级肥水；引入养鱼的稻田，净化为清水，引回猪舍循环利用。这样既节约了水资源，又可以实现多种产品的输出，形成了良性循环的生态工程系统(图 1-16)，提高了生态效益、经济效益和社会效益。

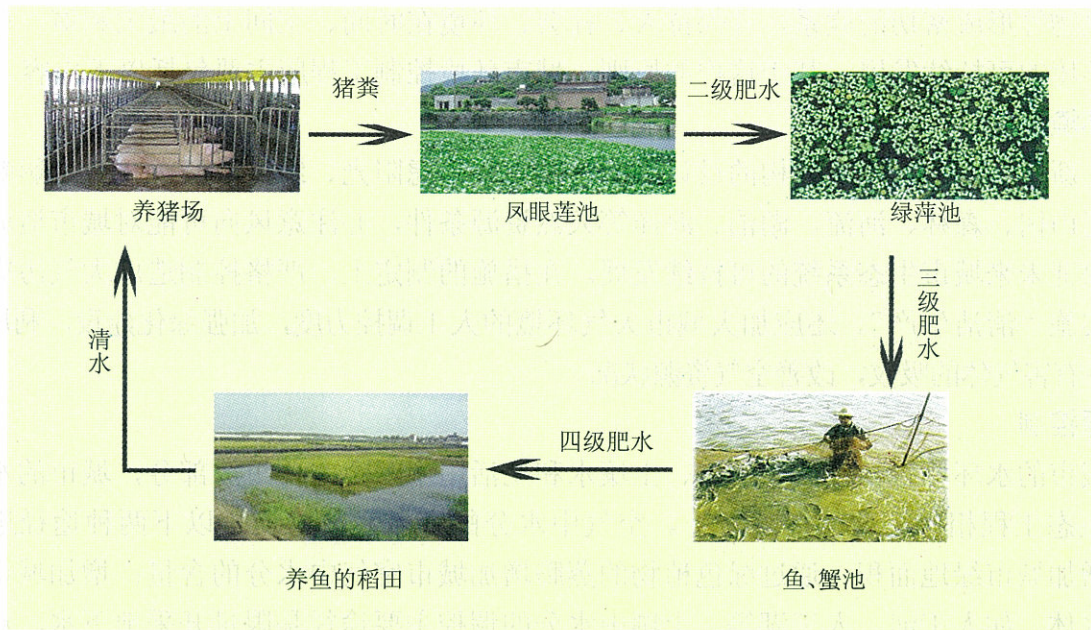


图 1-16 生态养猪模式



### 自我检测

在我国某些地方，农民退耕还林，实行林草间作，大面积种植苜蓿等优质饲草，圈养羊、牛等家畜。在这样的生态工程中，生态效益是如何实现的？

## 第 3 节 城市生态工程

随着现代化的发展，城市已经成为集政治中心、经济中心、文化中心、消费娱乐中心、高科技中心、信息中心、工业产品基地为一体的综合性人类生态系统。但是由于人类对于城市规模和密度过分扩展的认识不够完善，以及由此而产生的控制和决策的失误，造成了某些城市生态系统的非正常发展，并严重影响到城市生态系统的稳定和可持续发展，同时还会给整个“生物圈”带来一系列问题。面临这样的局面，实施城市生态工程势在必行。在城市生态工程的实施过程中应采取哪些措施呢？

### ● 环境控制工程

城市的环境工程必须尽量做到城市生态系统与所在地区的自然环境、人类社会环境以



及建筑物等形成密切的联系，并保持人、社会、环境在时间、空间上的最大和谐，保证人类与环境的可持续发展。基于这样的原则，城市环境控制工程应主要包括以下内容。

### 大气环境控制

在新建城市的选址与结构的设计方面，要充分考虑阳光、绿地对城市环境的影响，合理利用山冈、森林、河流、湖泊、海洋等天然资源条件，并注意风向可能对城市造成的影响，保证未来城市生态系统的可持续发展。在措施的制定上，严格控制造成大气污染的源头，实施“清洁生产”。还应加大城市大气环境的人工调控力度，加强绿化建设，利用植物对各种有害气体的吸收，改善空气资源状况。

### 水资源控制

城市的水环境包括空气中的水、土壤水和生活用水三个主要组成部分，城市的水分调控是生态工程相当重要的任务之一。空气中水分的含量主要是通过以下两种途径进行调控：增加城市绿地面积，通过绿色植物的蒸腾增加城市空气中水分的含量；增加城市中的人工水体，如人工河、人工湖等。土壤中水分的调控主要途径是限量开采地下水。对于城市居民的生活用水，应大力推行一水多用，循环分级用水，减少水资源的浪费(图 1-17)。

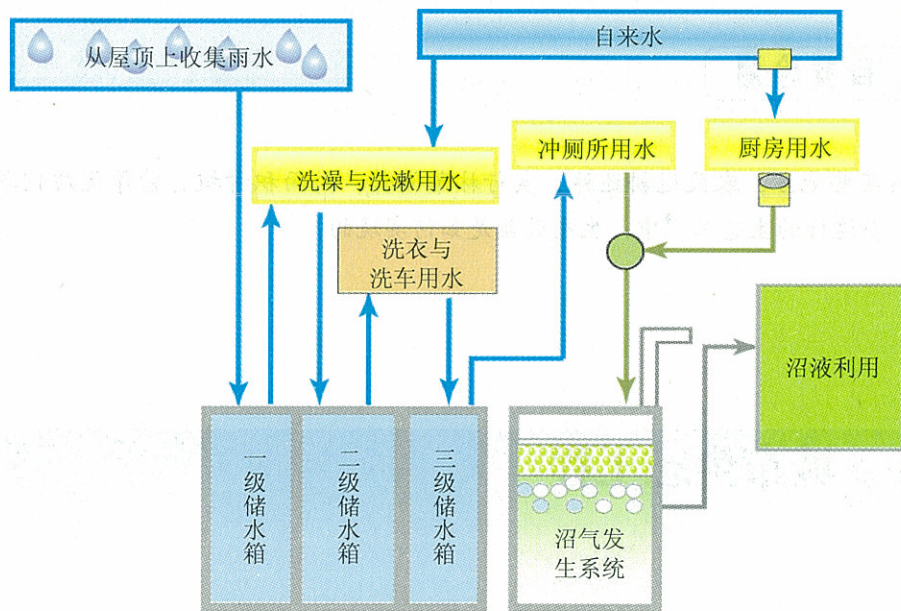


图 1-17 水的循环分级利用

### 废弃物控制

随着工业化进程的推进，垃圾问题已经成为近年来困扰城市健康发展的重要因素。减少城市垃圾，可以从以下方面着手：一是减少不合理输入，原料产品在产地进行粗加工后再输入城市；二是居民生活垃圾采取分类包装、垃圾站分类存放、统一回收的办法进行处理(图 1-18)；三是制定规章制度，减少工业垃圾的排放并积极鼓励回收利用。

### 噪声控制

各种噪声都会在一定程度上危害人类健康。对于噪声的控制，主要通过控制噪声源、



图 1-18 垃圾的分类包装与集中处理



图 1-19 优美的城市居住环境

利用绿色植物建立隔离区和隔离带以及利用人工建筑隔离噪声。

### 居住环境调控

在控制城市规模、尽量减少城市用地的基础上，向空间发展，增加人均居住面积，提高居住环境的质量(图 1-19)。

## ● 生物控制工程

优化的生物群落结构是城市生态系统保持稳定、高效、和谐的重要内涵。城市生态系统的生物控制包括人口的控制以及其他生物的控制两大部分。

### 人口的控制

人类对城市生态环境的影响非常显著，高密度的人口是当前城市生态系统所面临的重要问题。对于城市人口应主要从以下方面进行调控：一是控制城市人口总量，降低对物质、能量的总体消费；二是控制人口密度，改善城市生态环境；三是提高人口素质，建设现代化城市。

### 其他生物的控制

对其他生物的控制，主要包括两方面：一方面增加与扩展有益生物，其中加强绿化是非常重要的组成部分，目的是建成多种绿色植物匹配的、优美、高效、稳定、和谐的城市绿色植物系统，同时为动物的生存提供环境。另一方面，抑制有害生物，可以通过无公害药物和生物防治控制有害生物的种类与数量。



## 自我检测

城市的环境污染是一个普遍而严峻的问题，请针对各种污染类型简述如何通过生态工程解决这些问题。

## 第 4 节 生态工程的综合运用

利用作物秸秆和动物的粪便可以制造沼气，节约能源，保护环境；稻田养鱼，可以使稻、鱼互利，增加经济收入，减少因化肥、农药的使用造成的污染……这些都是生态工程在现实生活中的应用。生态工程的应用可以分为哪些主要的类型，对社会、经济生活和生态环境具有什么现实意义呢？

### ● 构建物质能量的多层分级利用系统

物质能量的多层分级利用系统比较典型的实例就是利用秸秆养殖家畜，培养食用菌、蚯蚓等的生产设计(图 1-20)。利用糖化技术先把秸秆变成家畜爱吃的饲料，家畜食用后排出的粪便及秸秆的残渣用来培养食用菌，生产食用菌的残余料又可以用来繁殖蚯蚓，饲养动物，最后再把利用后剩余的残渣还田，收效较好。虽然最后还田的有机质肥力降低，但增加了中间环节的直接经济效益。

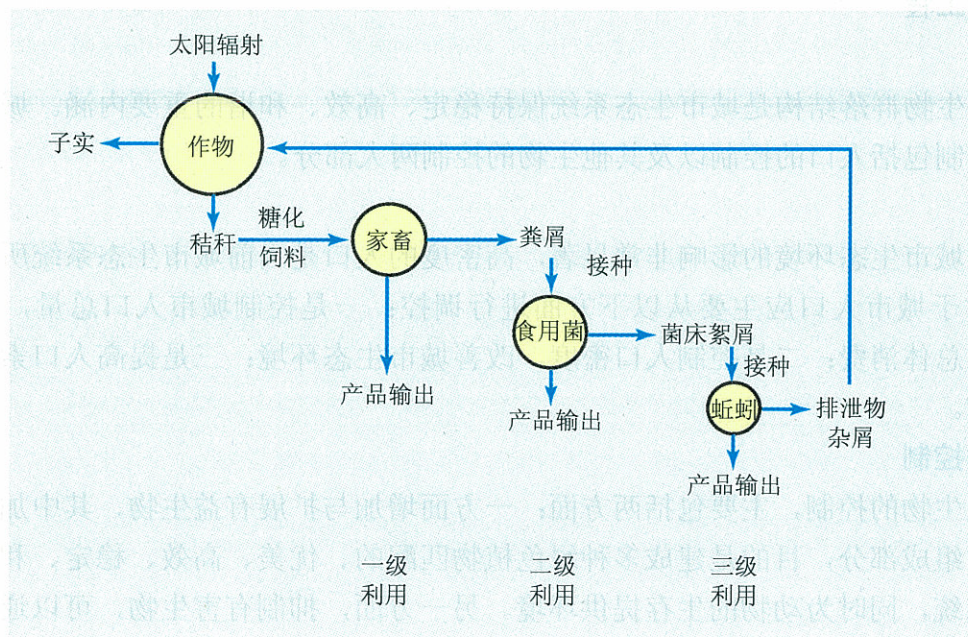


图 1-20 作物秸秆的多层分级利用

### ● 建立水陆交换的物质循环系统

桑基鱼塘是我国南方的水网地带一种比较典型的水陆交换生产系统。在生态工程设计实施的过程中，将地挖低作池塘、填高作田基，塘中混养多种鱼类，基上种桑。在这种桑

基鱼塘的生态工程系统中，基上种桑，桑叶养蚕，蚕沙养鱼，鱼粪肥沃塘泥，塘泥就近肥桑，形成了桑→蚕→鱼→桑的水陆交换物质循环系统(图 1-21)。

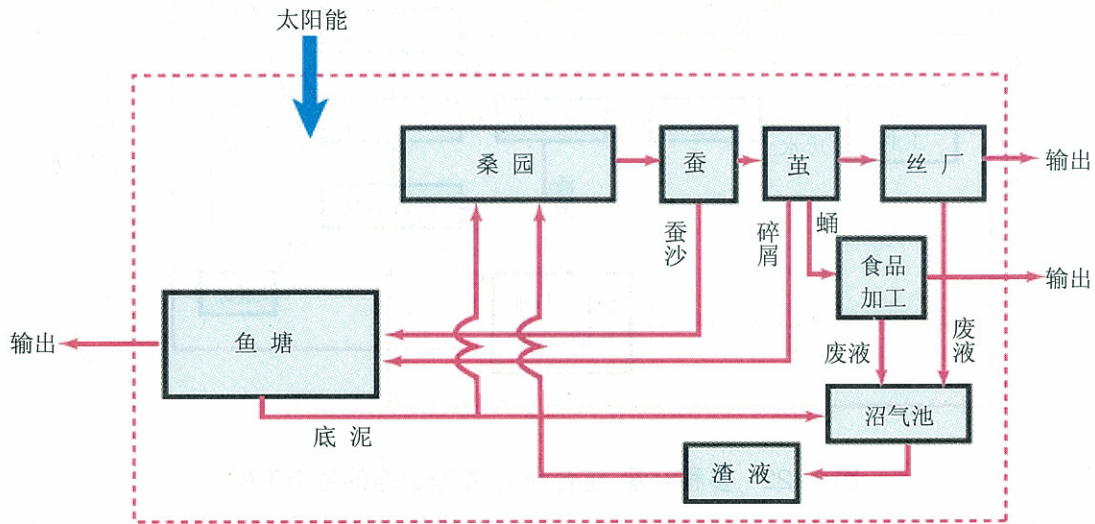


图 1-21 水陆交换生产系统

### ●实现“废物”再生的环境调节系统

在“废物”再生环境调节系统中，可以将收获植物的一部分作为畜禽的饲料，发展养殖业，畜禽的粪便作为肥料肥田或培育防护林，农田或防护林又可以吸收工厂排出的  $\text{CO}_2$  等气体，净化空气；利用工厂余热作为建造温室的能源，发展养殖业和种植业，可以收到很好的生态效益和经济效益。

### ●建立多功能污水自净系统

人们模仿生态系统自身保持稳态的复杂体系，建造一连串的“氧化塘”，利用水中的菌类、藻类以及一些高等水生植物分解水中的有机物质，放出氧气，并吸收水中的重金属离子，达到改良水质的目的。在这一系统中，细菌分解有机物可以为其他植物提供营养物质。塘底的污泥可以作为制造沼气的原料，沼气可以直接提供给生活使用，沼液可以肥田。在改良后的水体中进行水产养殖，鱼类取食藻类以及其他水生生物。这样的农业生态工程可以实现多种经营、综合利用以及水体的生态自净(图 1-22)。

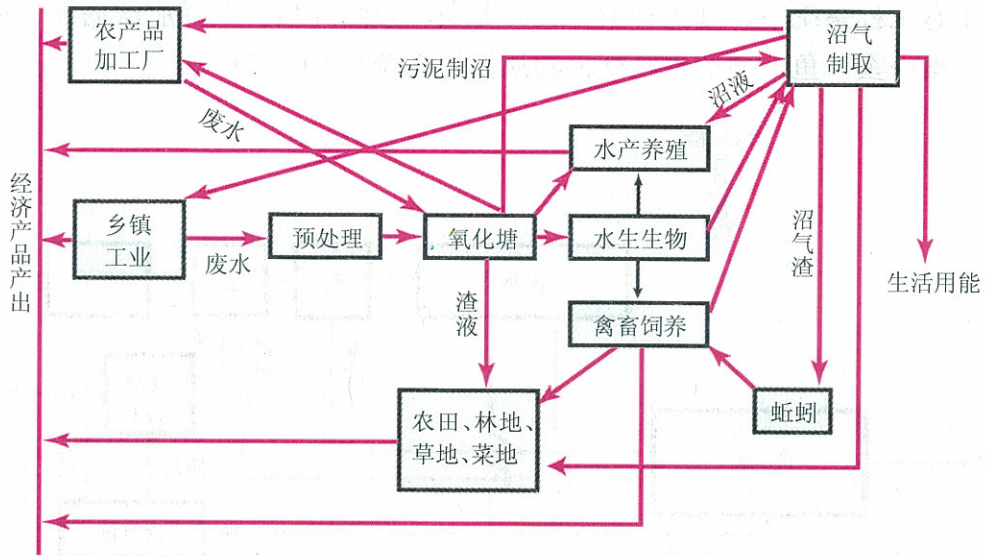


图 1-22 多种经营、综合利用、生态自净的生态工程

### ● 构建多功能联合生产系统

应用结构与功能相统一的原理，可以构建出农、林、牧、渔一体化的生态工程系统（图 1-23）。在这样的系统中，种植、养殖和加工配套结合，实现对一定的区域内产业结构的调整，使农、林、牧、渔各行业合理规划，全面发展。

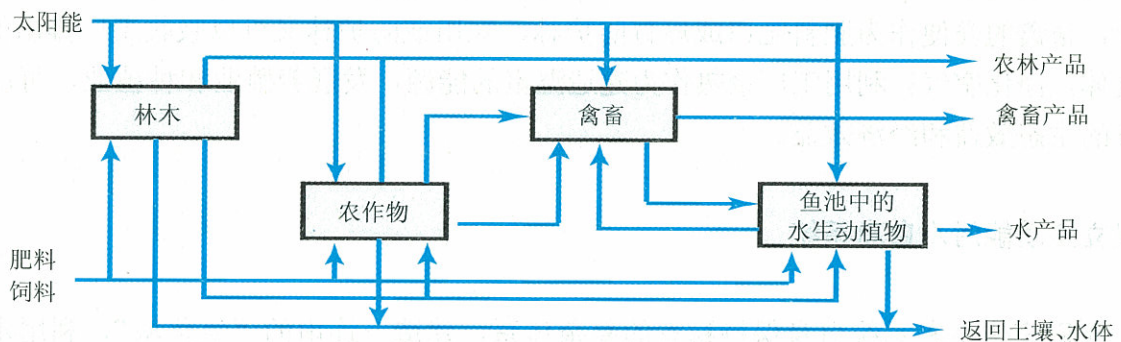
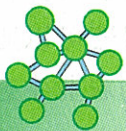


图 1-23 农、林、牧、渔生态工程系统初级模型



### 构建模型

根据学过的知识，应用生态学原理，以当地的自然条件、生产技术和需要为前提，设计、构建一个合理的生态工程系统模型，并绘制该系统的工作流程图。

## ●生态工程的意义

从全球的角度来看,目前的生态环境问题相当严重,已经发展到非解决不可的地步。

西方发达国家的发展基本上走的都是先污染破坏再治理的路子。我国由于近年来中小企业的快速发展,也产生了一系列的环境问题,这种局面已经受到极大关注。人们逐步认识到防治工业污染不能只依靠对受污染环境的治理,要从根本上解决工业污染问题,必须“预防为主”,将污染物消除在生产过程之中,实行工业生产全过程控制。20世纪70年代末以来,不少发达国家的政府和各大企业都纷纷研究开发和采用“清洁工艺(少废、无废技术)”,开辟污染预防的新途径,把推行清洁生产作为经济和环境协调发展的一项战略措施。

目前,在全世界范围内都已经普遍认识到:今后全人类必须走“可持续发展”的道路。“可持续发展”已经成为国际社会的共同目标(图1-24)。但直到目前为止,实现这一目标的具体技术工艺还没有真正形成。因此,在全世界范围内的各行各业探索实现可持续发展的行之有效的技术工艺体系,是解决全世界可持续发展的根本途径。

从生态工程的理论与技术体系的角度来看,其最终目标就是要实现“社会经济与生态环境同步发展”,因此,生态工程必将成为全世界共同、稳步、协调发展的重要工艺技术。

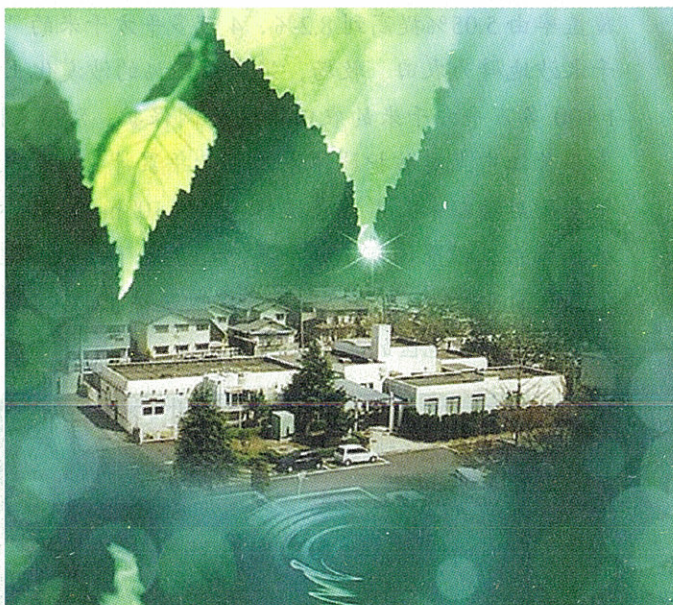


图1-24 人、社会与环境协调发展



### 自我检测

根据对废物再生的环境调节系统的描述,绘出该类生态工程的流程图。



### 课外实践

参观当地有代表性的生态工程实例,了解生态工程的建设情况。通过生态工程建设者的介绍,思考在该生态工程中主要应用了哪些原理,其经济效益、社会效益、生态效益是否得到了有机结合。



## 我国的十大林业生态工程

从1978年起,我国先后确立了以保护和改善自然生态环境、实现资源永续利用为主要目标的十大林业生态工程。这十大林业生态工程是:“三北”防护林体系工程(图1-25)、长江中上游防护林体系工程、沿海防护林体系工程、平原农田防护林体系工程、太行山绿化工程、防治沙漠化工程、淮河太湖流域综合治理防护林体系工程、珠江流域综合治理防护林体系工程、辽河流域综合治理防护林体系工程、黄河中游防护林体系工程,规划造林总面积 $1.2 \times 10^8$   $\text{hm}^2$ 。目前,“三北”防护林体系工程已经完成一、二期工程,共造林 $1.851 \times 10^7$   $\text{hm}^2$ ,森林覆盖率由5.05%提高到8.2%,4万多平方千米的“不毛之地”变成了绿色林地,130多万平方千米沙地辟为农田、牧场、果园,12%的沙漠化土地得到治理,10%的沙漠化土地得到控制,1100多万平方千米的农田得到林网保护, $8.93 \times 10^6$   $\text{hm}^2$ 草场得到恢复,产草量增加20%以上。长江中上游防护林体系工程7年累计营造林 $5.46 \times 10^6$   $\text{hm}^2$ ;沿海防护林体系工程自1991年全面启动以来,累计营造林 $1.60 \times 10^6$   $\text{hm}^2$ , $1.8 \times 10^4$  km的海岸林带基本合拢;平原农田防护林体系工程累计有769个县(市)实现了平原绿化,占全国918个平原县的84%;太行山绿化工程自1994年启动以来累计完成造林 $1.02 \times 10^6$   $\text{hm}^2$ 。这些大规模的林业生态工程建设,使我国相当部分地区的生态环境逐步得到改善。



图1-25 西北防护林

## 本章小结

本章主要介绍了生态工程建设的理论依据、农业生态工程、城市生态工程以及生态工程的综合运用。

生态工程是 20 世纪 60 年代以后发展起来的新兴科学领域，其主要目的是为了解决随着社会的发展而产生的众多生态环境问题。目前国内外对该领域的研究仍处于探索阶段，具体的理论与技术体系还有待于不断形成与完善，但是在生态工程设计、实施的过程中，必须遵循以下基本理论：系统论、生态学的相关理论、社会经济学的基本理论、工程学以及其他相关专业学科的基本理论。只有合理应用这些基本理论，才能够建设出科学的生态工程系统，实现生态效益、社会效益和经济效益的有机结合。

我国的传统农业都是在朴素的生态学观点指导下进行的，农业工程的主要技术可以归纳为：物质良性循环技术、生物立体布局技术、资源综合开发技术和水土流失综合治理技术等。农业生态工程可以分为种植业生态工程和养殖业生态工程。种植业生态工程主要包括农作物系统生态工程和农林复合系统生态工程。这些生态工程的技术体系以及典型模式由于地域的不同存在明显的差异。

城市是人口、工业非常集中的生态系统，存在严重的环境和生态问题。从环境控制工程和生物控制工程入手，建设城市生态工程，最终实现对大气环境、水资源、噪声、废弃物、居住环境、人口以及其他生物的合理控制。

生态工程在生产实践中的运用是多类型、多途径的，具有很高的综合性，主要类型包括：物质能量的多层分级利用系统、水陆交换的物质循环系统、“废物”再生的环境调节系统、多功能污水自净系统以及多功能联合生产系统。

“可持续发展”已经成为国际社会的共同目标，生态工程必将成为全世界共同、稳步、协调发展的重要工艺技术。



# 第 2 章 胚胎工程



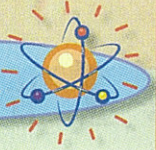
## 主要内容

### 1. 胚胎工程的理论基础

- 生殖细胞的形成
- 胚胎的发育

### 2. 胚胎工程实验技术

- 人工授精和胚胎体外培养
- 胚胎移植技术
- 胚胎分割技术
- 胚胎干细胞核移植技术



1890年，希普(W. Heape)在英国剑桥大学首次报道了安哥拉兔子胚胎移植(比利时兔为代孕母)获得成功。进入20世纪30年代，胚胎移植的研究有了突破性的进展，绵羊、山羊、猪和牛胚胎移植都获得了成功。1965年，日本学者杉江侑实现了牛非手术采卵和移植，后来这一技术逐渐被应用在奶牛的胚胎移植上。1971年，加拿大率先成立了第一个胚胎移植公司，开始将胚胎移植技术应用于家畜良种化。1973年，威尔穆特(I. Wilmut)等人在牛早期胚胎超低温冷冻保存方面获得了成功，从此以后，胚胎移植技术从基础性研究飞跃到应用研究，从实验室走向了生产应用。1975年1月，在美国科罗拉多州召开了第一届国际胚胎移植学会成立大会，标志着胚胎移植技术进入了更高的发展阶段。到1977年，十几个国家成立了数百家商业化胚胎移植公司。

我国胚胎移植技术的研究起步较晚，1973年家兔胚胎移植成功，1974年、1978年、1980年绵羊、奶牛和奶山羊胚胎移植分别获得成功；1976年至1977年家兔胚胎和绵羊胚胎低温(10℃)保存1天和10天后移植成功；1980年绵羊胚胎超低温保存后，胚胎解冻移植成功；1982年牛胚胎冷冻374天后移植产犊3头；1982年马胚胎移植成功。1989年奶牛冻胚分割移植后产同卵双犊；1992年绵羊鲜胚分割四分胚移植产同卵羊羔。1986年和1988年北京医大和湖南医大利用体外受精分别获得自体胚胎移植的试管婴儿和异体胚胎移植的试管婴儿。从20世纪90年代末到现在，通过细胞核移植和转基因技术，科学家成功地克隆出了一些高产优质的动物。

目前，这一技术几乎在所有的家畜和实验动物上获得成功，而且更重要的是经过几十年的不断完善和充实，胚胎移植技术已经成为成熟的繁殖生物学技术并对现代畜牧业产生了巨大的影响。

## 第 1 节 胚胎工程的理论基础

2003 年 10 月, 中国农业大学与河北省芦台农场等 5 家科研单位合作, 通过体细胞克隆技术, 在国际上首次培育出用于治疗人类胃溃疡疾病的转基因克隆牛——岩娃, 它是通过核移植、胚胎移植等胚胎工程技术培养出来的。那么, 胚胎工程(embryo engineering)的理论基础是什么呢?

### 一 生殖细胞的形成

高等生物的个体发育始于受精卵, 它是由雌雄生殖细胞结合形成的。生殖细胞(germ cell)是分别由它们的原始性原细胞经减数分裂而形成的。在整个减数分裂过程中性原细胞经两次分裂产生 4 个细胞, 再经过形态上的分化逐渐变成精子(sperm)和卵细胞(egg cell)。

#### ● 精子的发生



#### 思考与讨论

1. 精子具有什么样的形态和结构特点?
2. 与受精有关的水解酶分布在精子的什么结构中?
3. 根据精子的尾部功能判断: 精子尾部含有哪种细胞器较多, 从而说明了结构与功能的统一。

#### 精子的形态结构

各种动物的精子结构都基本相同, 一般都可以分为头、中段和尾 3 部分(图 2-1)。在光镜下观察活体精子可以看到, 精子的头部很小, 主要由一个囊状的顶体和变形的细胞核构成。顶体内含有多种与受精有关的水解酶, 细胞核中染色体高度浓缩, 含有雄性动物的全部遗传信息, 细胞质很少。尾部很长, 含有较多的线粒体, 尾部是精子代谢和运动的器官, 负责精子的运动。

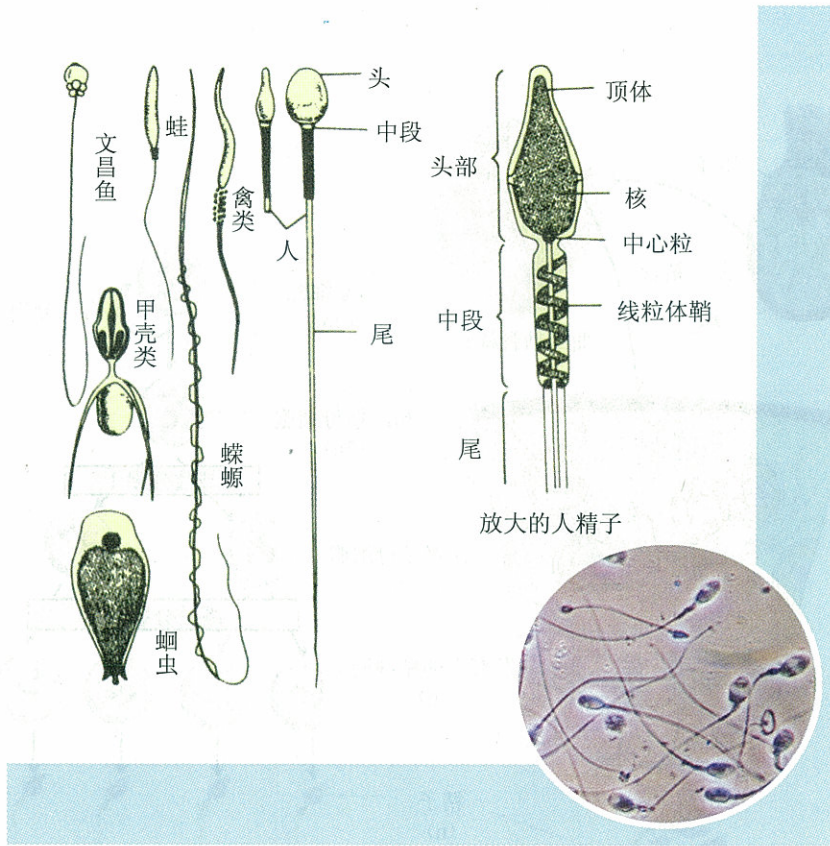


图 2-1 人和动物的精子

## 精子发生的过程

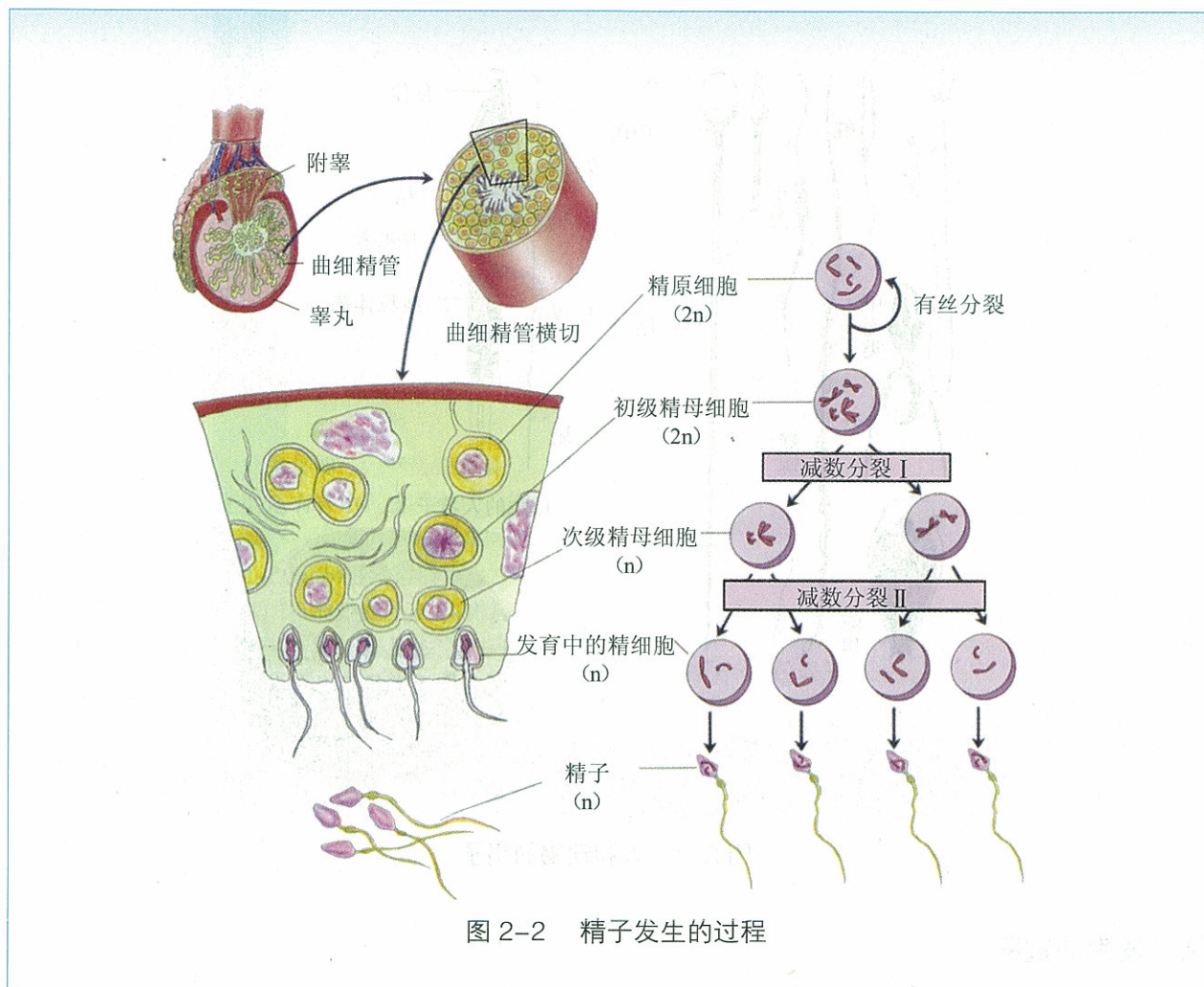


### 阅读与分析

阅读下面内容，分析睾丸与精子的关系，并回答下列问题：

1. 精子是在什么器官中产生？精子的发生包括哪几个时期？
2. 当精子产生后发生什么变化才能获得受精能力？

睾丸是精子发生、成熟的地方。睾丸的曲细精管内壁的上皮是产生精子的组织。在曲细精管的横切面上可看到精子生成的各个阶段，包括精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞和成熟的精子(图 2-2)。精原细胞是产生精子的细胞。精原细胞连续进行有丝分裂而形成多个精原细胞，其中一部分仍保留为精原细胞，另一部分长大分化为初级精母细胞。初级精母细胞立即进入减数分裂 I，并在逐步发育的过程中向曲细精管的中心推移。初级精母细胞完成了减数分裂 I 后，分裂成 2 个次级精母细胞。次级精母细胞经减数分裂 II 生成 4 个精子细胞。每一个精子细胞不再分裂，而分化发育成一个精子。



精子是在睾丸中发生和成熟的。精子发生的过程包括增殖期、生长期、成熟期和精子形成期 4 个时期。

**增殖期** 精原细胞通过有丝分裂增殖，一部分贮藏于曲细精管中继续增殖，另一部分进入生长期。

**生长期** 进入生长期的精原细胞长大成为初级精母细胞。

**成熟期** 在这个阶段，初级精母细胞进行连续两次分裂。减数分裂 I 后形成 2 个次级精母细胞，减数分裂 II 后形成 4 个精子细胞。

**精子形成期** 在这个阶段，精子细胞经过一系列的变化，形成成熟的精子。精子成熟后，从曲细精管进入附睾中进一步发育，并贮藏在附睾中。附睾中的精子一般没有受精能力，只有当精子头部的糖蛋白被分解后精子才能具备受精能力。

### 精子发生的激素调节

睾丸各曲细精管之间的间质细胞有分泌雄性激素 (androgen) 的功能，最重要的雄性激素是睾丸酮。雄性激素的作用主要是刺激雄性生殖器官和精子的发育与成熟，激发并维持第二性征。

## ● 卵细胞的发生

### 卵细胞的形态结构



#### 思考与讨论

卵细胞与精子的结构相比具有哪些特点？它对卵细胞的发育有什么意义？

卵细胞是哺乳动物体内最大的细胞(图 2-3)，大约是精子体积的 100 倍。卵细胞的细胞膜外周由内向外依次是透明带、放射冠(图 2-4)，细胞质多，核糖体十分丰富，同时还含有大量的营养物质。卵细胞不能运动。

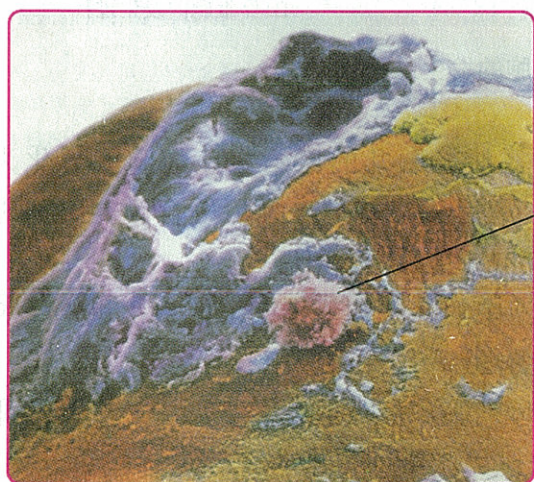


图 2-3 卵巢释放卵细胞

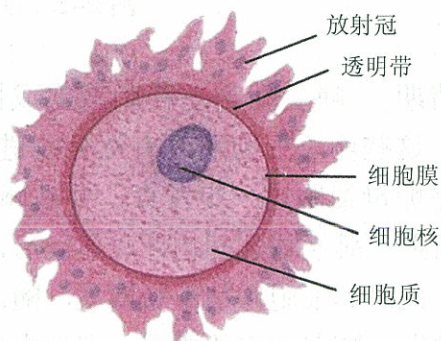


图 2-4 卵细胞的形态结构示意图

### 卵细胞发生的过程



#### 思考与讨论

卵细胞是在什么器官中产生的？卵细胞的发生包括哪几个时期？它的发生规律与精子有什么区别？

卵巢是雌性动物产生卵细胞的器官，在卵巢中包括了不同发育阶段的卵泡，卵泡分为原始卵泡、生长卵泡和成熟卵泡(图 2-5)。卵泡是卵细胞发育的场所。卵细胞发育也要经过增殖期、生长期和成熟期，但其发生的规律与精子相比有很大区别。

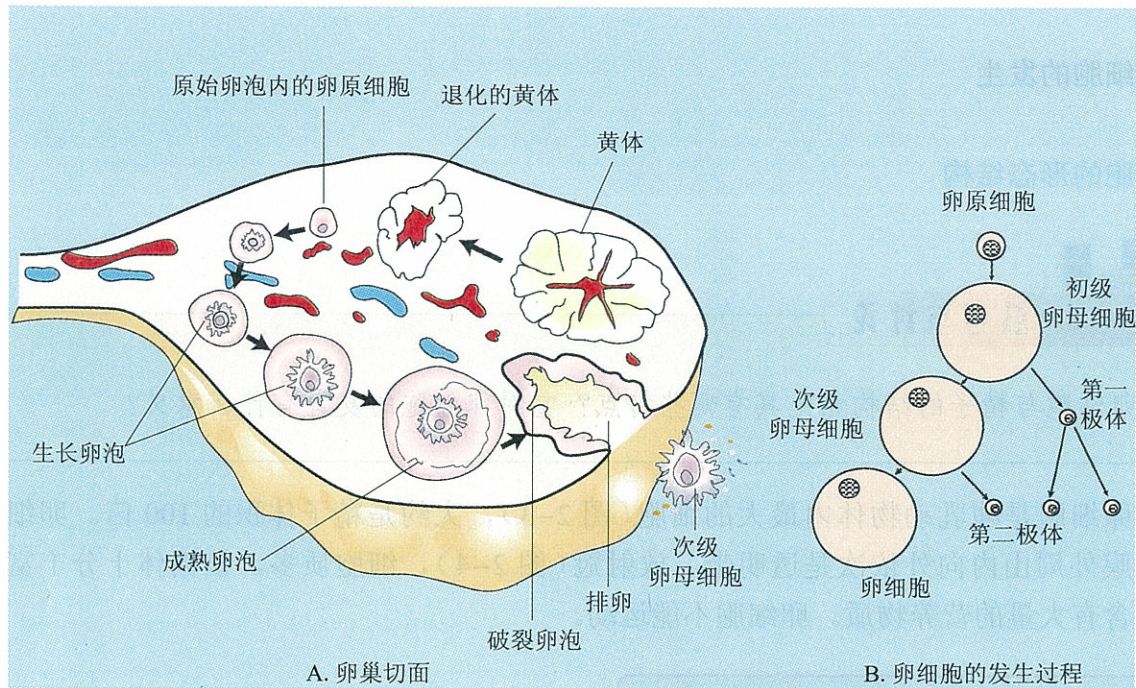


图 2-5 卵巢和卵细胞的发生过程

**增殖期** 哺乳动物在胚胎期完成性分化后，雌性胎儿的原始生殖细胞就分化为卵原细胞。这些卵原细胞通过有丝分裂进行增殖，最后一次有丝分裂后发育为初级卵母细胞。初级卵母细胞进一步发育，并被卵泡细胞包围形成原始卵泡。

**生长期** 雌性哺乳动物性成熟以后，原始卵泡中的初级卵母细胞陆续再次进入生长发育状态，此时其细胞体积不断增大，随后进入成熟期。

**成熟期** 随着卵泡的成熟，卵泡内的初级卵母细胞，经减数分裂 I 形成一个次级卵母细胞和一个很小的第一极体。对多数哺乳动物来说，次级卵母细胞继续进行减数分裂 II，但它停止在分裂中期阶段。此时从卵巢中排出，进入输卵管。如果受精则继续完成减数分裂 II，并释放出第二极体；如果没有受精则在排卵后 12~24h 退化。

### 卵细胞发生的激素调节

脑垂体能够产生两种激素：卵泡刺激素 (FSH) 和黄体生成素 (LH)。FSH 可促进卵母细胞的生长和发育，并和 LH 一起使卵泡细胞释放更多的雌激素促进卵泡生长。LH 增高会引起排卵。

## 二 胚胎的发育

精子和卵细胞受精结合而成的受精卵是下一代新生命的开始。动物受精卵的早期发育一般要经过囊胚、桑椹胚、原肠胚和中胚层发生等阶段。

## ● 受精作用

受精(fertilization)是两性配子结合形成一个新细胞合子的过程(图 2-6)。哺乳动物是体内受精的。当精子和卵细胞接触时,精子发生顶体反应,释放出水解酶,将卵细胞的透明带分解,从而进入卵细胞内。与此同时,精子接触卵黄膜时,卵细胞被激活,释放出一种物质传播到卵黄表面,引起透明带发生改变,阻止后来的精子入卵(图 2-7A),所以哺乳动物多是单精子入卵的。

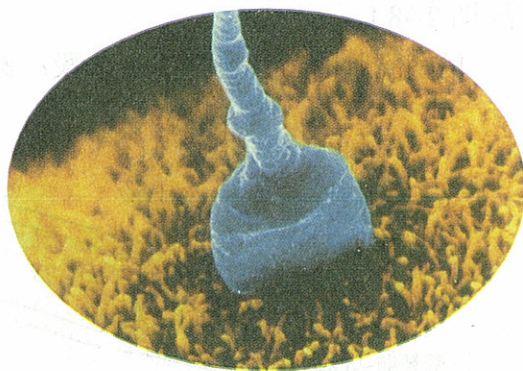
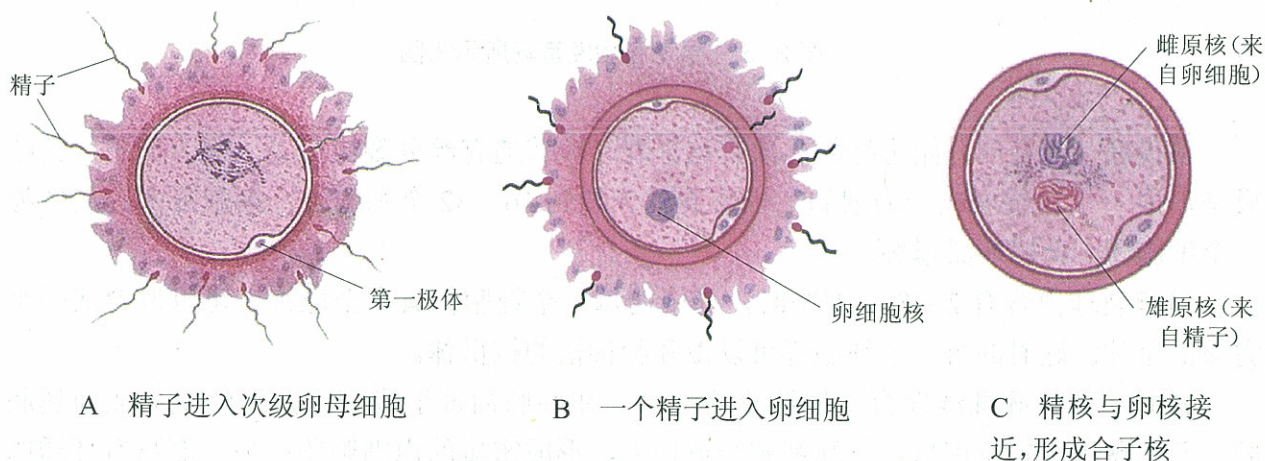


图 2-6 一个精子与卵细胞结合

各类动物的精子入卵时,卵的成熟程度是不一样的。人和许多哺乳动物的精子是在次级卵母细胞处于减数分裂Ⅱ的中期时开始进入的,精子进入后,次级卵母细胞才完成减数分裂Ⅱ并放出第二极体(图 2-7B),之后卵核和精核才融合为一个合子核(图 2-7C)。受精过程完成后开始胚胎发育。



A 精子进入次级卵母细胞

B 一个精子进入卵细胞

C 精核与卵核接近,形成合子核

图 2-7 哺乳动物受精

## ● 胚胎发育的过程



### 思考与讨论

1. 卵细胞与精子受精结合发生在什么结构中?
2. 卵细胞受精后,受精卵种植在什么结构中继续发育,直到出生?



卵细胞在输卵管中与精子受精结合。受精卵形成后，在输卵管中开始了有丝分裂的进程(图 2-8)。

早期胚胎的发育包括 3 个阶段：桑椹胚(morula)、囊胚(blastula)和原肠胚(gastrula)。

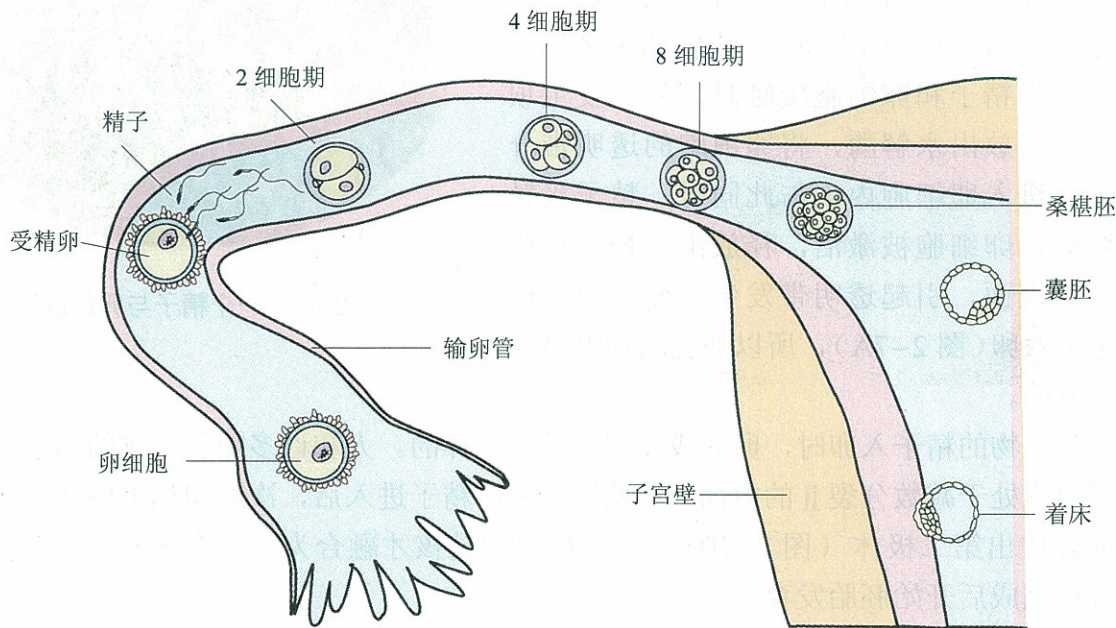


图 2-8 早期胚胎发育场所示意图

**桑椹胚** 受精卵开始进行的几次有丝分裂，较普通有丝分裂快得多，称为卵裂，其结果是形成一个卵裂球或一团细胞。当卵裂球分裂到 16~32 个细胞时，细胞紧密连接成为一个细胞团，此时叫桑椹胚。

当卵裂球内含有 2~8 个细胞时，其中的每一个细胞都具有全能性，可以发育成一个完整的个体。这时的每一个细胞都可以做胚胎移植的核供体。

**囊胚** 桑椹胚继续发育，细胞分泌液体，在胚胎内部形成空隙，逐渐变大成为囊胚腔，并出现细胞定位现象，一端细胞个体较大，形成密集的内细胞团；另一面只有环透明带一排细胞叫做滋养层(图 2-9)，此时的胚胎叫囊胚。囊胚内部的内细胞团将来发育成完整的胚胎，滋养层细胞则发育成胎膜和胎盘，为胚胎提供营养。上面两个阶段是在输卵管或子宫内进行的。

**原肠胚** 胚胎一般是在 8~16 细胞时进入子宫，吸收子宫乳后发育加快。囊胚进一步发育，内细胞团外的滋养层退化，内细胞团裸露形成胚盘，在胚盘的下方衍生出内胚层，经过变化又出现了第三个胚层，它插入到上下胚层之间，称为中胚层。这时的胚胎叫原肠胚。

原肠胚的三个胚层进一步分化，逐渐形成各种器官和系统。

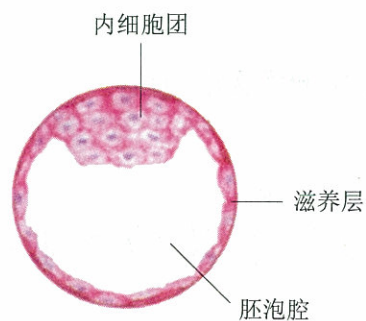


图 2-9 囊胚



## 自我检测

1. 精子和卵细胞的发生过程有什么异同?
2. 为什么哺乳动物多是单精子入卵?

## 第2节 胚胎工程实验技术

胚胎工程通常指各种胚胎操作技术。胚胎工程的研究对象主要限于高等脊椎动物,特别是哺乳动物,如小鼠、大鼠、兔和家畜等实验动物,研究内容的重点有超数排卵、体外授精、胚胎培养、胚胎保存、胚胎移植、胚胎分割、基因操作、细胞核移植等。

### 一 人工授精和胚胎体外培养

胚胎体外培养是胚胎工程的核心技术。目前胚胎培养只能对少数物种不同阶段的胚胎进行培养,尚无从受精卵到新生儿的全体外胚胎培养技术。

#### ●人工授精

##### 精子的获取

精子按其所处的位置,可分为睾丸精子、附睾精子、射出精子和雌性生殖道内的精子4类。在胚胎工程中,通常使用的是射出精子,有时也使用附睾精子。

**采精** 常用人工采集的方式采集精液。

**精液的保存** 采集的精液,通常需要加入特殊的稀释液,并在低温下保存,待需要时使用。精子在5℃时可存活1个星期,如需要长时间保存,则须将精液保存在液氮(-196℃)环境中。

##### 卵细胞的获取

卵细胞的获取,可以从卵巢中采集处于不同发育时期的卵细胞,也可以从输卵管或子宫内采集卵细胞。

在正常情况下,哺乳动物一次排卵数量极其有限。单胎动物一次排卵一枚,多胎动物

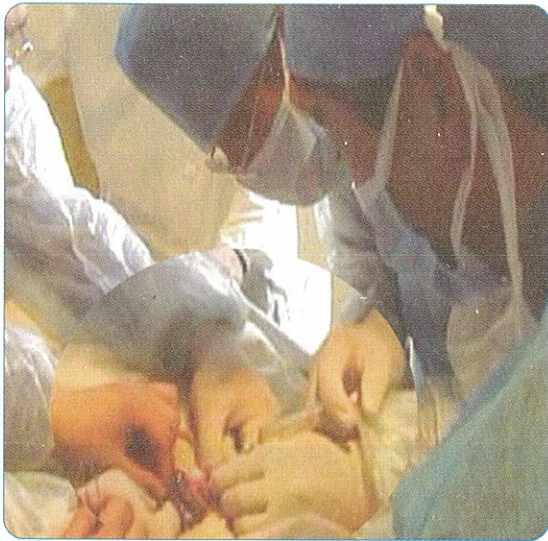


图 2-10 冲洗输卵管采卵

一次排卵几枚至几十枚。如果经垂体促卵泡激素和垂体促黄体生成激素处理，雌性动物排卵数可增加几倍至几十倍，此方法叫超数排卵。超数排卵是指人为注射外源促性腺激素，促使卵巢排出较正常情况下更多的成熟卵细胞。目前，采卵技术有手术采卵（冲洗输卵管采卵）和非手术采卵（子宫冲卵）两种方法。家兔、绵羊、山羊和猪等中小型农畜的采卵通常用冲洗输卵管采卵方法（图 2-10），而牛的采卵则主要采用非手术法。冲洗输卵管采卵是比较常用的方法，可将输卵管取出冲洗，也可在活体中进行。冲洗输卵管采卵的回收率高于子宫冲卵，但子宫冲卵为无创伤性采卵，为重复超数排卵提供了可能。

当获取精子和卵细胞后，就可以在体外进行人工授精（artificial fertilization）。体外授精过程中至关重要的一个环节是在体外条件下，利用化学药物（咖啡因、肝素等）使精子达到获能状态，这样才能够穿入到卵细胞内部。人工授精的方法有体外授精和显微授精两种方法。

### 体外授精

体外授精就是采取雌性动物的卵细胞和雄性动物的精子，使其在试管中受精。其过程是，取出成熟附睾精子，放入培养液中，在  $\text{CO}_2$  培养箱（图 2-11）内放置 2h，使精子活力增强；采集成熟的卵细胞，放入含有精子的卵细胞培养液中，6h 后检查受精情况，若已受精，可看到第二极体和雌雄原核形成。将受精卵或胚胎移植到雌性动物子宫内生长发育，最后，经分娩产子即是“试管动物”（图 2-12）。

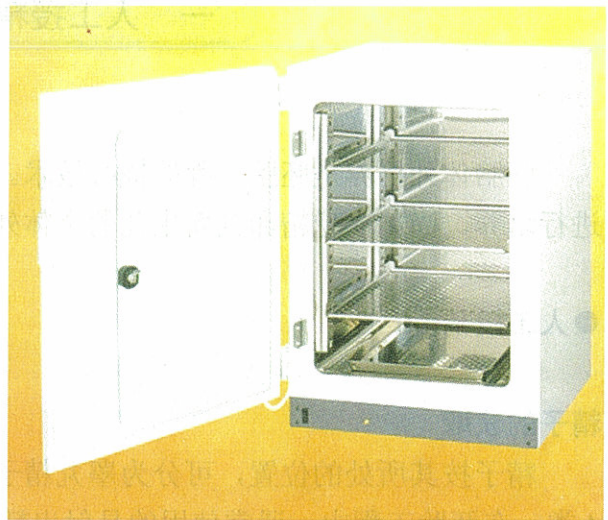


图 2-11  $\text{CO}_2$  培养箱



图 2-12 试管绵羊

## 显微授精

显微授精又称辅助授精，是将完整精子或精核用显微操作仪注入卵周隙或卵胞质，激活卵母细胞并完成受精作用(图 2-13)。显微授精过程不受精子的数量、活力等因素的影响。

近年来，此项研究获得了突破性的进展。应用显微授精法，科学家可以使一对不育的夫妇得到异性双胞胎。

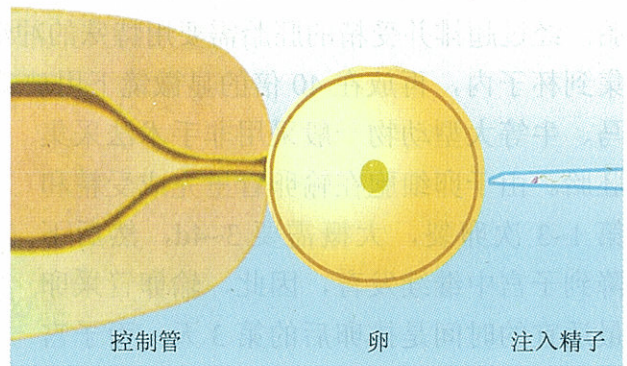


图 2-13 体外用毛细管直接将精子注入卵细胞

### ● 胚胎体外培养

胚胎体外培养是应用人工创造的环境，对获取的早期胚胎进行体外培养。由于胚胎不同发育时期生理代谢的需求不同，进行胚胎体外培养时，必须配制一系列含有不同成分的培养液，培养不同发育时期的胚胎。

胚胎体外培养是胚胎工程的核心技术。但是由于哺乳动物胚胎发育(embryonic development)条件异常复杂，胚胎培养(embryo culture)比组织培养和细胞培养困难得多。目前，只能对少数物种不同阶段的胚胎进行培养，尚无从受精卵到新生儿的全体外胚胎培养技术。

## 二 胚胎移植技术

目前由于无法进行胚胎全体外培养，胚胎移植(embryo transplantation)成为胚胎工程中获得后代的唯一方法。

胚胎移植技术(embryo transplantation technique)是指从经济价值较高、遗传性状优秀的母畜体内获取经过激素处理超数排卵受精发育的胚胎，移植到同期发情的代孕母的子宫内，经过妊娠产仔的技术。胚胎移植技术简单地说就是“借腹怀胎”。提供胚胎的动物称为供体，接受胚胎的动物叫做受体(又叫代孕母)。良种动物可以专门提供胚胎，而怀孕的任务让一般的雌性动物来完成。

### ● 胚胎移植前的准备

#### 胚胎的采集

目前胚胎的来源有两种：一种是采用超数排卵技术(简称超排)，以增加可用卵的数量；另一种是利用体外授精技术培育胚胎。

不同动物胚胎的采集应采用不同的方法。小鼠、兔、羊和猪都可以用手术方法进行。用手术法采集胚胎时，将动物麻醉后，从腹中部切开，用冲卵液从子宫角或输卵管冲出胚胎。经过超排并受精的胚胎需要用特殊的冲洗液，将胚胎从母畜的生殖道中冲洗出来，收集到杯子内，再放在40倍的显微镜下用玻璃管从冲洗液中检出，放在新的培养液中。而马、牛等大型动物一般采用非手术法采集胚胎。由于卵细胞在输卵管里完成受精和第1~3次卵裂，大概需要3~4d，然后下降到子宫中继续发育，因此，输卵管采卵最适宜的时间是排卵后的第3天，而子宫采卵则在第4天之后。不同动物有不同的最佳采卵日。

检出的胚胎必须在显微镜下观察(图2-14)，经检查后完整的胚胎即可移植到受体的子宫内或保存备用。胚胎移植的整个过程必须迅速准确，并保持无菌操作。



图2-14 胚胎检验

### 供体、受体动物的准备



#### 思考与讨论

1. 在胚胎移植过程中，当供体动物确定之后，还应该考虑哪些正常指标来确定理想的供体群？
2. 在胚胎移植过程中，确定了理想的供体后，选择什么样的代孕母作为受体呢？
3. 在采集供体产生的胚胎之前或胚胎移植之前，受体母畜在生理上应该具备哪些条件？

实验证明，选择供体时，应先从那些遗传性能优良而稳定的健康母畜中选择，然后再根据营养情况、繁殖力、年龄、发情周期、对超数排卵的反应及自然排卵是否正常等指标来进一步选择理想的供体群，并建立严格的供体档案。

受体的选择比较简单，原则上选择那些生产性能较低、数量较多、健康无病、发情周期正常的适龄母畜作为移植受体。

一头供体牛可提供几个或几十个胚胎，因此胚胎移植时，同时需要多个受体牛。实验证明，只有当供给胚胎的母牛和接受胚胎的母牛的生殖器官处于相同的生理状态下，胚胎移植才有可能成功。因此，进行胚胎移植时要求受体牛的发情同步化。其方法是除了对自然发情家畜进行选择外，还通常采用诱导发情处理的方法，即用孕激素

(黄体酮)使受体家畜发情同步,发情时间一般都在药物处理后的第2~5d。不同的供体和受体动物使用超数排卵的激素和诱导发情的激素不同,处理的方法也不同。

### 胚胎的保存

胚胎保存是指在一定条件下使胚胎停止发育并保持重新恢复发育活性的一种方法。如果冲出来的胚胎数量较多,一时用不完或受体动物尚未准备好,可将它们放在培养液中 $0^{\circ}\text{C}\sim 5^{\circ}\text{C}$ 下暂时保存。因为在室温条件下,胚胎在培养液中只能存活10~20h。不同动物胚胎保存的温度要求不一样。如果需要长途运输,或从国外进口胚胎,需要长期保存,就必须将胚胎冷冻在液氮( $-196^{\circ}\text{C}$ )中(图2-15)。



图2-15 胚胎冷冻仪

### ● 胚胎移植的实施



#### 思考与讨论

1. 你认为在胚胎移植过程中,最应该注意的是什么?
2. 无论几个细胞的胚胎,最初都必须放在子宫内吗?
3. 决定妊娠率的因素很多,其中最重要的是什么?

胚胎移植也可分为手术法和非手术法两种。一般中小型的动物(小鼠、山羊、猪)都采用手术法。即经消毒后切开腹中线,取出子宫和输卵管。若胚胎发育在8个细胞以内,将移植的胚胎连同微量的培养基一起移至输卵管的膨大部分。若多于8个细胞,可将胚胎移植到子宫角。但猪和家兔例外,猪4个细胞后期的胚胎要移至子宫角,而家兔16个细胞胚胎则移至输卵管。最后把卵巢、输卵管和子宫角放回腹腔,缝合肌肉层和皮肤,并经消毒处理。为防止动物体温下降,从麻醉至苏醒时,应在 $37^{\circ}\text{C}$ 下保温。动物苏醒后立即放回笼内。

非手术法移植一般用于大家畜如牛、马等,是采用特殊器械进行的移植。非手术移植一般在发情后6~9d(即胚泡阶段)进行,过早移植会影响受胎率。在非手术移植中采用胚胎移植枪和0.25mL细管移植的效果较好。胚胎移植时,用细管吸入少许保存液,吸一个气泡,然后吸入含胚胎的少许保存液,再吸入一个气泡,最后再吸取少许保存液。将装有胚胎的吸管装入移植枪内,通过子宫颈插入子宫角深部,注入胚胎。经代孕母妊娠、分娩,产出良种后代(图2-16)。

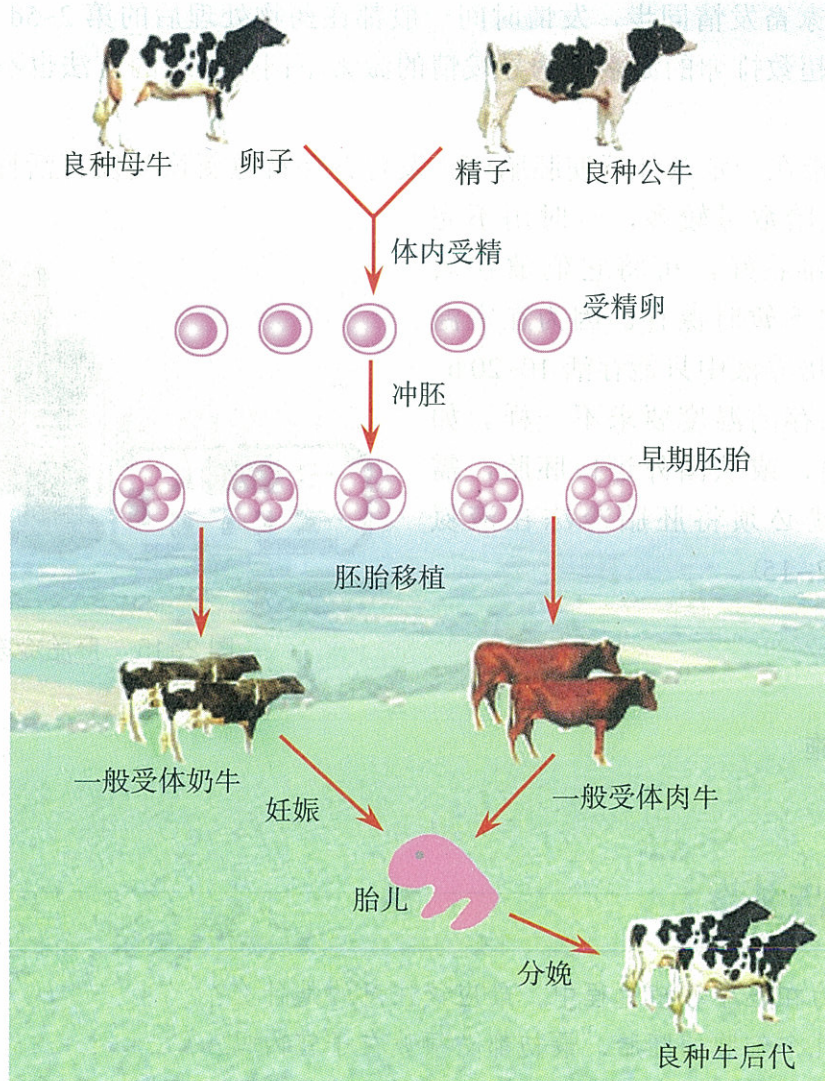


图 2-16 胚胎移植过程示意图

### ● 胚胎移植技术的应用

人工授精技术使优秀公畜的遗传潜力得到最大限度的发挥，而胚胎移植技术可使优良公、母畜的繁殖潜力都得以充分发挥。采用人工授精改良地方品种，产生的是杂交种。胚胎移植产生的后代，其遗传物质来自于经过严格挑选的母畜和与之交配的公畜，遗传素质出众，品质和价值都远远高于杂交改良品种。目前，胚胎移植应用最广、成效最大的家畜是牛，其次是羊。胚胎移植的应用主要表现在以下几个方面：

首先，是充分发挥优良母畜的繁殖潜力，迅速扩大优良种群。在自然情况下，牛、马等母畜通常一年产 1 胎，一生中繁殖后代仅仅 16 只左右，猪一生中产崽也不过百头。在实行胚胎移植的时候，使优良母畜免去了冗长的妊娠期，胚胎取出后不久即可再次发情、配种和受精，从而能在一定时间内产生较多的后代。并且通过对供体实行超数排卵处理，一次可获得多枚胚胎，移植后能产生更多的后代。

其次，是保存品种资源，建立优良种质资源基因库。目前，将胚胎放在液氮中进行长期冷冻保存的技术已经相当成熟，这就为某些特定品种家畜和野生动物品种资源保存提供了理想的方式。精子库、卵子库和胚胎库是保护生物种质资源的有效方法。

另外，代替优良种畜的引进。用胚胎代替活畜引种，运输极为方便，不仅可以节省数额巨大的进口种畜的费用，还可避免疯牛病对国内畜牧业的危害，而且能得到遗传上更优秀的后代。



### 小资料

胚胎移植也能在不同种动物之间进行。比如，美国将斑马的胚胎移植给普通马，生出了小斑马。这就意味着人们可以利用胚胎移植技术来拯救那些濒临灭绝的动物。

## 三 胚胎分割技术

近几年来，应用胚胎工程繁殖动物除采用了超数排卵技术，还采用了胚胎分割技术，然后再进行胚胎移植。胚胎分割(embryo division)技术是把一个胚胎的细胞分成两组或多组，经过短暂培养使其修复、发育后，再一同或分别移植到不同的代孕母中妊娠并产生多胎的技术，这种技术又称做人工同卵多胎技术。胚胎分割可成倍增加胚胎数量，是一种快速繁殖种畜法。那么，胚胎分割是如何进行的呢？

### ● 胚胎分割的程序

#### 切割器具的准备

胚胎分割需要的器械有体视显微镜、倒置显微镜(图 2-17)和显微操作仪。在进行胚胎分割之前需要制作胚胎固定管和分割针。固定管要求末端钝圆，外径与所固定胚胎直径相近，内径一般为  $20\sim 30\mu\text{m}$ ；切割针目前有玻璃针和微刀两种，玻璃针一般用实心玻璃棒拉成，微刀是用锋利的金属刀片与微细玻璃棒粘在一起制成。

#### 胚胎的预处理

为了减少切割损伤，胚胎在切割前一般用链霉蛋白酶进行短时间处理，使透明带软化并变薄或去除透明带。

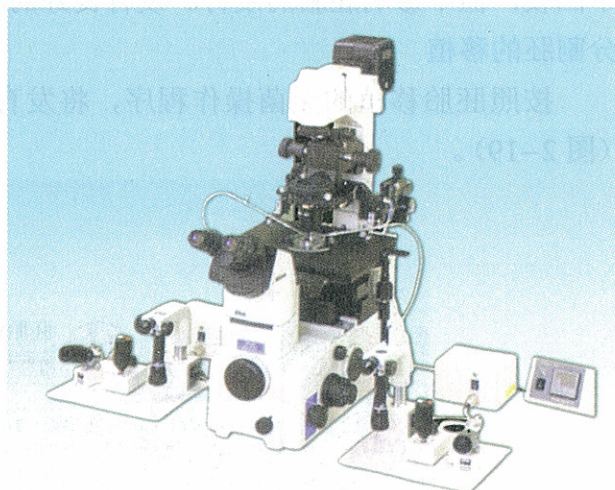


图 2-17 倒置显微镜



## 胚胎的分割



### 思考与讨论

不同发育阶段的胚胎，胚胎切割的方法都一样吗？将切割下来的一部分胚胎放在什么结构中才能进一步发育？

在进行胚胎切割时，先将发育良好的胚胎移入含有操作液的培养皿中，然后在显微镜下用切割针或切割刀把胚胎一分为二(图 2-18)。不同发育阶段的胚胎，可以采用不同的

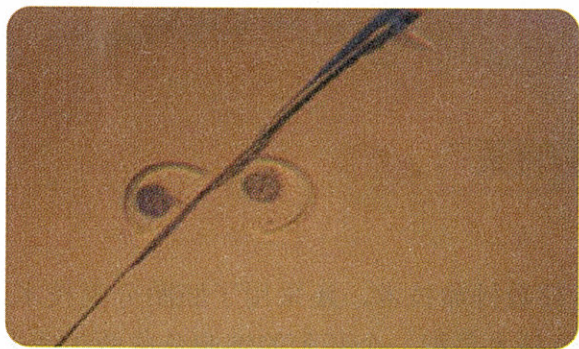


图 2-18 胚胎分割

切割方法。处于 2~6 个细胞期的胚胎可以用链霉菌蛋白酶消化除去外层透明带，或者用微针切开透明带，用吸管轻轻吹打使卵裂球分散后，用微管吸取单个或部分卵裂球，放入另一空透明带中，再置于适当的培养基中使之发育至桑椹胚，再移植到动物子宫。对桑椹期的胚胎通常采用直接切割法使其切割成半胚或四分胚，放入同种或异种动物空透明带中，或直接移植给受体。

### 分割胚的培养

为提高半胚移植的妊娠率和胚胎利用率，分割后的半胚需放入空透明带中，或者用琼脂包埋移入中间受体输卵管内，或直接在体外培养到桑椹胚或囊胚阶段。半胚的体外培养方法与体外受精卵的培养方法基本相同。体内培养的中间受体一般选择绵羊、家兔等动物的输卵管，输卵管在胚胎移入后需要结扎以防胚胎丢失。琼脂包埋的作用是固定胚胎，便于回收，但不影响胚胎的发育。发育良好的胚胎可移植到受体体内继续发育。

### 分割胚的移植

按照胚胎移植的无菌操作程序，将发育良好的胚胎移植到受体体内后，受体受孕产仔(图 2-19)。

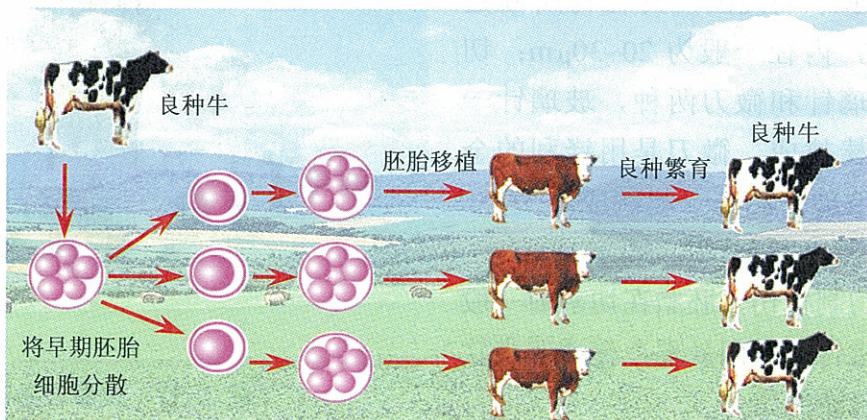


图 2-19 胚胎分割技术过程示意图

## ● 胚胎分割技术的应用

目前, 科学家已成功研究出了小鼠、家兔、山羊、绵羊、牛、马、猪、猴(图 2-20)等动物的同卵孪生后代。我国从 1986 年开始有胚胎分割成功的报道, 通过胚胎分割研究已获得胚胎二分割后代的有小鼠、家兔、猪、山羊、绵羊和牛(图 2-21)等; 胚胎四分割后代的有小鼠、绵羊和牛等动物。

由于用胚胎分割可获得同卵孪生后代, 在畜牧生产上, 常通过胚胎分割来扩大优良家畜的数量; 胚胎分割还可以用来培育遗传特性相同的动物群, 为生物学、医学、药学和畜牧学的研究提供实验动物, 如运用同卵孪生后代



图 2-20 胚胎分割繁殖的恒河猴



图 2-21 胚胎分割移植成功的同卵双生牛

作实验材料, 可消除遗传差异, 提高实验结果的准确性。胚胎切割取样还可以用于胚胎的性别鉴定。

尽管胚胎分割技术已在多种动物实验中取得了成功, 但是仍然存在很多问题须作深入研究。比如, 在牛切割胚胎移植实践中, 人们发现有些分割胚即使培养到囊胚阶段, 与正常胚胎相比, 细胞数也明显较

少, 移植后代的体重相应较低。这可能与早期胚胎细胞的分化和定位有关, 但发育机理还有待深入研究。此外, 同一胚胎切割后获得的后代, 在理论上, 遗传性状应该完全一致, 但事实并不是这样。人们发现 6~7 日龄牛胚胎分割后, 同卵双生牛的毛色和斑纹并不完全相同, 而在 2 个细胞阶段分割, 却表现出遗传一致性。这种现象与胚胎细胞的分化有密切关系, 但目前对不同阶段胚胎细胞的分化时间和发育潜力了解很少, 需要进一步研究。

## 四 胚胎干细胞技术

当受精卵分裂发育成早期胚胎(囊胚, 图 2-22)时, 内细胞团(inner cell mass)的细胞即为胚胎干细胞(embryonic stem cell, ES 细胞)。胚胎干细胞是一种高度未分化细胞, 它具有发育的全能性和二倍体核型, 能分化成体动物的所有组织和器官, 包括生殖细胞。胚胎干细胞的形态表现为胞体小、泡状、核大(图 2-23)。在动物克隆技术、转基因技术以及在生物学基础研究中, 胚胎干细胞具有广泛的应用前景, 研究和利用胚胎干细胞是当前动物生物工程的重要领域之一。

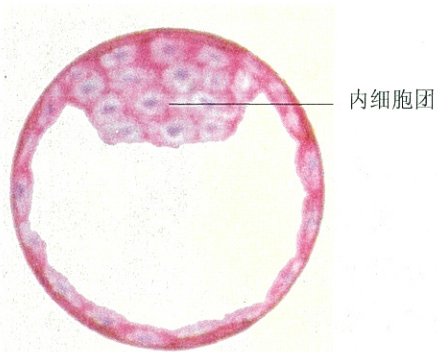


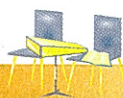
图 2-22 早期胚胎(囊胚)



图 2-23 胚胎干细胞

### ● 胚胎干细胞核移植

由于胚胎干细胞是具有全能性、未分化的细胞，因此是培育克隆动物很好的核供体。



#### 思考与讨论

1. 通过体外培养,如何使胚胎干细胞保持增殖不分化?
2. 在胚胎发育时期,胚胎干细胞来源于胚胎发育阶段的哪个时期,何种细胞?

### 饲养层细胞培养体系的建立

培养胚胎干细胞的关键是需要一种培养体系，这种体系必须能促进干细胞的生长，同时还要抑制干细胞的分化。培养胚胎干细胞时，首先要在培养皿底部制备一层细胞，这层细胞称为饲养层，然后把干细胞接种在饲养层上面。用于饲养层的细胞一般是胚胎成纤维细胞，这是因为胚胎成纤维细胞可以分泌一些能够抑制细胞分化的物质，如白血病抑制因子(LIF)或分化抑制因子(DIA)等。

### 胚胎干细胞的获得

把胚胎放于培养液中继续培养，直到内细胞团突出饲养层外，然后用酶消化或机械剥离内细胞团，再把它用酶消化成单个细胞，置于新鲜培养液中培养。不同的胚胎干细胞，来自不同的胚胎发育阶段。小鼠的胚胎干细胞一般选取自桑椹胚、囊胚和延迟着床的囊胚；人和猪的胚胎干细胞可从囊胚和原始生殖细胞中获得。

为了抑制胚胎干细胞的分化，可以采取不同的方法。一种是不断更换培养液，以传代方式维持胚胎干细胞快速繁殖和不分化；另一种方法是冷冻，加入一定的抗冻剂，将胚胎干细胞放入液氮中长期保存。

### 胚胎干细胞的核移植

胚胎干细胞核移植是指把胚胎干细胞核移植到去核的卵母细胞中，经过胚激活、胚胎培养、胚胎移植后由代孕母直接获得克隆动物的技术。利用这一技术，可以培养出与核供体极为相似的“复制品”。胚胎干细胞核移植技术过程示意图如下(图 2-24)。

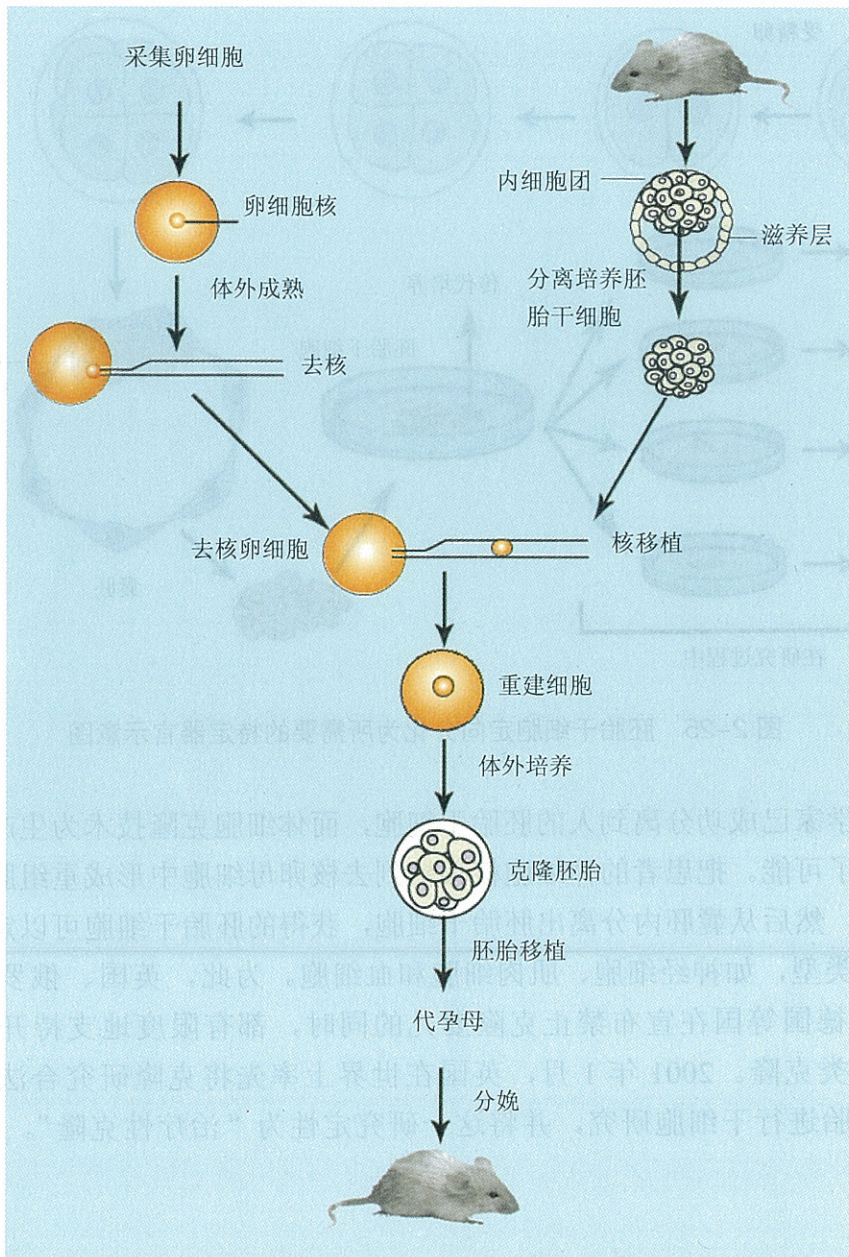


图 2-24 胚胎干细胞核移植示意图

### ● 胚胎干细胞的应用

随着对胚胎干细胞的深入研究，人们已经得到了多种动物的胚胎干细胞核移植的后代。通过胚胎干细胞核移植产生的后代，具有和亲代相同的遗传特性，因此胚胎干细胞核移植技术在繁育优良畜群、拯救珍稀或濒危物种等方面具有重要意义。

胚胎干细胞的应用广范，对于核移植的应用仅是其中的一部分。人体的胚胎干细胞可分化为人体的任何一种细胞或组织。利用人体胚胎干细胞的这一特性可以培育移植用细胞、组织或器官(图 2-25)，这在医疗上具有重要的应用前景。

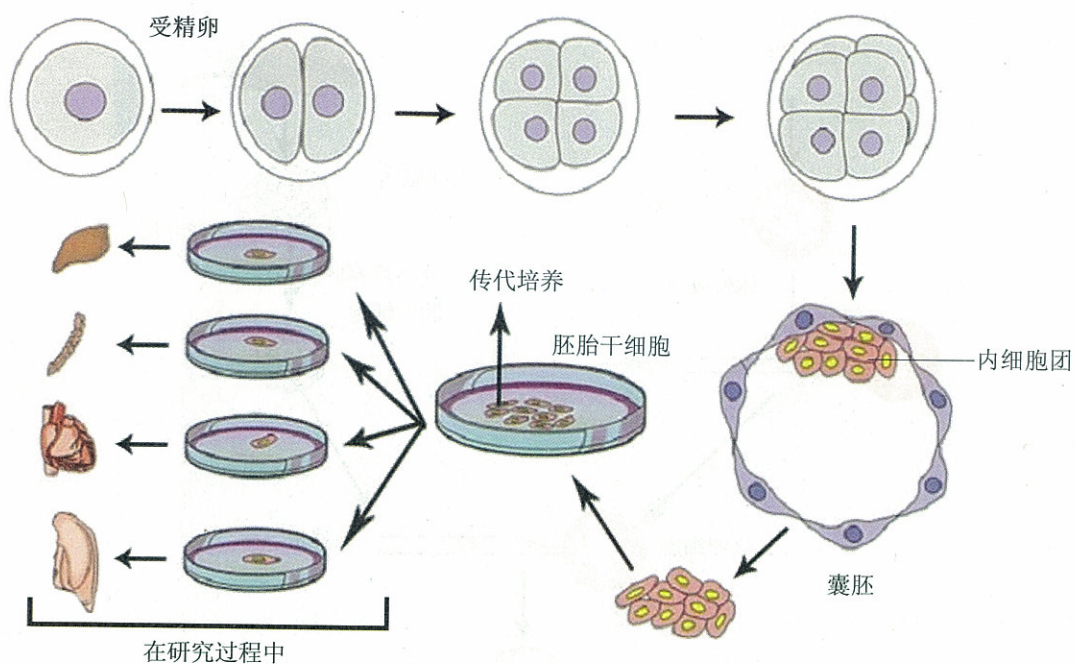


图 2-25 胚胎干细胞定向分化为所需要的特定器官示意图

目前，科学家已成功分离到人的胚胎干细胞，而体细胞克隆技术为生产患者自身的胚胎干细胞提供了可能。把患者的体细胞核移植到去核卵母细胞中形成重组胚，把重组胚体外培养到囊胚，然后从囊胚内分离出胚胎干细胞，获得的胚胎干细胞可以定向分化为所需要的特定细胞类型，如神经细胞、肌肉细胞和血细胞。为此，英国、俄罗斯、日本、比利时、法国、德国等国在宣布禁止克隆婴儿的同时，都有限度地支持开展用于研究和医学试验的人类克隆。2001年1月，英国在世界上率先将克隆研究合法化，允许科学家培养克隆胚胎进行干细胞研究，并将这一研究定性为“治疗性克隆”。



### 自我检测

1. 为什么说超数排卵和同期发情是胚胎移植中必不可少的两个环节？
2. 胚胎干细胞具有哪些特点？应用前景如何？

## 本章小结

胚胎工程是指利用人工方法影响、改变动物胚胎品质和进程的一种生物技术。胚胎工程的研究对象主要限于高等脊椎动物，特别是哺乳动物，如小鼠、兔和家畜等实验动物；研究内容的重点有超数排卵、体外授精、胚胎培养、胚胎保存、胚胎移植、胚胎分割、细胞核移植等。胚胎工程除了用于深入开展发育生物学研究之外，它的实用目的是增加胚胎数量，提高胚胎质量，用于发展畜牧业或用于医学实践。

精子产生于睾丸，贮存在附睾内。精子的产生包括精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞和成熟的精子几个发育阶段。卵巢是雌性动物产生卵细胞的器官，在卵巢内有不同发育阶段的卵泡。卵泡分为原始卵泡、生长卵泡和成熟卵泡。成熟卵泡中形成的是次级卵母细胞。对多数哺乳动物来说，次级卵母细胞在减数分裂Ⅱ中期时从卵巢中排出，进入输卵管，在受精作用的刺激下才能继续完成减数分裂Ⅱ，并释放出第二极体。早期胚胎的发育包括3个阶段：桑椹胚、囊胚和原肠胚。囊胚内细胞团将来发育成完整的胚胎。

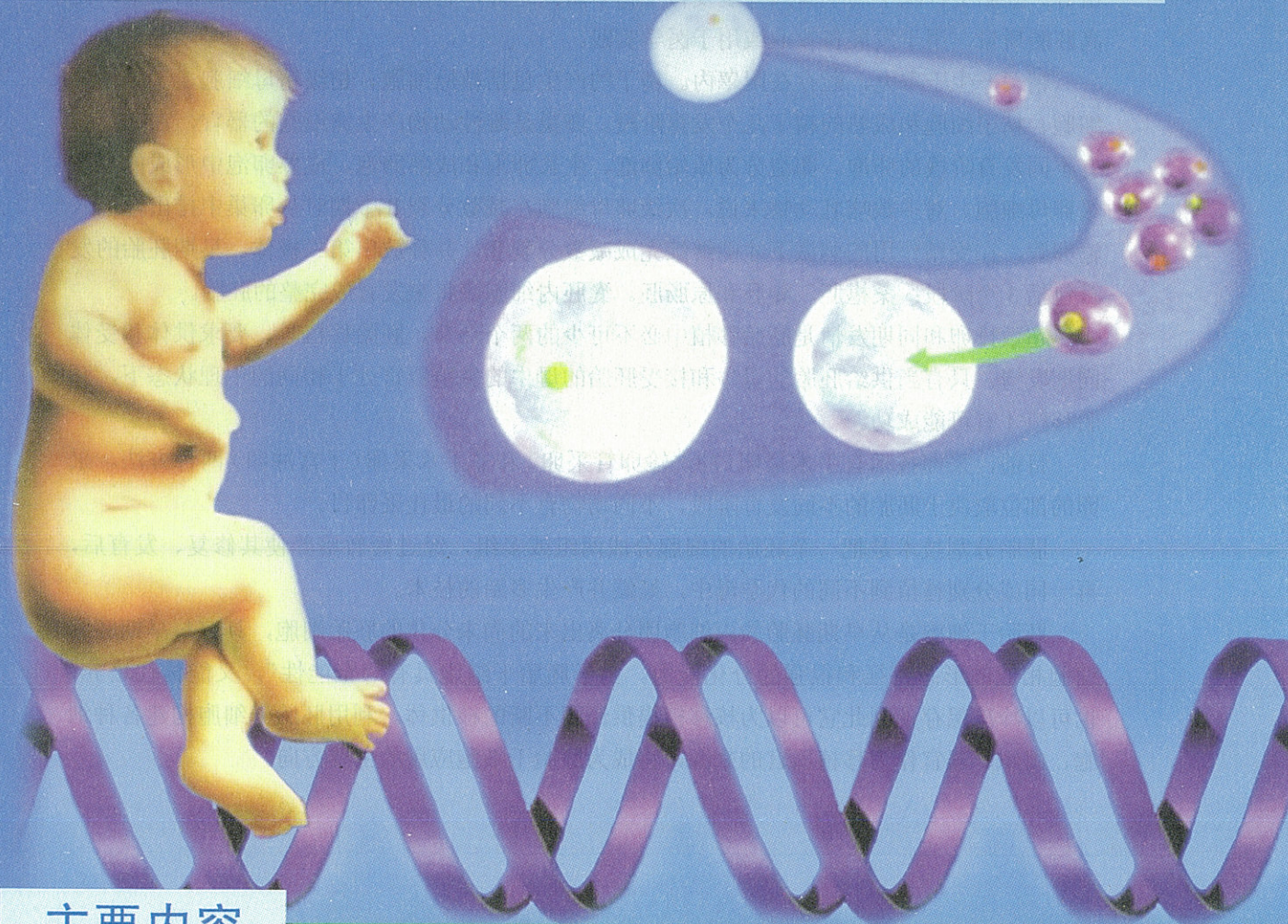
超数排卵和同期发情是胚胎移植中必不可少的两个环节。胚胎移植时，要求供体和受体同期发情，只有当供给胚胎的母牛和接受胚胎的母牛的生殖器官处于相同的生理状态下，胚胎移植才有可能成功。

目前，采卵技术有手术采卵（冲洗输卵管采卵）和非手术采卵（子宫冲卵）两种方法。采卵的部位取决于胚胎的不同发育阶段，不同动物有不同的最佳采卵日。

胚胎分割技术是把一个胚胎的细胞分成两组或多组，经过短暂培养使其修复、发育后，再一同或分别移植到不同的代孕母中，妊娠并产生多胎的技术。

胚胎干细胞是从早期胚胎的内细胞团分离出来的尚未分化的胚胎细胞，具有与早期胚胎细胞相似的形态特征和很强的分化能力。由于胚胎干细胞具有“全能性”，又能传代培养，也可以冷冻保存，因此它可以为核移植提供源源不断的核供体。利用胚胎干细胞构建各种细胞、组织、器官作为移植器官的来源，将成为胚胎干细胞应用的主要方向。

# 第 3 章 细胞工程



## 主要内容

### 1. 植物细胞工程

- 植物细胞工程的基本技术
- 实验 小麦种胚的组织培养
- 植物细胞工程的应用

### 2. 动物细胞工程

- 动物细胞工程的主要技术
- 动物细胞工程的应用



无论任何先进的科学技术都凝聚了大量科学家的心血和智慧，细胞工程技术也不例外，它的发展和完善也经历了漫长曲折的探索过程。

1902年德国科学家哈伯兰特(G. Haberlandt, 1854—1945)首次提出细胞具有全能性的理论,为细胞工程的诞生奠定了坚实的基础。1958年美国科学家斯图尔德(F.C.Steward)等利用胡萝卜根的组织培养首次证明了植物细胞的全能性。20世纪70年代以植物细胞克隆为代表的植物细胞工程诞生。

在动物研究领域,1907年美国科学家哈里森(R.G.Harrison, 1870—1959)利用神经元细胞,证明了动物组织体外培养的可行性,首创了动物体外组织培养法。我国科学家童弟周(1902—1979)等在20世纪60年代初就开展了鱼类的细胞核移植工作,1978年他通过把黑斑蛙红细胞的核转移到同种生物的去核卵中,得到了正常发育的蝌蚪。1996年7月,世界上第一只克隆羊多莉(Dolly)在英国诞生,人类首次实现了哺乳动物的体细胞克隆。在随后的两年中,各种克隆动物相继出现。动物体细胞克隆技术的蓬勃发展使动物细胞工程成为现代生物技术中的热点研究领域之一。

细胞工程的各项高新技术极大地促进了人类社会经济、文化的发展和水平的提高。动物克隆和植物微型繁殖技术的应用使我们能够大量地快速繁殖一些动植物的优良品种;杂交瘤技术为人类提供了诊治疾病的利器——单克隆抗体;植物体细胞杂交和动物细胞融合技术有助于人类创造自然界中前所未有的新物种。21世纪的细胞工程将会使我们的生活更加丰富多彩。



克隆猴



克隆羊



白菜甘蓝



## 第 1 节 植物细胞工程

在花卉园的一角，一片傲霜怒放、婀娜多姿的菊花吸引了参观者的目光。同时，人们也对菊花前面的展牌内容产生了浓厚的兴趣。原来这些菊花是科学工作者利用优良品种的花瓣，通过植物细胞工程的组织培养技术培育出的“试管菊花”（图 3-1）。那么，什么是植物细胞工程呢？



图 3-1 试管菊花

### 一 植物细胞工程的基本技术

植物细胞工程涉及许多操作技术，主要包括植物组织培养技术、植物体细胞杂交技术和植物细胞核移植技术等。

#### ● 植物组织培养技术

任何一个细胞只要含有这种生物的全部遗传信息，那么，它就具有发育成完整生物体的潜能，也就是说每个生物细胞都具有全能性的特点。因此在理论上，我们不仅可以利用菊花的花瓣来培育完整的菊花，就是利用植物的一片叶、一条根、一粒花粉也可以培育出完整的植株。那么，科学家又是怎样在小小的试管中利用菊花的花瓣培养出大量菊花的呢？其实，他们主要是利用了植物细胞工程的最基本的技术之一——植物组织培养（plant tissue culture）技术。

植物组织培养是植物细胞工程的基础技术，根据培养物的种类又可以分为很多具体的培养技术，如植物细胞培养、植物离体胚培养、原生质体培养和花粉及花药培养技术等。

植物的细胞培养是植物体细胞杂交、植物细胞核移植、显微注射和细胞代谢产物大规模生产等技术的基础，主要是将选定的植物细胞在适当的条件下进行培养，以得到大量基本同步生长的细胞，为遗传操作提供材料。植物细胞培养采用的方法主要是细胞悬浮培养。

植物细胞外面有一层细胞壁，利用纤维素酶和果胶酶去除这层细胞壁，就可以获得具有活力的原生质体。对这些原生质体的培养是植物体细胞杂交和显微注射技术的基础。

植物杂交育种得到的后代往往会发生分离。利用常规育种方法选育出能够稳定遗传的优良品种一般要经过 7~8 年的时间。如果利用花粉和花药培养技术，在一年时间里就可以选育出稳定遗传的植株（图 3-2）。

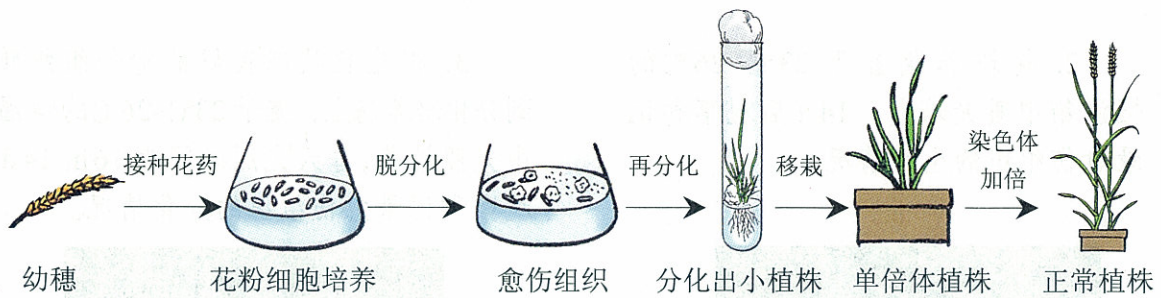


图 3-2 小麦的单倍体育种流程示意图

根据培养材料的不同，植物离体胚培养可以分为幼胚培养与成熟胚培养两类。这种技术通过使用相应的培养基使离体胚正常地萌发生长，或诱导其产生愈伤组织，再分化形成完整植株。不同种的植物杂交形成的幼胚往往会发生夭折，所以幼胚培养一般常用于挽救远缘杂交的种子幼胚。



### 小麦种胚的组织培养

#### 活动目标

1. 简述植物组织培养的基本原理。
2. 进行植物种胚的组织培养实验。

#### 实验原理

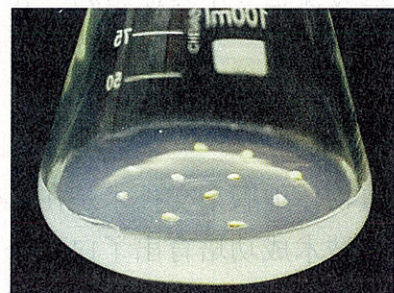
植物体的活细胞一般都具有全能性。在特定的营养和激素条件下，小麦的种胚可以脱分化形成愈伤组织，在含有不同激素成分的培养基上可以再分化生成幼苗，进而发育成完整的小麦植株。

#### 材料用具

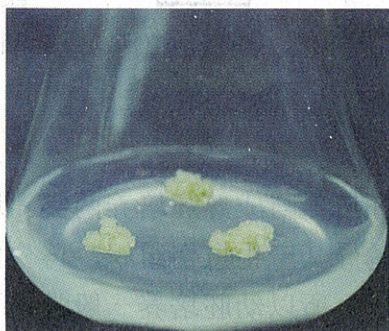
小麦种子；经过灭菌的培养基，体积分数为 20% 的次氯酸钠溶液，无菌水；恒温箱，超净工作台(或接种箱)，高压灭菌锅(或普通高压锅)，50 mL 锥形瓶(或大试管)，解剖刀，镊子，酒精灯，标签，消毒用酒精棉球。

#### 方法步骤

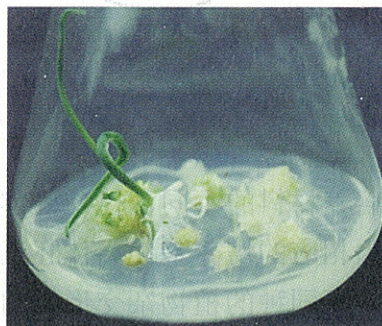
1. 将小麦种子在水中浸泡过夜，在超净工作台上用次氯酸钠溶液处理 30 min 后，立即用无菌水清洗 2~3 次。将种胚小心用解剖刀剥离，用镊子接种到培养基上。封盖瓶口后，在培养瓶上写明材料名称、接种日期和小组号。



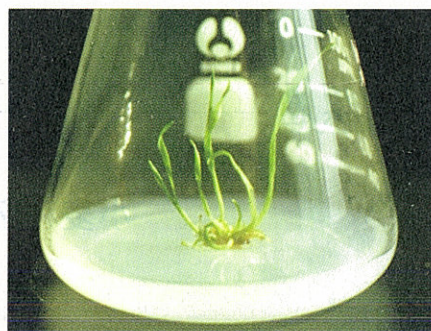
2. 将培养瓶置于 23℃~26℃ 的恒温箱中避光培养。14d 后观察和记录愈伤组织的生长情况。



3. 将生长状态良好的愈伤组织转接到分化培养基上, 置于 23℃~26℃ 的恒温箱中光照培养, 每天光照时间为 16h。14d 后观察和记录愈伤组织的分化情况。



4. 当分化出的幼苗生长到 3~4 cm 时, 转接到生根培养基, 继续恒温光照培养。幼苗生根后, 打开瓶盖, 加入少量的水, 对幼苗进行 7d 炼苗处理, 然后将试管苗移栽到土壤中。



### 总结与讨论

1. 实验中为何要对培养基、实验材料和所用器皿进行严格灭菌?
2. 请思考幼苗在移栽到大田之前为什么要进行炼苗处理? 炼苗过程中在培养瓶中加入的少量水有什么作用?
3. 小麦成熟的胚从麦粒剥离下来后, 在培养基上可以直接培养产生幼小的植株。那么, 我们为什么要将小麦的胚脱分化培养成愈伤组织, 然后再诱导其愈伤组织分化成小植株呢?

通过小麦种胚的组织培养实验可以总结出: 植物组织培养就是在无菌和人工控制的条件下, 将离体的植物器官、组织、细胞, 培养在人工配制的培养基上, 给予适宜的培养条件, 最终诱导产生愈伤组织、丛芽或完整的植株。

### ● 植物体细胞杂交技术

植物体细胞杂交技术是在原生质体培养技术的基础上发展起来的, 科学家已经先后利用这种技术成功培育出了白菜—甘蓝和胡萝卜—羊角芹等自然界中不能自己产生的种间或属间杂种, 实现了我们人类按照自身需求来设计创造新物种的梦想。那么这些新物种是怎

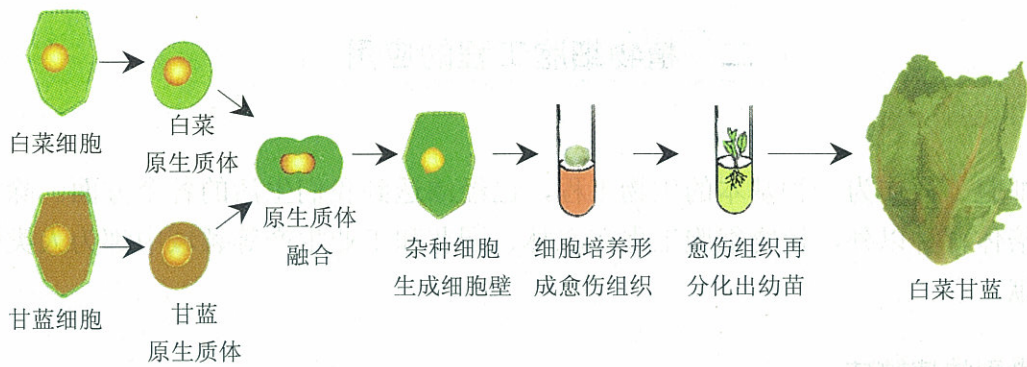


图 3-3 白菜甘蓝的培育过程

么产生的呢？

植物体细胞杂交 (plant somatic hybridization) 就是将不同种的植物体细胞原生质体在一定条件下融合成杂种细胞，并把杂种细胞培育成完整植物体的技术 (图 3-3)。那么，两种不同的原生质体是怎么融合成一个杂种细胞的呢？科学家研究发现，即使细胞膜紧贴的原生质体也不能自动进行融合，所以原生质体间的融合一般要利用人工诱导的方法。人工诱导的方法可以分为物理法和化学法两大类：物理法包括离心、振动、电刺激等；化学法一般采用聚乙二醇 (PEG) 来诱导细胞融合 (图 3-4)。

科学家已经利用植物体细胞杂交技术成功培育出了许多种自然界中并不存在的新物种，那我们是否就可以随心所欲地创造我们需要的任何物种呢？现实告诉我们，人类还不能实现这样的梦想。在 20 世纪 60 年代，科学家曾试图将番茄和马铃薯通过体细胞杂交培育出“超级作物” (图 3-5)。科学家历经周折，终于实现了这两个物种间的体细胞杂交，可惜这株同时具有两个物种遗传物质的超级植物并没有如科学家所想象的那样地上结番茄、地下长马铃薯。因此植物的体细胞杂交技术还有很多未知的神奇领域等待我们去探索和研究。

通过对植物细胞工程两种基本技术的学习，你能总结出什么是植物细胞工程吗？其实，植物细胞工程 (plant cell engineering) 就是利用细胞生物学和分子生物学的原理和方法，以植物细胞为基本单位进行培养增殖或按照人们的意愿来改造细胞的某些生物学特性，从而获得细胞产品的一门综合技术。相信随着植物细胞工程技术的不断开发和完善，我们的生活会更加绚丽多彩。



图 3-4 正在融合的烟草细胞

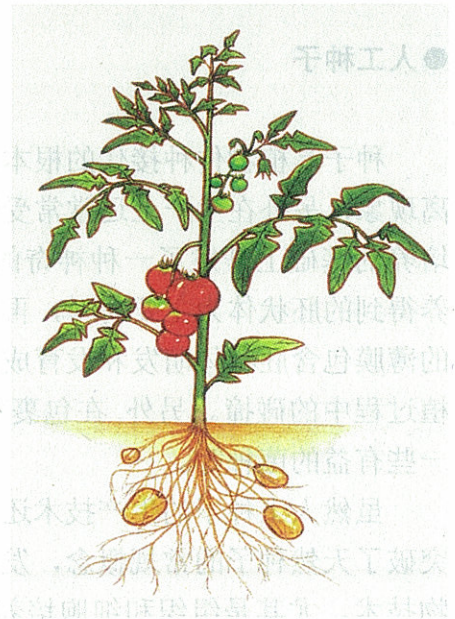


图 3-5 番茄马铃薯 (理想图)

## 二 植物细胞工程的应用

植物细胞工程作为一种基本的生物工程，已经渗透到我们生活的各个方面。除了前面讲到的单倍体育种以外，植物细胞工程在农林、园艺和工业生产等领域中都为人类作出了巨大的贡献。

### ●植物的微型快速繁殖

利用植物的组织或器官，经过组织培养过程，我们可以在短时间内获得大量的植物幼苗，所以人们将这种植物快速繁殖的方法形象地称做植物的微型繁殖技术(图 3-6)。

现在一些优良的观赏植物、经济林木等都已经实现利用工厂化微型繁殖来进行大规模的无性繁殖(图 3-7)。例如，草莓、苹果、柑橘、兰花、杜鹃、月季和桉树等的微型繁殖幼苗都已经实现商品化生产。

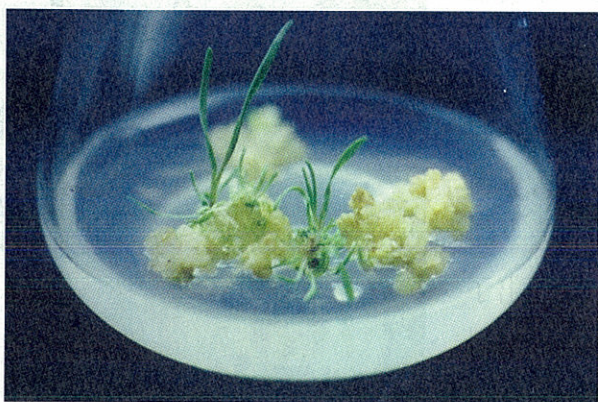


图 3-6 植物的微型繁殖



图 3-7 工厂化微型快速繁殖

### ●人工种子

种子是植物传种接代的根本。天然种子是有性繁殖的产物，往往在后代中发生遗传分离现象，另外在生产上还常常受到季节的限制。科学工作者经过不断探索后，在植物组织培养的基础上开发了一种神奇的人工种子技术。人工种子(图 3-8)是一种以植物组织培养得到的胚状体为主要材料，再在其外面包裹一层有机薄膜制作而成的颗粒体。人工种子的薄膜包含胚状体萌发和发育成幼苗所需的各种养分，还可以缓冲生产、贮存、运输和种植过程中的碰撞。另外，在包裹剂中一般要附加大量的植物生长调节剂、农药、抗生素和一些有益的菌种等。

虽然人工种子的生产技术还有待进一步完善，还未达到大范围应用的阶段，但由于它突破了天然种子的常规概念，发挥了植物快繁技术的优势，所以这项技术必将随着农业生物技术，尤其是组织和细胞培养技术的发展，成为 21 世纪高科技种子业中的主导技术之一，在未来的农业生产中发挥巨大的作用。

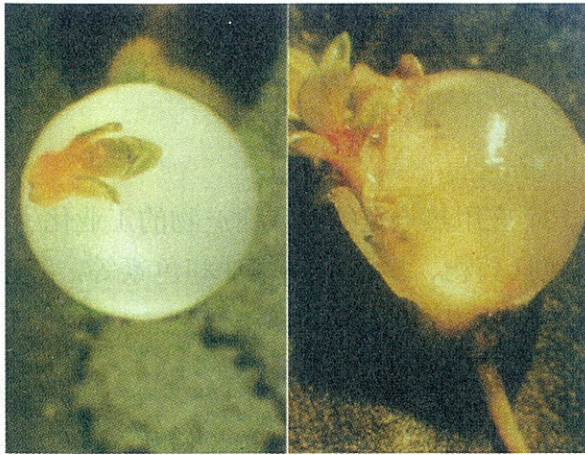


图 3-8 未萌发的(左)和已经萌发的(右)人工种子



### 小资料

胚状体是植物组织培养过程中在愈伤组织上产生的、与正常受精卵发育成的胚相类似的一种结构。

## ●作物脱毒

一些无性繁殖的作物, 非常容易感染病毒, 而且病毒会逐年积累, 造成农作物的产量降低、品质变差。病毒在植株中的分布是不均一的, 成熟的组织和器官中病毒含量高, 幼嫩的组织和器官中病毒含量较低, 生长点几乎不含病毒或病毒很少。如果切取植株的茎尖进行组织培养, 再生的植株就有可能不再携带或很少携带病毒, 从而获得脱病毒种苗(图 3-9)。利用植物快速繁殖技术对脱病毒种苗进行大量繁殖, 在短时间内就可以获得大量脱病毒苗用于农业生产。

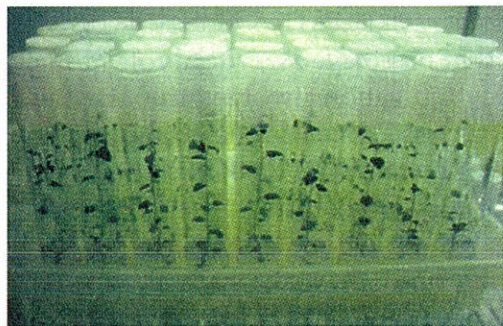


图 3-9 脱毒的马铃薯试管苗

目前已经有多种作物成功利用茎尖组织培养技术进行脱毒处理, 如马铃薯、草莓、甘蔗、菠萝、香蕉等。采用组织培养技术脱毒培育出的幼苗比未经脱毒的植株在产量和品质上都有了显著的提高。

## ●愈伤组织的诱变育种

诱变育种是指利用物理、化学因素诱导植物的遗传特性发生变异, 再从变异群体中选择符合人们某种要求的单株, 进而培育成新品种的育种方法。诱发突变的物理因素主要指一些射线, 如  $\gamma$  射线、X 射线、 $\beta$  射线和中子流等; 化学诱变主要利用一些烷化剂、碱基类似物、抗生素等化学药物。

植物的愈伤组织在培养过程中一直处于分裂增生的状态, 其遗传物质极易受到外界因素的影响而发生变异。因此, 育种学家经常利用植物组织先诱导出愈伤组织, 然后对愈伤组织进行诱变处理, 从再分化得到的植株中筛选、培育出新的品系或品种。另外, 对诱变处理过的植物组织或器官进行组织培养, 还可以克服突变体的嵌合性等缺陷, 极大地提高

了诱变育种的效率。

### ● 细胞产物的工厂化生产

组织培养除了在农业上的应用外，其另一个应用热点是细胞代谢产物的工业化生产。

植物细胞可以生成有用的化合物，主要包括药物、橡胶、香精油和色素等，其中一些化合物还不能大规模地人工合成。如果从植物中直接提取这些化合物不但来源有限，而且生产效率很低。利用植物细胞培养技术则可以快速、高效地得到大量的细胞或细胞产物，例如用细胞培养技术生产人参皂甙干粉的效率大约是栽培人参的 100 倍以上，其药用成分和药理活性与栽培人参相似甚至更加优良(图 3-10)。

因此，利用组织培养方法，培养植物的某些器官或愈伤组织，筛选出高产、高合成能力和生长较快的细胞株系，继而进行大规模工业化生产，是一条行之有效的途径。现在人参、三七、紫草和银杏的细胞产物都已经成功实现了工厂化生产。

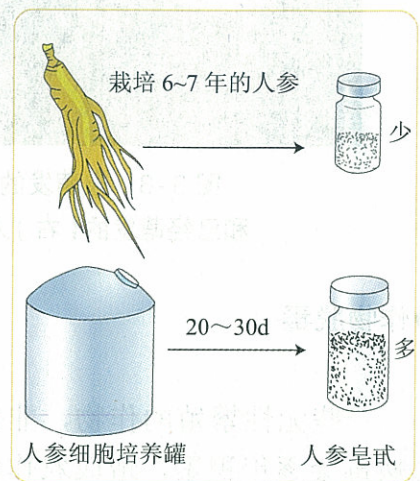


图 3-10 人参皂甙的工业化生产

### ● 拯救濒危植物

由于人类对环境破坏的日益加剧和对植物的不合理利用，如今，许多植物已处于濒临灭绝的境地。仅我国就有濒危植物 4 000~5 000 种，其中 200 种已经基本绝迹。一些具有利用价值的濒危植物处境更加令人担忧。

红豆杉(图 3-11)是我国二级珍稀濒危植物，它的树皮中含有丰富的具有高抗癌活性的紫杉醇。紫杉醇的发现固然极大地造福了人类，但却为濒危的红豆杉带来了一场“灭顶之灾”，我国云南大面积的红豆杉惨遭砍伐。现在科学家正在研究利用植物细胞培养技术来大量培育红豆杉细胞，希望利用这种方法来大量生产紫杉醇，从而拯救红豆杉，拯救我们的自然资源。



图 3-11 红豆杉



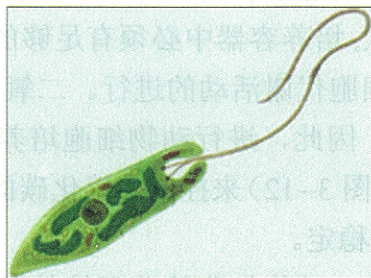
思考

如果你是一名科学家，需要用植物细胞工程的方法来拯救一种濒临灭绝的大树，你将怎样设计试验？



## 自我检测

1. 试分析在组织培养实验中影响材料脱分化和愈伤组织再分化的主要因素有哪些。
2. 眼虫是一种生活在水中的单细胞原生生物(右图)。它能够靠细胞膜吸取水里的有机物,过着动物式的异养生活。但是同时,眼虫的细胞中又含有叶绿体,能够进行光合作用,自己制造营养,因此眼虫具有“动物植物双重性”。请探讨动植物细胞之间是否可以实现杂交,如果理论上可行,请设计出具体实验方案。



## 第 2 节 动物细胞工程

1996年7月里的一天,英国科学家威尔穆特(I. Wilmut)等利用克隆技术培育出一只没有父亲的小绵羊——多莉。这使得世界各国的人们都把目光转向一个神奇的领域——动物细胞工程,“克隆”一词很快就家喻户晓。那么,你知道什么是动物细胞工程吗?克隆羊又是怎样诞生的呢?

### 一 动物细胞工程的主要技术

动物细胞工程(animal cell engineering)其实就是应用细胞学的方法,按照我们人类的需要和预定的设计,有目的、有计划地保存、改变动物细胞和创造新的动物细胞,进而培育成新的物种或者品种的一门科学技术。动物细胞工程包括很多种常用的技术,如动物细胞培养、动物细胞融合、单克隆抗体和动物体细胞克隆等。

#### ● 哺乳动物细胞培养技术

为了利用动物细胞培养生产具有重要医用价值的酶、生长因子和疫苗等,早在20世纪初科学家就开始了动物细胞培养技术的研究。到20世纪60年代初期动物细胞培养的规模逐渐扩大,发展至今已成为生物、医学研究和应用中广泛采用的技术方法,并成为医药生物高技术产业的重要部分。那么,你知道如何进行动物细胞的培养吗?



## 动物细胞培养条件

动物细胞培养与植物组织培养不同。首先,动物细胞都要在液体培养基中进行培养。培养液的营养成分主要包括葡萄糖、氨基酸、无机盐、维生素和动物血清等。动物细胞培养基的适宜 pH 为 7.2~7.4。

其次,培养容器中必须有足够的氧气和一定的二氧化碳以保证细胞代谢活动的进行。二氧化碳具有调节培养液 pH 的作用,因此,进行动物细胞培养时,一般要用二氧化碳培养箱(图 3-12)来控制二氧化碳的浓度,以保证培养环境中 pH 的稳定。

另外,动物细胞培养环境的温度与动物体内的温度要保持一致。哺乳动物细胞培养的环境温度应控制在 36.5℃~37.5℃,而培养鱼类等冷血动物细胞的环境温度则应控制在 28℃左右。

## 动物细胞培养流程

用于培养的动物细胞一般都取自动物的胚胎或幼龄动物的组织或器官。细胞培养时,首先在无菌条件下,从动物体内取出组织块并剪碎,然后加入适量的胰蛋白酶或胶原纤维酶消化以使细胞分散。经过滤、离心后将动物细胞再接种到无菌的培养液中,在适宜的条件下进行静止或慢速转动培养,这个过程称为原代培养。

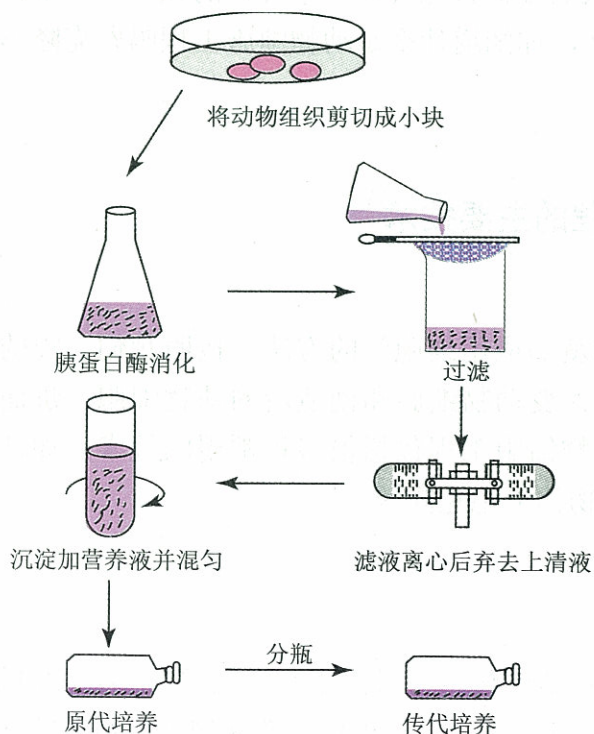


图 3-13 动物细胞培养流程



图 3-12 二氧化碳培养箱 (下)和培养瓶(上)

多数的动物细胞都有一个特点,即贴壁生长。动物细胞在培养液中悬浮生长一段时间后,大部分细胞都会贴附到培养瓶的表面。原来是圆形的细胞一旦贴壁便迅速铺展成多种形态,此后细胞便开始有丝分裂,其数目以指数增长方式迅速增多。当细胞铺满培养瓶的整个表面后,就形成致密的单层细胞层,此时细胞分裂停止,不再继续生长,这种有趣的现象便是动物细胞培养的第二个特点——接触抑制。

出现接触抑制的细胞按一定的比例分散到另外的培养瓶内,并加入新的培养液,细胞就会解除接触抑制、恢复生长,这种分瓶培养称为传代培养(图 3-13)。

培养中正常细胞的寿命是有限的,细胞的分裂次数也是有限的。一般动物细胞生长到 10 代左右时便出现生长停滞,大部分细胞衰老死亡。有极少数的细胞可以渡

过“危机”，继续生长，一般可以传到 40~50 代，这时细胞的遗传信息没有发生改变。当细胞传至 50 代以后又要出现死亡危机，因为已经达到了正常动物细胞的最高寿限，不能再继续传代了。但有些细胞（如肿瘤细胞）的遗传物质发生了改变，它们可以无限制地传代下去，成为“长生不老”的细胞。

## ● 细胞融合与单克隆抗体技术

### 细胞融合

动物细胞工程中经常会用到一种最基本的操作技术——细胞融合。那么，什么是细胞融合技术呢？科学家又是怎样对细胞进行融合的呢？其实，细胞融合就是在一些融合因子的作用下，将两个或两个以上的细胞合并成为一个细胞的技术。细胞融合可以在基因型相同的细胞间进行，也可以在基因型不同的种内细胞间以及亲缘关系非常远的不同种细胞间进行。

动物细胞就像植物的原生质体一样，即使相互紧贴在一起也不会自动发生融合。因此，我们一般也要提供一些特殊的诱导因素，如利用聚乙二醇、电流刺激或病毒等。在这些诱导因素的作用下，细胞膜会发生一定程度的损伤，从而细胞就可以实现相互粘连而融合在一起（图 3-14）。

### 单克隆抗体

生物体内有上亿种 B 淋巴细胞，而每一种 B 淋巴细胞只产生一种特异的抗体。由一个 B 淋巴细胞增殖形成的细胞群所产生的单一型抗体分子就称为单克隆抗体（monoclonal antibody）。

单克隆抗体是解决生物学和医学等许多重大问题的重要手段。用单克隆抗体可以快捷、准确地诊断和治疗一些疾病。例如，儿童连续高烧不退，医生就要诊断其原因这是由于感冒还是脊髓灰质炎。一般诊断这样的疾病需要 4~6d，但 4d 后再确诊为脊髓灰质炎并进行治疗就会有些延误，这时很容易造成儿童肢体的残疾，也就是小儿麻痹后遗症。如果利用脊髓灰质炎的单克隆抗体做诊断试剂，在 10min 内就可以确诊，这样就避免了延误治疗带来的残疾。另外，如果将抗癌药物连接到专门识别某种肿瘤细胞的单克隆抗体上，单克隆抗体就可以像“生物导弹”一样携带抗癌药物准确地聚集到肿瘤细胞，专一地杀死肿瘤细胞。这样就避免了抗癌药物在消灭肿瘤细胞的同时对人体正常细胞的损伤，因此单克隆



### 小资料

带有许多电荷的细胞在高压下相互吸引，相邻的细胞膜紧密接触。此时如果给予紧密接触的两个细胞瞬间的电脉冲，其细胞膜就会被击穿受损而产生小孔。由于膜分子的运动，在小孔处的两层细胞膜就会混合在一起，导致细胞融合。

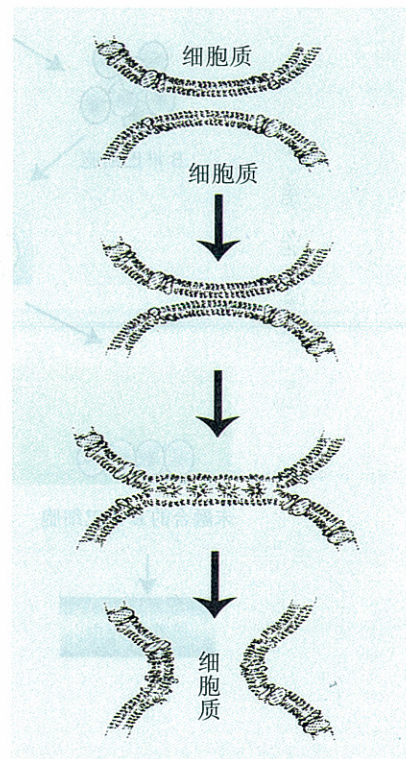


图 3-14 细胞质膜融合示意图

抗体是一种非常重要的细胞产物。那么我们是否可以通过大量地体外培养一种 B 淋巴细胞来获得特异的单克隆抗体呢？遗憾的是，科学家通过研究发现 B 淋巴细胞在体外的培养液中是不能生长增殖的。

为了得到可以临床使用的单克隆抗体，各国的科学家进行了长期的探索工作，1975 年英国科学家米尔斯坦 (C. Milstein) 和德国科学家科勒 (G. Kohler) 在前人的工作基础上巧妙地设计了一种可以大量得到单克隆抗体的技术 (图 3-15)。



### 小资料

骨髓瘤细胞是 B 淋巴细胞突变形成的肿瘤细胞，在可以无限制地增殖同时，失去了分泌抗体的能力，但它仍保留了许多 B 淋巴细胞的特性。

营养缺陷型的骨髓瘤细胞丧失了一些生长必需物质的合成能力。因此在缺少这些必需营养成分的选择培养液中，营养缺陷型的骨髓瘤细胞就会停止生长。

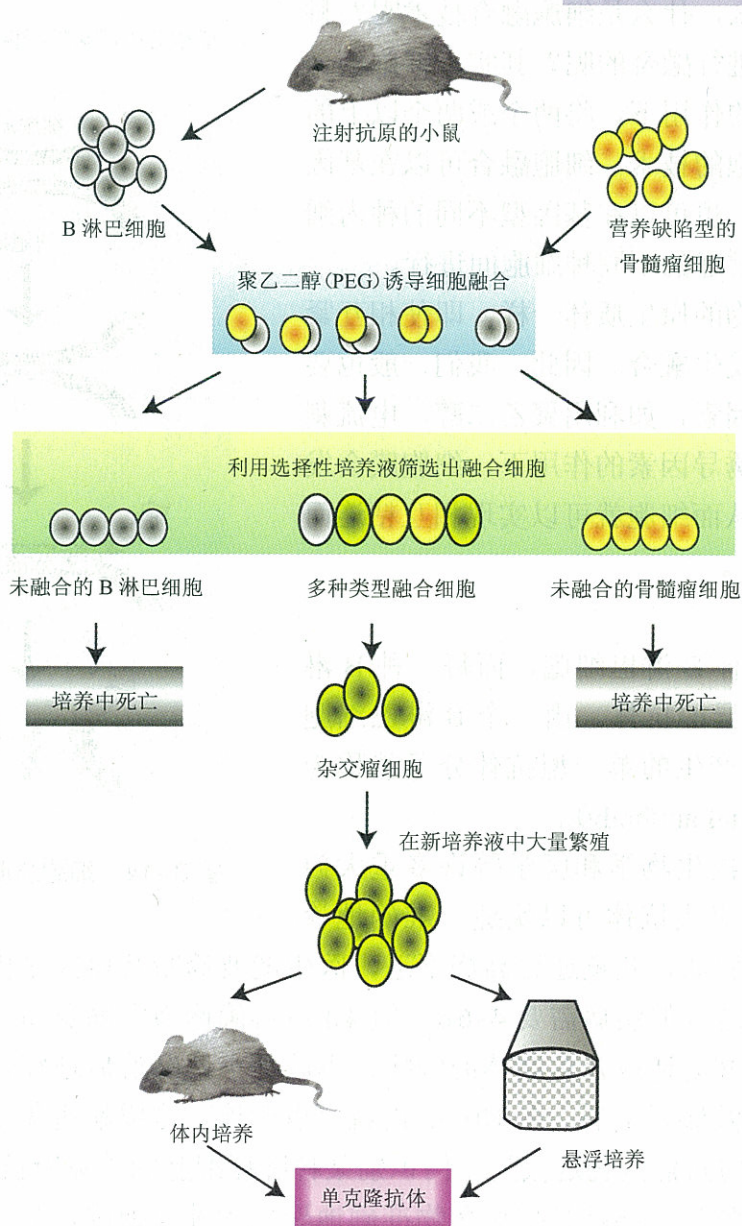
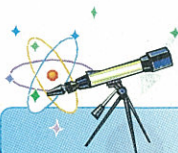


图 3-15 单克隆抗体的制备流程

这两位科学家选用小鼠体内的 B 淋巴细胞和一种营养缺陷型的骨髓瘤细胞作为实验材料,利用聚乙二醇为融合剂,使两种细胞发生融合。然后利用只有杂交瘤细胞才能生长的选择培养液来筛选处理过的细胞群体。骨髓瘤细胞在选择培养液中停止生长, B 淋巴细胞在体外培养也只能存活数天,因此只有杂交瘤细胞才可以大量地生长、繁殖。利用这种方法培育得到的杂交瘤细胞不但可以像肿瘤细胞那样无休止、快速地进行分裂增殖,而且能像 B 淋巴细胞一样分泌大量特异性抗体。通过杂交瘤细胞培养得到的这些特异性抗体就是所谓的单克隆抗体。

## ● 动物体细胞克隆技术



### 科技探索

克隆 (clone) 源自希腊文的“klon”,原意为幼苗或嫩枝,指以无性生殖或营养生殖出的一些植物。“有心栽花花不成,无心插柳柳成荫”诗句中的“插柳”实际上就是一个对柳树“克隆”的过程。随着科学技术的发展,人们已经掌握了许多克隆技术,并且将克隆的概念扩大到整个生物领域。

1938 年德国科学家斯培曼首次提出的克隆设想,成为当今克隆技术的蓝图。1952 年,小小的蝌蚪改写了生物技术的发展史,成为世界上第一种被克隆的动物。美国科学家布里格斯(R. Briggs)和托马斯·金(T. King)实现了对蝌蚪细胞的克隆。1970 年,克隆青蛙实验取得突破,青蛙卵发育成了蝌蚪,但是小蝌蚪在开始进食后死亡。

1978 年英国医生用体外授精的方法成功培育出人类的第一例试管婴儿。1984 年威拉德森(S. Willadsen)用胚胎细胞成功克隆出一只羊,这是第一例得到证实的克隆哺乳动物。1996 年,英国科学家威尔穆特和同事用一只成年母羊乳腺内取出的细胞培育出克隆羊多莉,成为世界上第一例具有真正意义的动物体细胞克隆。这个秘密直到 1997 年 2 月才在英国的《自然》杂志上向世人公布。

由于克隆羊多莉的出生,科学家在全世界掀起了克隆的风暴。1998 年克隆牛、克隆鼠相继出生。2000 年 1 月美国科学家实现了对恒河猴的克隆。2000 年 3 月,曾经参与克隆羊多莉培育工作的英国 PPL 公司成功培育出 5 头克隆猪。2002 年克隆猫、克隆兔也先后出生。2003 年意大利科学家培育出世界上首匹克隆马。

在动物克隆技术研究的同时,社会各界人士对克隆人技术的研究进行了激烈的讨论,但针对治疗疾病的人类胚胎克隆技术还是在人们的争论中悄然进行。2001 年 11 月,美国的一个细胞学实验室将人类的体细胞核转移到去核的人类卵子中,并成功地将融合细胞培育成 6 个细胞的胚胎。相信在不久的将来,克隆技术将会对我们的社会产生更加广泛的影响。



克隆羊之父——威尔穆特

1996年7月克隆羊多莉的出生轰动了全球，在全世界掀起了克隆技术的热潮。那么克隆羊多莉是怎样被培育出来的呢？

科学家对克隆羊多莉的培育过程主要是利用细胞核移植技术，将饥饿处理过的羊乳腺上皮细胞与去核卵细胞电脉冲融合后，实现体细胞的核转移到无核的卵细胞中。然后，融合细胞借助于卵的发育能力，由体细胞核主导而发育形成新的个体(图3-16)。

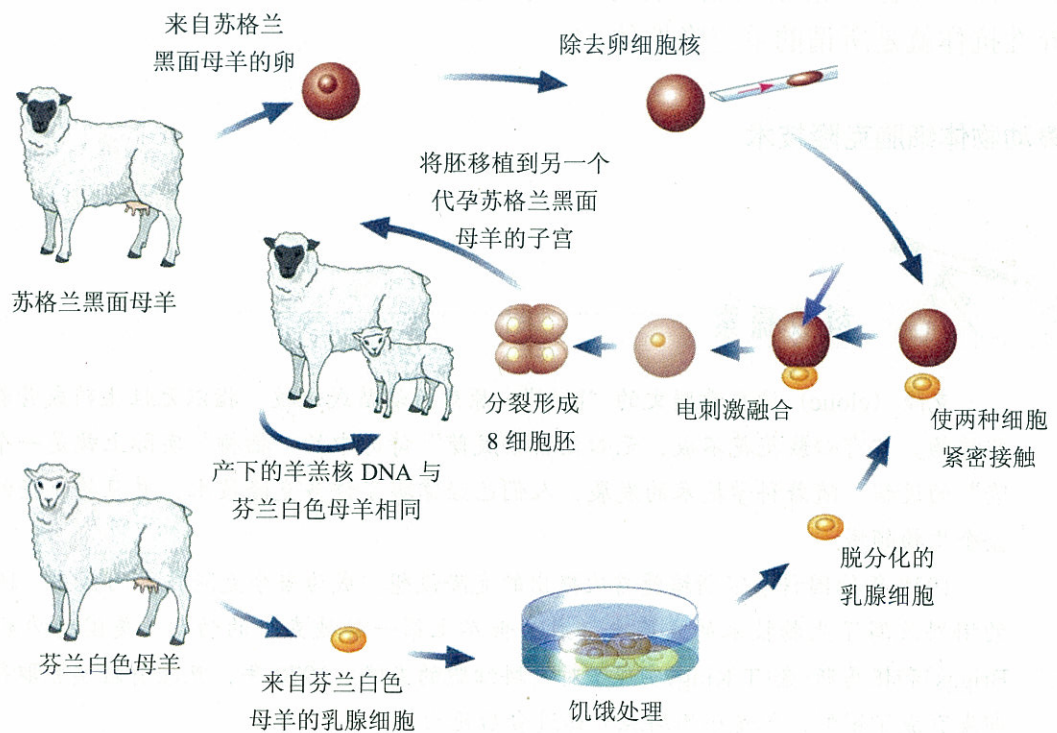


图3-16 克隆羊多莉的培育过程

由于为多莉提供体细胞核的芬兰母羊在当时已经6岁，很多科学家就猜想多莉是否存在早衰的现象。在多莉生长到3岁的时候，科学家对它的细胞进行了观察。检测结果表明其染色体端粒的长度比正常长度要短20%，而端粒缩短正是衰老的标志。根据端粒的状态推断，多莉3岁时的衰老程度大约相当于正常羊发育到9岁时一样。2001年多莉(图3-17)被发现患有老年绵羊常见的关节炎疾病。2003年2月多莉因为肺部感染而被处死，它的寿命不到7岁，而普通的羊平均寿命在12岁左右。



图3-17 成年的多莉

在其后几年中出现的许多克隆动物在出生后的24小时内，常常会因为心脏、肺或肾脏等的异常而夭折。克隆羊多莉和其他一些克隆动物在培养和生长历程中出现的一系列异常表明，动物体细胞克隆技术仍然存在着一些不足和缺陷，我们对克隆技术的探索仍然是任重道远。

## 二 动物细胞工程的应用

由于克隆羊多莉的出生，许多科学家对动物细胞工程技术产生了浓厚的兴趣，纷纷加入到动物体细胞克隆技术的研究行列。在其后短短的5年时间里，克隆鼠(图3-18)、克隆牛、克隆猪、克隆猫、克隆兔、克隆猴(图3-19)、克隆马(图3-20)如雨后春笋般地相继问世。对于濒危的大熊猫、绝种的印度猎豹，甚至只存在于考古记录中的动物猛犸象等，科学家也都在尝试进行克隆。随着动物细胞工程技术的日臻完善，它已经越来越广泛地应用于我们生活的方方面面。



图3-18 克隆鼠



图3-19 克隆的恒河猴

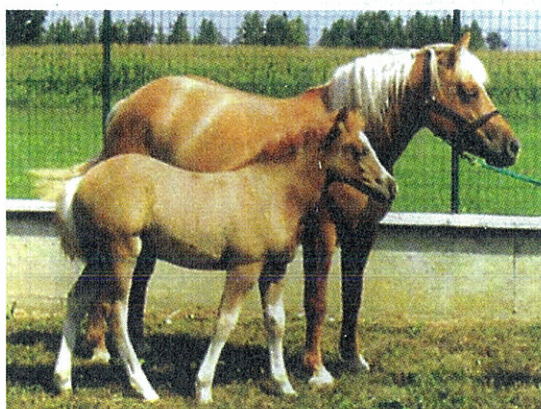


图3-20 克隆马及其母亲

### 快速繁殖优良品种

在传统的畜牧业生产中，优良动物品种的繁殖一般都要通过有性繁殖来实现。有性繁殖过程中动物的优良基因容易发生分离和变异，而且优良种畜的繁殖速度受到极大的限制。无性繁殖的克隆技术则可以完整地保持种畜的优良性状。另外通过对动物的优良品种进行体细胞克隆，可以在短时间内得到大量的具有相同优良遗传基因的克隆动物，这样优良种畜的数量就可以迅速得到扩大。克隆技术还有一个特殊的优点——克隆动物的性别可以得到控制，所以利用克隆技术可以定向地大量培育我们需要的奶牛母犊，避免了在生产中繁殖一些经济价值不高的公畜。

随着克隆技术日益完善，克隆动物的受孕率增高，流产率和死亡率降低，因此克隆技术实现产业化的前景变得十分广阔。我国的科学家已经成功利用优质奶牛的体细胞克隆出成批的小奶牛。2003年意大利科学家成功培育克隆马(图3-20)的目的就是为了帮助那些幼年即遭阉割的优质雄性赛马繁育后代。可以预料，克隆技术的应用必将极大地促进世界各地畜牧业的发展。

### 克隆转基因动物

在克隆羊多莉培育成功之后，英国科学家又成功培育出另一只克隆羊。这只克隆羊和多莉不同的是，它带有人类的基因。在进行移植细胞核之前，科学家把人的生长激素基因整合到了细胞核的染色体上。这只克隆羊的出生表明在克隆的同时也可以进行转基因操作，从而获得转基因的克隆动物。

哮喘病和肺气肿是由于气管和肺细胞中胰蛋白酶的作用引起的，如果能够抑制胰蛋白酶活性，哮喘病和肺气肿就能得到治疗。2001年初，我国科学家将能够抑制胰蛋白酶的抑制剂基因转移到山羊的细胞核中，然后通过动物体细胞克隆技术获得了携带有胰蛋白酶抑制剂基因的克隆山羊(图3-21)。它们发育成熟后，在其生产的羊奶中含有胰蛋白酶的抑制剂，患者喝了这种羊奶就可以治疗哮喘病和肺气肿。



图3-21 转基因克隆山羊

### 拯救濒临灭绝的动物

动物克隆是抢救和保护珍稀动物和濒危动物的有力措施。大家知道，我们自然界中



图3-22 印度野牛

最后一头印度野牛(图3-22)在1993年就已经死亡。2002年初美国与印度科学家联合将被冷冻保留下的印度野牛表皮细胞的细胞核移植到普通奶牛的无核卵细胞中，并在奶牛的子宫内使融合细胞进行生长发育，成功克隆出了一头印度野牛。这头印度野牛的克隆成功说明，利用克隆技术，我们可以使已经灭绝的动物再重新复活。

中国是动物遗传资源大国，拥有22个物种的432个家畜品种，还有包括大熊猫、金丝猴、东北虎、大鲵(娃娃鱼)、扬子鳄等在内的一大批珍稀野生动物资源。我们国家的大熊猫近年来由于数目锐减，已经成为一种濒危动物。1999年中国科学家们利用大熊猫的体细胞与兔的卵母细胞融合，得到了发育的胚胎。

1999年中国科学家们利用大熊猫的体细胞与兔的卵母细胞融合，得到了发育的胚胎。

### 培育人造器官

人的某个器官出了问题，如果不能尽快地进行器官移植，就可能危及生命，但需要移植的器官从哪里来？一般这些器官需要由健康人贡献，或者从刚刚死亡的人体获得。但这样的器官来源非常有限。即使具备了这些器官，移植后还会遭到病人自身的免疫排斥。因此人类器官的移植非常难以实施。如果我们利用体细胞克隆技术对病人自身的细胞进行培养得到胚胎干细胞，然后对这些胚胎干细胞进行培养可以再造出人的各种组织，这些再造的组织就可以用来“修复”和“再造”病人受伤的器官。因为细胞的来源是病人本身，所以再造的器官或组织移植后不会产生任何排异反应，这样就可以彻底解决器官移植的难题。

现在利用细胞培养技术制作人造皮肤、人造耳朵已经成功。人造耳朵的制作非常巧妙，科学家利用一种在人体内可被吸收的高分子材料制作成一个耳朵形状的架子，然后将人的皮肤细胞放在这个架子上进行培养，细胞就会沿着架子的表面生长，把这个架子覆盖起来，长成一只耳朵的样子。然后再把它移植到一只裸鼠身上进行培育(图 3-23)，等到耳朵生长完整后就可以直接移植给病人。



图 3-23 长有人造耳朵的裸鼠



### 热点讨论

随着克隆羊多莉的诞生，社会各界人士对人体克隆技术进行了激烈的讨论。根据你对克隆技术的理解，讨论我们应该禁止还是支持人体克隆技术的研究？



### 自我检测

1. 试分析动物细胞培养与植物组织培养技术有什么异同？
2. 根据科学家克隆其他动物的成功经验，请你设计一个试验方案对濒临灭绝的东北虎进行克隆。



### 课外实践

1. 搜集动物体细胞克隆的实例，撰写一篇有关克隆动物应用前景的小论文。
2. 通过查阅资料，了解单克隆抗体技术在科学研究和医学领域的应用。





## 中国“克隆之父”——童第周

早在20世纪60年代初,生物学家童第周带领他的团队就开始研究金鱼、鲤鱼、鲫鱼等不同物种的鱼之间的细胞核移植技术。1973年,童第周及其带领的科研团队利用细胞核移植技术,成功地获得了第一批人工新鱼种——鲤鲫移核鱼。他们将鲤鱼的囊胚细胞核移植到鲫鱼去核的未受精卵中,发现重组细胞发育成的个体的一些性状介于两种鱼之间。由童第周主持用英文撰写的论文发表在1980年第4期的《中国科学》(*Scientia Sinica*)上,论文报道了中国成功获得具有“发育全能性”克隆鱼的消息。这是世界上报道的第一例发育成熟的异种间的胚胎细胞克隆动物。童第周因这项卓越的贡献而成为克隆动物研究的先驱,被誉为中国“克隆之父”。



图 3-24 童第周和夫人在进行实验研究

## 本章小结

本章内容主要介绍了细胞工程领域中的植物细胞工程和动物细胞工程。

植物细胞工程主要包括植物组织培养、植物体细胞杂交、植物细胞核移植等技术。其中植物组织培养常用的技术有植物细胞培养、离体胚培养和原生质体培养、花粉及花药培养等。原生质体培养是植物体细胞杂交技术的基础，利用植物体细胞杂交技术，我们可以根据需要创造出自然界中不存在的一些物种。植物细胞工程在花卉、林木、农作物的繁殖和细胞产物的工业化生产上已经得到了广泛的应用；我们利用植物组织培养技术还可以挽救濒临灭绝的珍稀植物。

动物细胞工程主要涉及动物细胞培养技术、细胞融合和单克隆抗体技术、动物体细胞克隆技术。其中动物细胞培养和细胞融合技术是其他动物细胞工程技术的基础。克隆羊多莉的培养成功使动物体细胞克隆技术成为动物细胞工程领域的热点，其他一些克隆动物相继出现，同时引发了人们对人体克隆技术的激烈讨论。动物细胞工程在我们社会的各个领域有着广泛的应用前景。单克隆抗体技术是诊断和治疗一些疾病的利器，利用动物体细胞克隆技术可以拯救濒危动物、快速繁殖优良动物品种、克隆一些特殊的转基因动物，动物细胞培养技术则可以再造人体的一些组织和器官。

# 第 4 章 基因工程

## 主要内容

### 1. 基因工程的基本原理和技术

- 基因工程研究的理论基础
- 基因工程操作技术的突破

### 2. 基因工程的操作程序

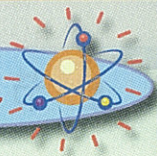
- 目的基因的获得
- 基因表达载体的构建
- 实验 大肠杆菌质粒 DNA 的提取
- 目的基因的导入
- 实验 利用花粉管通道法将目的基因导入棉花
- 目的基因的检测与表达产物的测定

### 3. 基因工程的应用及产业化前景

- 植物基因工程成果
- 动物基因工程成果
- 基因治疗
- 基因芯片

### 4. 蛋白质工程的崛起

- 蛋白质工程的诞生
- 蛋白质工程的研究与应用



DNA 双螺旋结构模型建立后的 20 年时间，是分子生物学发展极为迅速的一个阶段。20 世纪 70 年代初，限制性核酸内切酶和基因载体的发现，为基因工程的诞生奠定了基础。1972 年美国科学家伯格 (P. Berg) 等首先进行了一项具有重大历史意义的实验，他们将动物病毒的 DNA 与噬菌体的 DNA 连接在一起，构成了第一批重组体 DNA 分子。1973 年，美国斯坦福大学的科恩 (S. N. Cohen) 和加州大学的鲍维尔 (H. W. Boyer) 又发表了一项震惊全球的研究成果。他们在试管里实现了对来自不同细菌的 DNA 分子的剪切和拼接，并且证明了这个新的重组 DNA 分子可以在细菌中发挥其预期的功能。这标志着基因工程 (DNA 重组技术) 的建立。预示着从此人类可以按照自己的意愿，通过对 DNA 分子进行精确的操作来改变生物的特征。

30 多年来，基因工程在理论和实际应用方面都取得了惊人的成绩，它不仅使整个生命科学领域发生了前所未有的深刻变化，而且已向基因工程产业化发展。基因工程产业将成为 21 世纪影响全世界经济命脉的主导产业，将为解决世界面临的能源、粮食、人口、资源以及污染等严重问题开辟新的途径。随着基因技术的发展，人类的社会生活会发生重大变化，同时人们的思想观念、伦理道德将面临新的挑战。

种子中脂肪酸含量高的转基因向日葵

# 第 1 节 基因工程的基本原理和技术

糖尿病是一种常见的内分泌疾病，患病原因是胰腺中胰岛细胞分泌的胰岛素 (insulin) 不足。为了治疗糖尿病，一些病人需要经常注射胰岛素。

20 世纪 20 年代，人们开始利用动物胰腺提取胰岛素。那时，人们要获得 100g 结晶胰岛素，大约需要 4 000 头牛的胰腺，成本太高，产量又低，不能满足当时世界上近 6 000 万糖尿病患者对胰岛素的需求。

1978 年，科学家们通过基因工程技术，利用大肠杆菌 (*E.coli*) 生产出了人的胰岛素，在 2 000 L 大肠杆菌培养液中就可以提取出 100g 胰岛素。1982 年通过这种方法获得的胰岛素投入市场，售价大大降低，给糖尿病患者带来了福音 (图 4-1)。那么，大肠杆菌为什么能够生产出胰岛素，什么是基因工程呢？

基因工程 (gene engineering) 也叫 DNA 重组技术 (DNA recombinant technique)，它是在分子水平上进行的一种外科手术式的遗传操作，采取类似于工程建设的方式 (图 4-2)，按照预先设计的蓝图，借助于实验室的技术，将某种生物体的基因或基因组提取出来，在生物体外进行加工改造或重新组合，再转移到另一种生物中去，从而定向地改变生物的遗传特性，创造出新型的生物。由此可见，基因工程的新技术，可以绕过远缘杂交的困难，利用无性的操作技术，使基因在微生物、植物、动物之间进行交流，以便迅速而定向地获得人类所需要的新的生命类型。



图 4-1 基因工程生产的胰岛素及注射设备

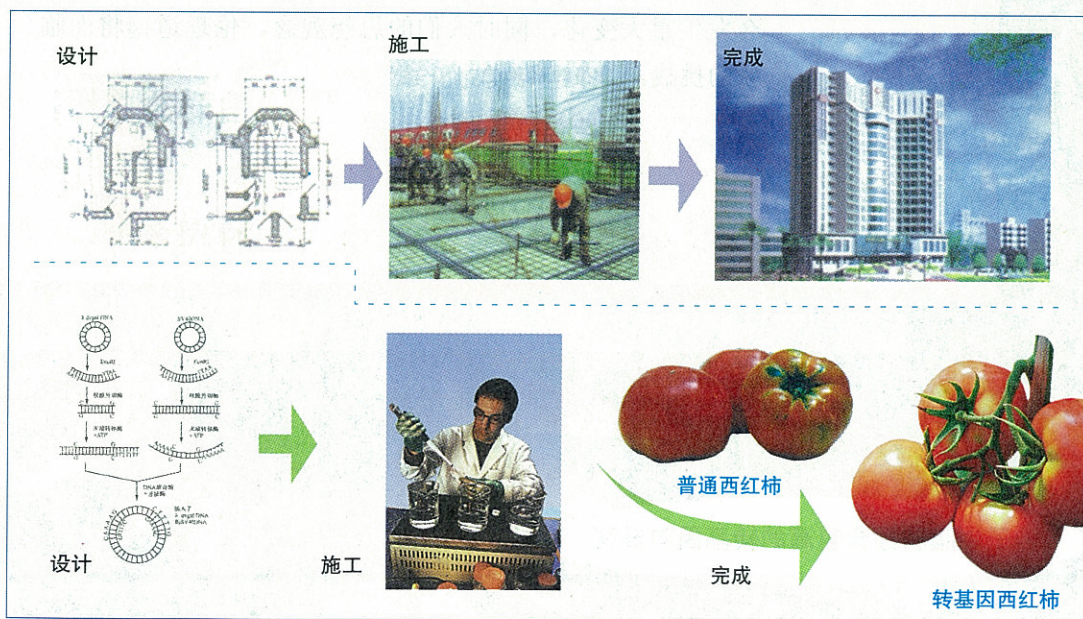


图 4-2 基因工程与建筑施工的比较

## 一 基因工程研究的理论基础

在 20 世纪中期, 分子生物学的研究取得了前所未有的进步, 概括地说, 主要有三大科学成就, 为基因工程的诞生奠定了理论基础。

在 20 世纪 40 年代证实了 DNA 是主要的遗传物质, 它是遗传信息的携带者; DNA 是生物大分子(图 4-3), 基因是 DNA 分子上具有遗传功能的 DNA 片段。这就使人们有可能采用分子生物学的方法提取出 DNA 分子, 在生物体外进行遗传操作, 通过改组 DNA, 实现对遗传性状的定向改造。

在 20 世纪 50 年代确立了 DNA 的双螺旋构型, 遵循碱基互补原则, DNA 进行半保留复制, 从而解决了基因的自我复制和世代交替问题。这就使人们有可能将异源 DNA 片段连接在一起形成重组分子, 并在生物体外或体内进行基因扩增, 奠定重组基因表达的基础。

在 20 世纪 60 年代, 相继提出了“中心法则”和操纵子学说, 成功地破译了遗传密码, 阐明了遗传信息的流动与表达机制。特别是遗传密码表的揭示, 是分子生物学的重大突破。遗传密码的通用性是实现不同生物间基因转移和表达的前提。



思考

1. 基因工程技术有什么特点?
2. 为什么基因工程能在 20 世纪 70 年代诞生?

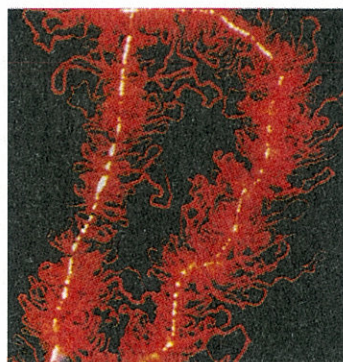


图 4-3 染色体中 DNA 分子电镜照片

## 二 基因工程操作技术的突破

基因工程操作有了理论基础, 还必须解决操作技术问题。由于分子生物学技术的不断进步, DNA 分子体外切割与连接技术及基因运载体的发现直接促进了重组 DNA 技术的产生与发展。

下面分别介绍在基因工程“施工”过程中所涉及的关键技术的重大突破。

### ●DNA 分子的切割技术

DNA 分子的直径只有 2.0 nm(粗细相当于头发丝的十万分之一), 其长度也极其短小, 而且一个 DNA 分子中有许多基因。怎样将所需要的个别基因从 DNA 分子上辨别出来并把它切割下来呢?



## 科技探索

1952年,美国分子遗传学家卢里亚(S. E. Luria)首先发现大肠杆菌能将某些噬菌体侵入的外来DNA分子切割成大小不同的片段,以保护自身不受危害,而且自身的DNA不会受到影响。这种现象说明在细菌体内有一种特异性识别外源DNA并将其破坏的物质。经过长期不懈的研究,1962年瑞士学者阿尔伯(W. Arber)观察到大肠杆菌里有某种酶能限制某些噬菌体DNA对生物体的侵染,因而他推测有一种能切断DNA序列的酶存在。1972年美国学者史密斯(H. O. Smith)和内森(D. Nathans)从细胞中确实分离并提纯出了限制性核酸内切酶(简称限制性内切酶或限制酶),同时发现它能在特定的部位将DNA裂解,从而使基因分离,为重组DNA创造条件。由于这三位学者的卓越贡献,1978年他们获得了诺贝尔生理学/医学奖。



内森



阿尔伯



史密斯

限制性内切酶(restriction enzyme)是基因工程“施工”的一把锋利的“分子手术刀”,它有两个特别高明的本领。一个本领是它好像长了眼睛一样,会识别DNA上某种核苷酸的序列和位置;第二个本领是能在这个位置上将DNA分子一刀两断。例如,限制性内切酶EcoR I只能识别GAATTC序列的位点,并且在G和A之间将这段序列切开(图4-4)。被限制酶切开的DNA两条单链的切口,带有几个伸出的核苷酸,它们之间正好是互补配对的,这样的切口叫做黏性末端。

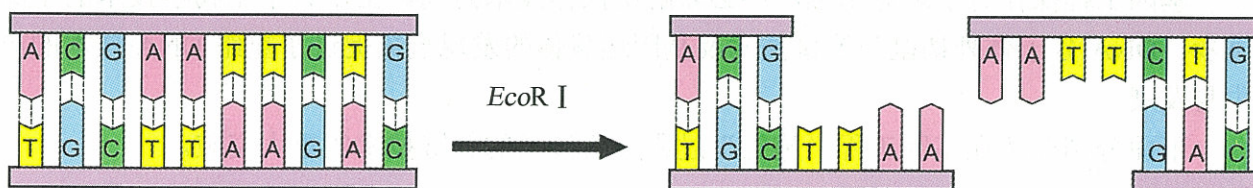


图4-4 EcoR I 限制性内切酶的切割位置示意图

在一个DNA分子的长链中,出现这样6对核苷酸的特殊排列的机会很小,大约每隔几千对核苷酸才出现一次。因此用这种酶切下来的DNA片段,大约含有几千对核苷酸,它比一般基因所含的1000~2000对核苷酸的长度略长一些。所以,用限制性内切酶可以完整地切下一个或几个基因,正好符合基因工程的要求。

限制性内切酶主要存在于微生物中。自 20 世纪 70 年代以来，人们已经分离出了几千种限制性内切酶。它们能识别不同位点的核苷酸序列，并且以不同方式在两个特殊碱基之间切断 DNA 双链。由于有了形形色色的“分子手术刀”，人们就可以对 DNA 分子长链进行切割了。所以有人称限制性内切酶是基因工程的第一大“法宝”。

### ●DNA 分子的连接技术



#### 思考与讨论

衣服破了，我们会找块布，用针把它缝到衣服上去。同样道理，我们也应该找到一种“缝纫针”把“手术刀”切下的 DNA 片段缝到别的 DNA 分子上去。怎样将它们缝合在一起呢？

如果用同一种限制酶分别把两种不同来源的 DNA 切成片段，然后再把它们混合起来，它们就会通过黏性末端互相识别，自动靠拢，进行碱基配对。不过末端与末端之间还留有“空隙”，有待缝合。连接酶(ligase)就是专门“缝合”这种空隙的“分子缝纫针”。它能在两个 DNA 片段的末端之间“架起桥梁”，把它们连接起来(图 4-5)。因此，只要在同一种限制酶切割的两种 DNA 片段中加上这种 DNA 连接酶，它就会把片段缝合得天衣无缝。基因工程“施工”的另一项“缝合”新技术就大功告成了。

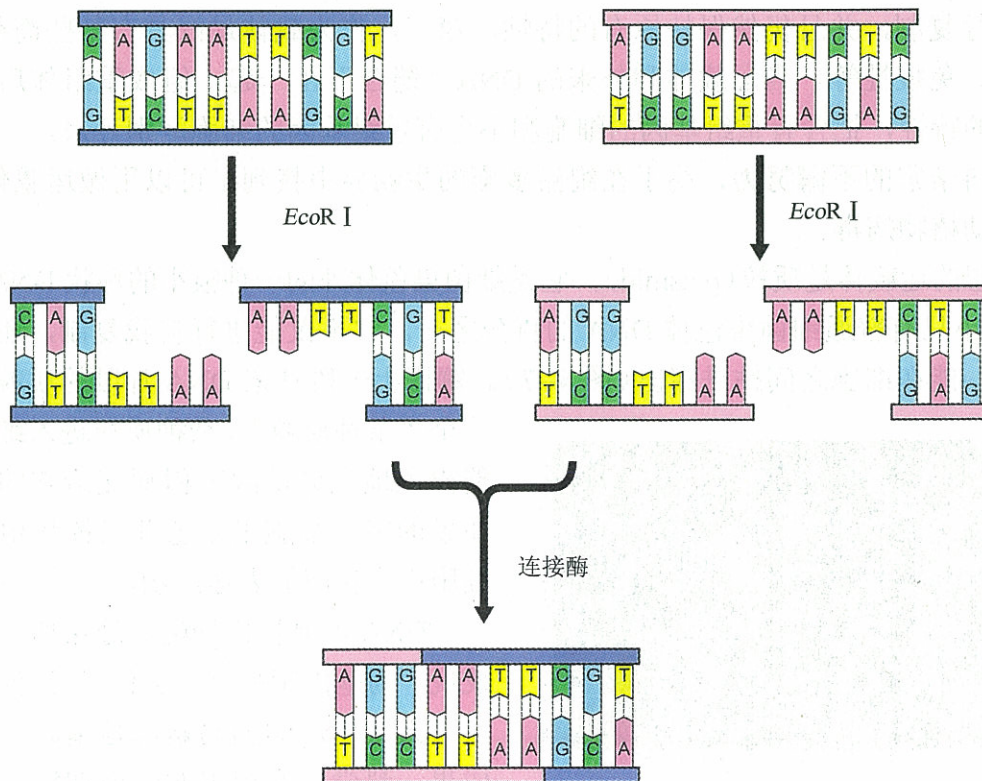
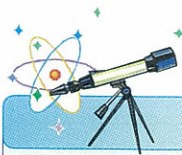


图 4-5 连接酶将两个 DNA 片段末端“缝合”在一起



## ●DNA 分子的运载工具

遗传工程师利用“分子手术刀”把所需要的基因从 DNA 上切下来以后，要通过一种运载工具将它引进某种细胞内（也叫受体细胞）。在这里什么是“运载工具”？它应该具备哪些特点？



### 科技探索

1952 年由莱德伯格(J. Lederberg)最先在细菌中发现一种染色体以外的小型环状 DNA 分子，于是将它命名为质粒。这种 F 质粒决定细菌的性别，控制细菌的接合生殖。1953 年法国学者佛瑞德里克(P. Fredericq)从大肠杆菌中又发现产生大肠杆菌素的质粒。1967 年在日本痢疾流行时从患者肠道细菌中分离到一种 R 质

粒，它是一种抗药性质粒。细菌的抗药性具有“传染性”，也就是说，一种细菌的抗药性可以传递给另外一种细菌，产生这种现象的原因就是因为 R 质粒在细菌间的传递。由此说明，质粒可以进出细胞。“坏事变好事”，质粒的发现为基因工程提供了运载工具。

寻找基因的运载体(vector)是一件很不容易的事情。因为运载体必须具备一定的条件：第一，运载体必须是一种能够自我复制的较小的 DNA 分子，像一艘微型的运输艇，能够比较自由地进出细胞，所以有人称其为“分子运输车”。第二，能使带进去的 DNA 在细胞里面进行复制，并且仍然保持原有的特性。第三，作为载体最好具有某些简单的特性，如抗药性、免疫性等。当运载体和外来的 DNA“缝合”在一起，组成重组体后，就可以根据载体的特性，把含有重组基因的细胞和不含有重组基因的细胞区别开来。

经过科学家的不懈努力，终于在绚丽多彩的生物界中找到了可以用做运载体的质粒、噬菌体和动植物病毒。

最理想的运载体是质粒(plasmid)，它是细菌染色体外的一种很小的环状 DNA 分子(图 4-6)，大小只有普通细菌染色体 DNA 的百分之一。它不仅能进行自我复制，还带有某种抗性基因，能在细胞之间钻进穿出(图 4-7)。



图 4-6 电镜下的质粒环状 DNA 分子

镶嵌上一段外来 DNA 片段的质粒，就成为一个“杂种质粒”。杂种质粒进入细胞后，便能出色地完成基因工程师交给它的使命——在新的宿主细胞里繁殖并发挥作用，使受体细胞产生相应的表达产物。

DNA 限制性内切酶、连接酶、运载体的发现，为基因工程操作提供了可能。

人工生产的胰岛素就是基因工程的研究成果。科学家利用限制性内切酶从人的染色

体 DNA 上切割下胰岛素基因，由连接酶连接到大肠杆菌的质粒上，以质粒为运载体，导入大肠杆菌，利用大肠杆菌生产出大量的胰岛素，给糖尿病患者带来了福音(图 4-8)。

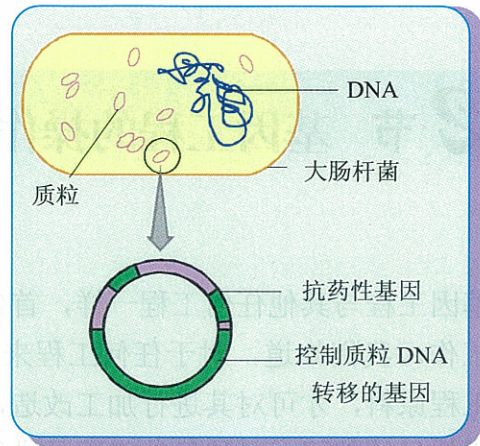


图 4-7 带有抗性基因的大肠杆菌质粒示意图

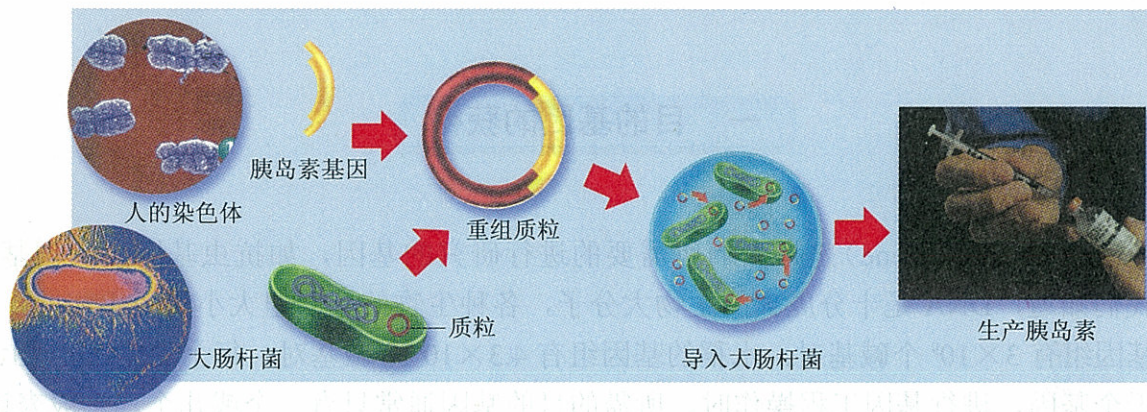


图 4-8 利用大肠杆菌生产出大量的胰岛素示意图



### 自我检测

1. 什么是基因工程？基因工程具有哪些特点？
2. 在基因工程中，“分子手术刀”、“分子缝纫针”、“分子运输车”指的各是什么？
3. 在基因工程中，作为基因载体应具备哪些条件？

## 第 2 节 基因工程的操作程序

基因工程与其他任何工程一样，首先设计好一张蓝图，然后按照预期的目的进行创造性的工作。我们知道，对于任何工程来讲，施工时最重要的一道工序就是获取工程原料。有了工程原料，才可对其进行加工改造，使之成为有价值的东西。基因工程的原料就是人们常说的目的基因，寻找目的基因是进行基因工程操作的第一步，目的基因是如何得到的呢？它是如何被转移到生物体中，人们又是怎样检测目的基因的表达产物呢？

### 一 目的基因的获得

目的基因(target gene)是指人们所需要的进行研究的基因，如抗虫基因、抗病基因等。我们知道，DNA 是十分庞大的生物大分子，各种生物的基因组大小又各不相同，如人的基因组有  $3 \times 10^9$  个碱基对，水稻的基因组有  $4.3 \times 10^6$  个碱基对。每个 DNA 分子上含有若干个基因，进行基因工程操作时，所需的基因通常只有一个或几个，一般来讲，一个基因有几百个碱基对至几千个碱基对。我们不可能直接对一种生物体的整个基因组进行重组，因此，基因工程遇到的第一个难题就是要分离出我们所需要的目的基因。

经过科学工作者艰苦细致的探索研究，现在已经掌握了分离目的基因的一些有效方法。目前获取目的基因的方法主要有两种：化学合成法和从基因组中直接分离法。

#### ● 化学合成法



#### 科技探索

1955 年剑桥大学的托德(Todd)，合成了寡聚胸腺嘧啶，开创了化学方法合成核苷酸的先河；在破译遗传密码时，尼伦伯格与霍拉纳博士利用化学方法，又合成了脱氧核苷的单一聚合物或二种、三种脱氧核苷的重复序列寡核苷酸。1981 年，中国科学院上海生物化学研究所合成了世界上第一个有生物活性的核酸分子——酵母丙氨酸转运 RNA，为中国人在生化史上留下了辉煌的一页。

化学合成法(chemical synthesis method)是指利用化学反应直接合成基因。利用化学方法合成完整的基因始于 20 世纪 70 年代,之后,随着 DNA 自动合成仪(图 4-9)的问世,化学方法合成 DNA 的技术得到迅速发展。到目前为止,已经成功地合成了人的生长激素释放抑制因子、胰岛素、干扰素、表皮生长因子、白细胞介素 II 等数十种基因。但由于成本昂贵,该方法主要适用于已知核苷酸序列的、相对分子质量较小的目的基因的制备。目前,随着分子生物学技术的发展,从基因组中直接分离基因已成为获得目的基因的主要手段。

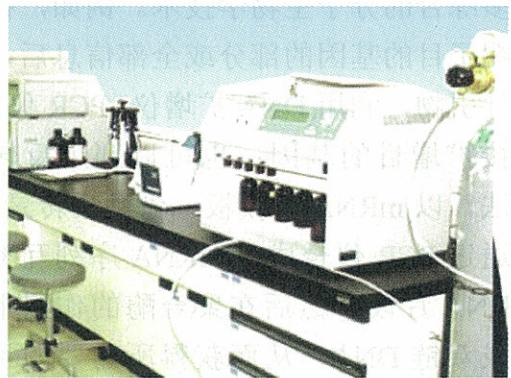


图 4-9 DNA 自动合成仪

### ● 从基因组中直接分离法

从基因组中直接分离基因,以前经常采用的是“鸟枪法”(图 4-10)。利用“鸟枪法”分离基因的主要步骤是:首先提取基因组的 DNA,然后进行“散弹射击”,即用限制性内切酶或其他机械方法将完整的双链 DNA 分子随机切割成适当长度的片段,这样,某一 DNA 片段上可能刚好有所需要的目的基因;然后把这些片段连接到合适的运载体上,通过运载体分别转入不同的受体细胞中,使外源 DNA 随着运载体的复制而复制,从而进行目的基因的增殖,使目的基因的信号放大。再采取合适的方法,对含有外源 DNA 片段的受体细胞进行检测,找出目的基因所在的运载体。“鸟枪法”在基因工程领域应用相当普遍,利用这一方法已获得了很多有用的基因,如抗虫基因、抗病基因等。

分子生物学技术的发展日新月异,分离目的基因的方法也在不断改进。由于真核生物基因组较大,分离目的基因时,往往要根据已获得的信息,采用很

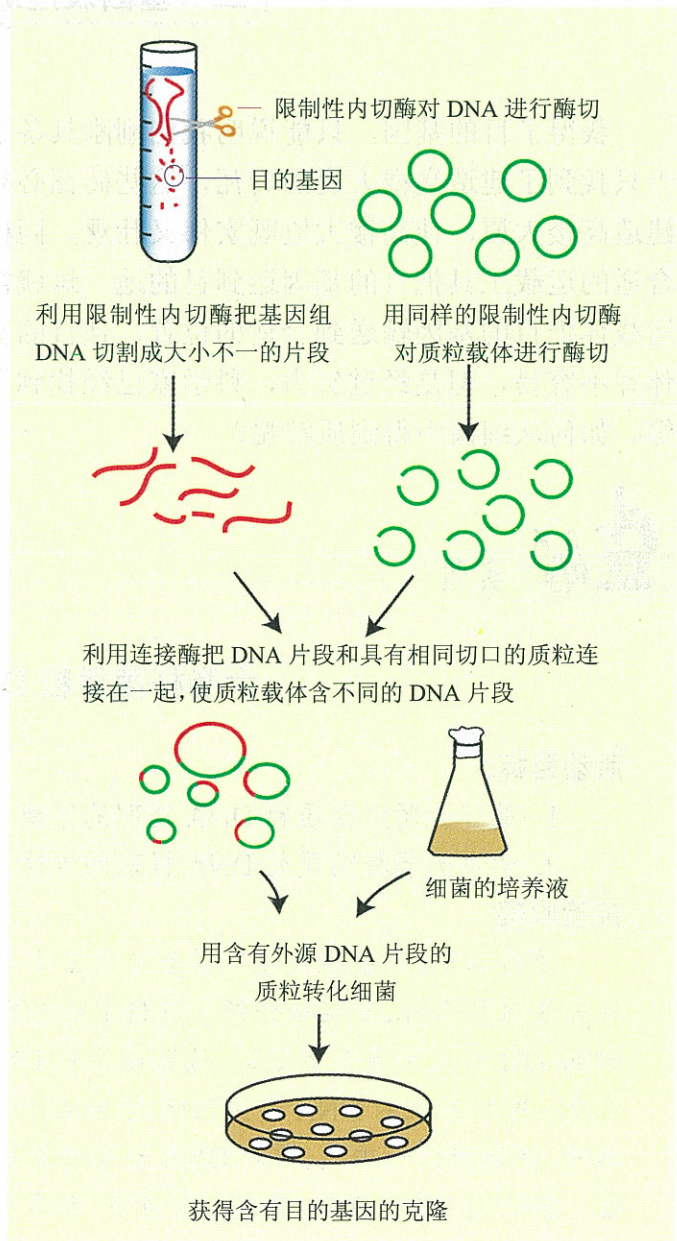


图 4-10 “鸟枪法”分离基因示意图

多综合的分子生物学技术。例如,在掌握了目的基因的部分或全部信息后,设计引物,利用 DNA 扩增仪(PCR 仪)直接扩增目的基因;也可以利用反转录法,以 mRNA 为模板,借助反转录酶,通过 PCR 仪合成与 mRNA 序列互补的 DNA 片段,然后在聚合酶的作用下合成双链 DNA,从而获得所需要的目的基因。



### 小资料

引物是指一段核苷酸序列。根据需要不同,引物可长可短,一般为 10~30 个碱基,引物的序列与所要扩增的目的基因序列的一部分要严格配对,这样,在 DNA 聚合酶的作用下,就可以扩增目的基因了。

## 二 基因表达载体的构建

获得了目的基因,只能说明我们刚刚具备了进行基因工程的基本原材料,也就相当于只找到了建造高楼大厦的砖瓦,这些砖瓦必须被运到目的地,放到合适的位置,才能建造高楼大厦,使高楼大厦既宏伟又壮观。同样,要想实施基因工程的蓝图,也要通过合适的运载工具把目的基因运到目的地。这就需要给目的基因寻找合适的运载体,通过运载体把目的基因输送到合适的位置,使目的基因在那里发挥作用。尽管寻找合适的载体并不容易,但是经过努力,科学家已经找到了很多适合做运载工具的运载体,如质粒等。如何从细菌中得到质粒呢?



### 实验

## 大肠杆菌质粒 DNA 的提取

### 活动目标

1. 简述大肠杆菌质粒 DNA 提取的原理。
2. 尝试大肠杆菌质粒 DNA 提取的方法。

### 实验原理

质粒 DNA 的提取是从事基因工程工作中的一项基本实验技术。质粒 DNA 的提取方法有许多种,本实验介绍一种最常用的方法:碱裂解法。十二烷基硫酸钠(SDS)和 NaOH 溶液可使菌体破裂,从而使质粒 DNA 以及基因组 DNA 从细胞中同时释放出来。释放出来的 DNA 遇到强碱性(NaOH)环境,就会变性。用乙酸钾(KAc)来中和溶液,使溶液处于中性,质粒 DNA 将迅速复性,而染色体 DNA 由于分子较大,难以复性。离心后,质粒 DNA 将在上清液中,而染色体 DNA 则与细胞碎片一起沉淀到离心管的底部。通过这种方法即可将质粒 DNA 从细菌中提取出来。

## 材料用具

含质粒的大肠杆菌、LB 培养基；溶液 I [质量分数为 1% 葡萄糖, 50mmol/L 乙二胺四乙酸二钠(EDTA), 25mmol/L Tris-HCl pH 8.0; 溶液 I 可用 0.5mol/L NaCl 溶液或质量分数为 0.9% 生理盐水代替], 溶液 II [(0.2 mmol/L NaOH, 质量分数为 1% SDS (十二烷基硫酸钠), 溶液 II 可用洗涤剂代替], 溶液 III (5 mol/L KAc, pH 4.8), 蒸馏水, 体积分数为 95% 乙醇, 二苯胺; 锥形瓶, 微量移液器, eppendorf (EP) 管, 试管, 酒精灯, 石棉网, 试管夹, 台式高速离心机, 冰箱。

## 方法步骤

1. 在超净工作台上 (或在酒精灯旁), 取 1mL 含质粒的大肠杆菌菌液, 接种于 100mL LB 培养基中, 于 37℃ 摇床振荡培养 8~10h, 如无摇床可每 0.5h 用手摇晃一次。



2. 取 1.4mL 菌液于 1.5mL EP 管中, 以 10 000rpm 离心 0.5min, 弃上清液。



3. 加 0.1mL 预冷的溶液 I, 充分混合。



4. 加入 0.2mL 溶液 II 轻轻翻转混匀, 静置 5 min (溶液 II 要现配现用)。



5. 再加入 0.15mL 预冷溶液 III, 轻轻翻转混匀, 静置 5 min。



6. 以 10 000rpm 离心 20min, 取上清液于另一新 EP 管中。



7. 加入等体积预冷的异丙醇或乙醇,混匀后静置于冰箱的冷冻室 20~30min。



8. 10 000rpm 离心 15min,弃上清液。待沉淀稍干后,溶于 50 $\mu$ L 蒸馏水中。



9. 取两支试管,分别加入 1mL 蒸馏水,其中一支加入提取的质粒 DNA 溶液,向两支试管中各加入 1mL 二苯胺,混匀后,放入沸水中加热 5min。

10. 待试管冷却后,比较观察两支试管中溶液颜色的变化。

### 注意

1. 用移液器(俗称“枪”)操作时,每一步都要格外小心,不要用枪头来回吸入和排出 DNA,以免切碎 DNA (包括质粒 DNA 和基因组 DNA)。

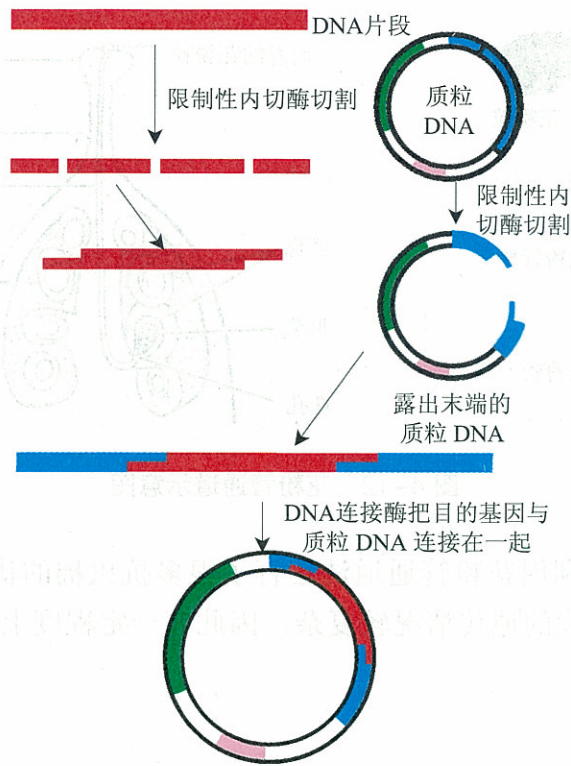
2. 加入溶液 II 和 III 后,一定不要剧烈振荡,避免导致基因组 DNA 的断裂而污染质粒 DNA。

### 总结与讨论

1. 两支试管中溶液颜色有什么变化? 说明原因。
2. 总结实验结果,写出报告,并在小组内进行交流。

一般来讲,目的基因和运载体不能自由组合在一起,必须借助限制性内切酶。以质粒作运载体为例,首先要用限制性内切酶切割质粒,使环状质粒出现一个切口,露出 DNA 末端,然后用同样的限制性内切酶去切割目的基因,使目的基因暴露出同样的 DNA 末端。这样,在 DNA 连接酶的作用下,有切口的质粒就会与同样末端的目的基因连接在一起,形成一个含有目的基因的新环状质粒 DNA 分子表达载体(图 4-11)。

为什么非要有载体和目的基因一同进入目标生物体(受体)呢? 研究发现,单个基因或 DNA 片段导入另一生物体的细胞后,往往会被该细胞内的防御系统消灭掉,这样就大大降低了目的基因的表达效率,如果把目的基因包装一下,就很容易逃过受体细胞的防御系统,免遭“灭顶之灾”。除了利用质粒作为运载体以外,科学家还找到了一些可以作运载体的工具,病毒就是其中之一。因为病毒很容易接近寄主的细胞,经过努力,人们把病毒的 DNA 分子进行改造,将病毒的有害基因去掉,换上目的基因,这样经过改造的病毒 DNA 分子用蛋白质“包装”之后,仍然可以很容易地进出寄主细胞,这样目的基因也就轻而易举地被送进寄主的细胞中。



含有目的基因的重组质粒 DNA (表达载体)

图 4-11 基因表达载体的构建示意图

### 三 目的基因的导入

目的基因与运载体连接成一个新的运载体分子后，就相当于目的基因乘上了“车”，但是，携带目的基因的“车”采取哪种方式，通过哪条途径到达“目的地”，还要看“车”的类型，以及基因工程操作者采取什么样的措施。根据受体和运载体的类型不同，所采取的导入方法也往往不一样。目前经常使用的目的基因导入方法有：花粉管通道法、氯化钙法、农杆菌介导的遗传转化法、基因枪法以及电击法、聚乙二醇(PEG)法等等。

#### ● 花粉管通道法

花粉管通道法 (pollen-tube pathway) 是指外源基因利用植物受精后花粉萌发形成的花粉管通道 (图 4-12) 进入受体细胞，借助天然的种胚系统形成含有目的基因的种胚。一般来说，利用花粉管通道法导入外源基因有如下两种方法。(1) 柱头滴加法：在授粉前后，将含目的基因的溶液滴加在柱头上。(2) 花粉粒携带法：即用含目的基因的溶液处理花粉粒，让花粉粒吸入目的基因，然后授粉。由于花粉管在植物受精过程中普遍存在，故利用花粉管通道法进行外源基因的遗传转化，基本上适用于任何开花植物，并且操作简便，



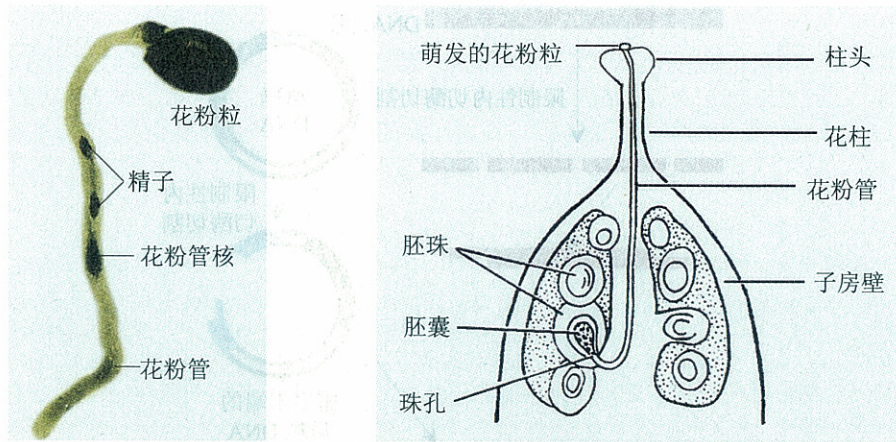


图 4-12 花粉管通道示意图

易于掌握。我国科学家利用花粉管通道法培育了很多抗虫棉的优良品种。但由于该方法的工作效率较低，且后代的遗传情况较复杂，因此在一定程度上限制了这一技术的使用。



## 实验

### 利用花粉管通道法将目的基因导入棉花

#### 活动目标

1. 说出基因工程操作程序和基本原理。
2. 尝试基因工程操作。

#### 实验原理

“花粉管通道法”是一种将外源 DNA 导入植物的转基因操作技术，其主要原理是授粉后使外源 DNA 能沿着花粉管通道渗入，经过珠心通道进入胚囊，转化尚不具备正常细胞壁的卵细胞、合子或早期胚胎细胞。这一技术理论上可以应用于任何开花植物，它不仅简便易行，而且可以避免克隆目的基因以及培养植物原生质体等操作中的许多困难。

#### 材料用具

开花的棉株(图 4-13)；质粒 DNA，灭菌蒸馏水；注射器，微量取液器，离心机，EP 管。



图 4-13 棉花的花

### 方法步骤

1. 提取含目的基因的总 DNA 或含有目的基因如 Bt 抗虫基因的质粒 DNA。
2. 把含有目的基因的质粒 DNA 配成质量分数为 0.01% 的溶液。
3. 在棉株上选取第二天早晨将要开花的花朵，用棉线捆住，不让花朵自动开放。
4. 第二天清晨给要处理的花朵进行人工授粉，授粉后套袋，作好标记。0.5~1h 后向柱头上涂抹 DNA 溶液。关于目的基因溶液中的 DNA 含量，若使用供体总 DNA 时，质量分数一般为 0.01%~0.02%，每朵花 1~2 $\mu\text{g}$  左右；若使用质粒 DNA 时，质量分数一般为 0.001%~0.002%，每朵花 0.1~0.2 $\mu\text{g}$  即可。
5. 分别收获转基因处理的棉铃种子，取出种植，待叶片长出后便可进行抗虫性检测(图 4-14)。



图 4-14 转基因棉花幼苗(左)与非转基因棉花幼苗(右)

### 总结与讨论

1. 花粉管通道法实现基因转移的基本原理是什么？与其他的目的基因导入方法相比，花粉管通道法有什么优点？
2. 本实验哪些方面还可以改进？

利用花粉管通道法实现目的基因导入受体细胞，外源基因可以是单纯的目的基因，也可以是含有目的基因的运载体，还可以是含有目的基因的总 DNA。花粉管通道法有效地利用了植物的自然生殖过程，省去了组织培养阶段，既简单、经济，又快捷实用，且不受植物基因型的限制，易于实现大规模基因转化。理论上，这种方法适用于任何开花植物，但在实际操作中还要根据不同的受体植物，选取合适的时间，采取适当的操作方法。

### ● 氯化钙法

如果运载体是质粒，受体细胞是大肠杆菌，最常用的遗传转化技术就是氯化钙法 (calcium chloride method)。这一方法也是扩增表达载体的常用方法，受体细胞经过一定浓度的氯化钙处理后，细胞膜的通透性会发生变化，可以允许含有目的基因的运载体分子进入感受态细胞。例如，携带目的基因的质粒 DNA 分子进入大肠杆菌细胞后，能够在细菌细胞内大量繁殖，比细菌本身的繁殖速度还要快很多倍，因此，在很短的时间内，就可以获得大量的目的基因及目的基因的表达产物(图 4-15)。

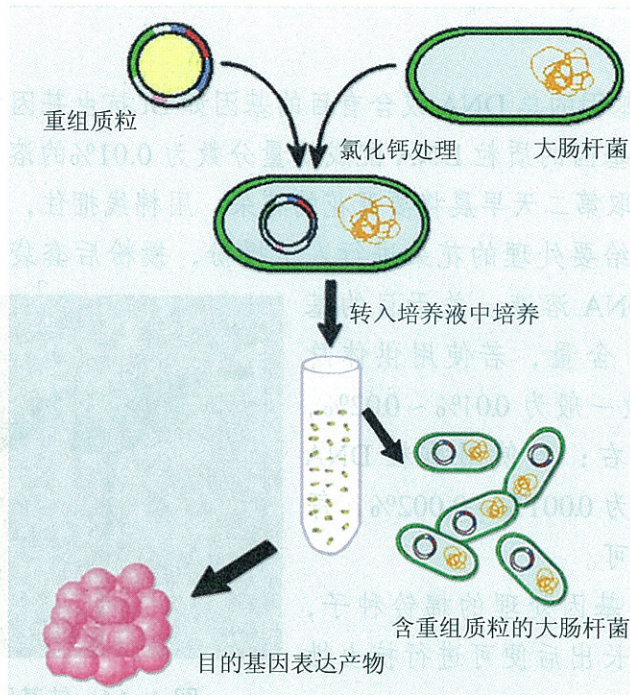


图 4-15 利用氯化钙法进行细菌转化

### ● 农杆菌介导的遗传转化法

农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 是一种土壤细菌，它侵染植物细胞后，会使植物组织形成肿瘤。受感染的细胞可产生正常细胞所不能产生的生物碱，被农杆菌利用作为碳源和氮源。经过持续不断的基础研究，人们发现在农杆菌中存在一种环形的 Ti 或 Ri 质粒，质粒上的一段 DNA 能够从一个细胞转移到另一个细胞，这段 DNA 被称为转化 DNA (transfer DNA, T-DNA)，它包含有生长素基因和细胞分裂素基因，而且可以插入植物基因组，引起植物细胞的变化。由于 T-DNA 转移频率很高，而且 Ti 质粒上可插入几百至几千个碱基大小的 DNA 片段，因此可以利用这种天然的遗传转化体系，将目的基因转移到植物细胞。在迄今发展起来的植物转基因技术中，农杆菌介导的遗传转化占据主导地位，



图 4-16 非转基因番茄(左)与转基因番茄(右)

应用最为广泛，特别是在双子叶植物上尤其普遍，如转基因烟草、转基因番茄(图 4-16)、转基因马铃薯等。近年来利用农杆菌转化在水稻等谷类作物上也取得了很大成功，如我国科学家利用这一技术培育的抗除草剂水稻、抗虫水稻和抗病水稻等。农杆菌介导的遗传转化技术的优点是转化频率高、成本低、操作简单，而且转基因后代的遗传组成比较容易分析。

## ● 基因枪法

人们用枪可以打猎，捕获猎物，为什么不试试用枪打细胞呢？于是科学家设想把细胞看成靶子，用基因枪（particle gun）（图 4-17）装上带有目的基因的微弹，对植物细胞进行轰击，这样，目的基因便像子弹一样，随着基因枪的强烈轰击，进入到受体细胞中。基因枪技术的主要原理是，将连接到载体上的目的基因的 DNA 溶液与金粉或钨粉共同保温，使 DNA 吸附于金属颗粒表面，然后，在一个真空的小室中，利用高压放电将带有基因的金粉或钨粉轰击进入受体，实现转基因的目的。



图 4-17 基因枪

## 四 目的基因的检测与表达产物的测定

目的基因导入受体后，在全部的受体细胞中，真正摄入目的基因的受体细胞是很少的。因此必须通过一定的手段对受体细胞中是否含有目的基因进行有效的检测，通常检测的方式有两种：一是形态检测，二是分子检测。那么，检测是如何进行的呢？

## ● 形态检测

如果目的基因的表达产物具有明显的表型性状，那么，可以根据目标性状的有无来判断目的基因是否表达。例如，科学家把抗虫基因导入玉米，当害虫再从玉米植株上取食时，害虫便会死掉。在同样的生长条件下，转抗病基因的木瓜长势良好，而非转基因木瓜却遭到病害袭击（图 4-18），这就说明目的基因在受体中已经表达。又如，把抗除草剂基因导入水稻，当给稻田喷洒除草剂时，杂草都被消灭了，而转基因水稻因为含有了抗除草剂基因而丝毫不会受损，这也说明，抗除草剂基因已经在水稻植株内得到表达。转 Bt 基因棉花可以产生使棉铃虫致死的毒素蛋白，这说明 Bt 基因在棉花植株内得到了表达（图 4-19）。



图 4-18 普通木瓜(左)与转基因木瓜(右)

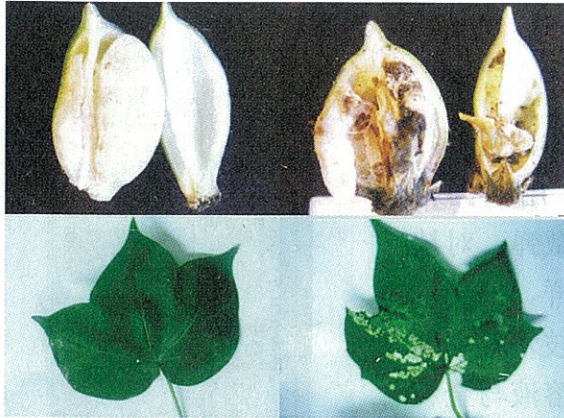


图 4-19 转 Bt 基因抗虫棉花的棉铃和叶片 (左) 和非转基因棉花的棉铃和叶片 (右)

如果目的基因的产物没有明显的表型, 在构建表达载体时, 通常把一个报告基因与目的基因连在一起, 通过检测报告基因的表达情况, 来检测目的基因的表达; 所用的报告基因通常是抗生素抗性基因或荧光标记基因, 这时, 我们可以通过检测受体细胞是否具有某种抗生素的抗性, 或是否具有某种荧光标记, 来追踪目的基因的表达情况。

## ● 分子检测

在基因工程的操作中, 科学工作者不仅可以通过上述直接观测的方法来检测目的基因的表达情况, 而且还可以直接从分子水平上对目的基因的整合与表达进行检测。

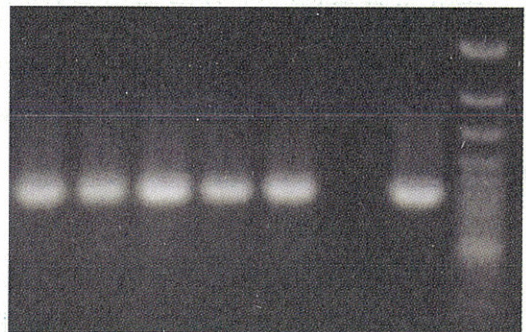
### PCR 检测

根据目的基因的序列设计引物, 采用 PCR 技术对目的基因进行扩增, 如果能扩增出目的基因片段, 说明目的基因已整合到受体细胞中。如对除草剂基因的检测, 就可以根据除草剂基因的序列设计引物, 然后提取受体细胞的基因组 DNA, 进行 PCR 扩增, 根据电泳扩增条带的有无, 判断目的基因是否整合到受体生物基因组中 (图 4-20)。

### 分子杂交检测

把目的基因片段进行放射性同位素标记或进行生物素荧光标记, 用标记好的基因片段作探针, 与受体生物的基因组 DNA 进行杂交, 如果有杂交斑点, 根据分子杂交的基本原理, 说明目的基因与受体细胞基因组 DNA 具有同源性, 也就是说目的基因已经被导入受体细胞内, 反之, 则说明目的基因没有进入受体细胞中 (图 4-21)。

PCR 检测和分子杂交检测只能说明目的基因是否整合到受体生物基因组中, 而目的基因在受体基因组中是否转录表达, 还要经过进一步的分子检测来证明。比如, 提取目的基因的 mRNA, 检测目的基因的转录情况; 分离目的基因编码的蛋白质, 检测目的基因的表达情况。



1~5 和 7 为转基因植株; 6 为非转基因对照植株;  
M 为相对分子质量标记

图 4-20 转基因植株的 PCR 检测  
电泳条带

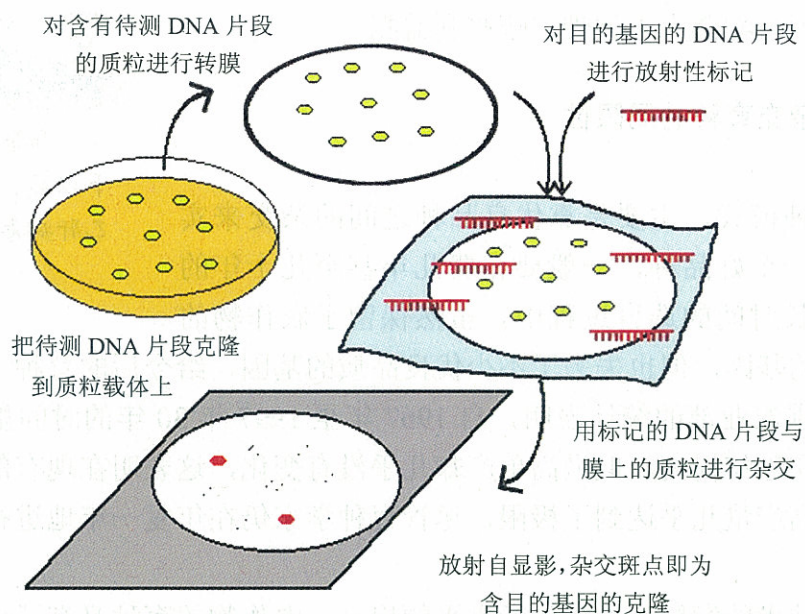


图 4-21 分子杂交检测示意图



### 自我检测

1. 获得目的基因的方法有哪些? 简述“鸟枪法”分离基因的基本原理及程序。
2. 设计一个实验, 从某一细菌中分离一个抗病基因, 然后把这一基因转移到烟草中, 指出实验设计中要解决的关键问题。

## 第 3 节 基因工程的应用及产业化前景

基因工程技术拓宽了传统生物科学技术的领域, 可以克服物种之间的遗传屏障, 按照人们的愿望, 定向培养或创造出新的生命形态, 以满足社会发展的需求。随着分子生物学技术的迅速发展, 基因工程取得了惊人的成绩。

### 一 植物基因工程成果

自 1983 年首次获得第一株转基因烟草以来, 迄今为止, 全世界已有转基因植物近 200 种, 其中有 50 多种近千例转基因植物被批准进行田间试验, 有的已进入商业开发阶

段。那么转基因植物会为人类带来哪些利益呢？

### ●突破了传统杂交育种的局限性

传统的育种模式，主要是靠优良品种之间的杂交来实现的，要获得一个好品种，一般要花费几年甚至几十年的时间，而且在长时间的选育过程中，虽然保留了农作物的很多优良特性的基因，但也失去了不少优良品质的基因，给今后的育种工作造成极大的障碍。例如，美国农业部的统计表明，自1967年至1997年30年的时间里，美国玉米和水稻的平均产量在逐年提高，但最高单产却几乎没有变化，这表明在现有的栽培品种里，玉米和水稻的最高产量几乎达到了极限，尽管育种学家仍在年复一年地进行着品种选育，但成效甚微。

随着科学技术的发展，人类生活水平的提高，农作物的育种又有了新的目标，从单纯追求高产到注重优质、抗逆等多种优良性状，然而一些优良特性在现有的栽培品种中很难找到。后来，科学家发现，在一些野生品种和非栽培品种中，存在着很多优质、抗逆的性状(图4-22)，但是不同物种之间存在着天然的生殖障碍，远缘杂交不育。转基因技术可以实现不同物种之间的基因转移，克服这一障碍。

例如，科学家利用转基因技术，把抗病毒基因引入烟草和马铃薯，培育出了抗病毒的烟草和马铃薯；把苏云金杆菌体内的一种编码毒素蛋白的基因导入玉米和棉花，培育出了抗虫玉米、抗虫棉花，减少了喷洒农药给环境带来的污染，也使农民免遭农药的危害；把编码赖氨酸的基因转入小麦基因组，培育出了富含赖氨酸的小麦，制作面包时，不用再另外添加赖氨酸。

通过转基因技术大大扩展了可利用基因的种类，克服了远源种及种间杂交不育或不能杂交的障碍，使得生物界存在的抗病虫害基因、优良的品质基因等都可以重组到植物染色体上，并使之在植物体内遗传和表达，从而培育出优良的品种，同时还缩短了育种周期，为农业生产带来广阔前景。



思考

如果有人问，吃了胡萝卜以后，身体内就会产生抗乙肝病毒的抗体，你相信吗？



图4-22 一些具有某种优良性状的野菊花

## ●开辟了生产疫苗的新途径

乙肝疫苗的生产，一般是通过酵母细胞的培养等途径获得，费时费力而且成本较高。自转基因植物获得成功以来，很多科学家开始考虑以食品为桥梁，培育出可以直接食用的疫苗。经过比较选择，科学家最终选定胡萝卜，因为胡萝卜容易运输、耐储藏，而且在全球各地都可以种植。科学家培育出一种可以生产乙肝疫苗的转基因胡萝卜(图 4-23)，通过生吃或者榨汁食用，就可以达到接种疫苗的效果，简便易行。但该方法还需进一步试验来验证疫苗的疗效及安全性。

由此可见，转基因植物已不再局限于培育优良品种，它已经和医药事业紧密地结合在一起。



图 4-23 用于生产乙肝疫苗的转基因胡萝卜

## 二 动物基因工程成果

转基因动物技术是在 20 世纪 80 年代初发展起来的。尽管这项技术的实际应用还有许多关键性的技术问题需要解决，但转基因技术在改良畜禽生产性状、提高畜禽抗病力以及利用转基因畜禽生产药物等方面显示出了广阔的应用前景。

### ●改良畜禽经济性状的新思路

1982 年，世界上第一只转基因“超级小鼠”诞生(图 4-24)。人们从中受到了启发：能否通过外源基因的导入，使畜禽生长速度加快、产量(肉、蛋、奶)提高、耗料减少和品质改进呢？大量研究表明，通过转基因技术，可使受体动物合成某些必需的氨基酸，或改变动物的生长调节系统，进而促进动物生长、提高饲料的利用效率等。1985 年，科学家第一次将人的生长激素基因导入猪的受精卵获得成功，转基因猪与同窝非转基因猪比较，生长速度和饲料利用效率显著提高。此后，羊、牛和鸡等畜禽的转基因研究也相继获得成功。另外，还可以把一些抗病基因导入动物体内，提高动物的抗病能力。1988 年，有人将小鼠抗流感基因转入了猪体内，使转基因猪增强了对流感病毒的抵抗能力。



图 4-24 转基因超级小鼠(左)



随着基因工程技术的不断发展,转基因动物技术将会不断得到完善,从而在未来的畜牧业生产中发挥更大的作用。

### ● 动物生物反应器为医药事业开辟了新途径



思考

如果有一天,你因患流感去找医生开药方,而医生给你的却是一包牛奶,你觉得它能治好你的病吗?

利用转基因动物生产药物,已经展示了广阔前景。目前利用转基因动物生产基因药物,最理想的表达场所是乳腺,因为乳腺是一个外分泌器官,乳汁不进入体内循环,不会影响到转基因动物本身的生理代谢反应。从转基因动物的乳汁中获取的基因产物,不但产量高、易提纯,而且表达的蛋白质经过充分的修饰加工,具有稳定的生物活性。因此用转基因牛、羊等家畜的乳腺表达人类所需的蛋白质的基因,就相当于建了一座大型制药厂,而且这种药物工

厂投资少、效益高、无公害。

1991年,英国科学家将人的 $\alpha_1$ -抗胰蛋白酶基因转入绵羊受精卵,成功地获得了5只转基因绵羊,而且从绵羊乳中纯化出的 $\alpha_1$ -抗胰蛋白酶与人血浆中的 $\alpha_1$ -抗胰蛋白酶具有相同的生物学活性。我国科学家也成功培育了乳汁中含有人凝血因子的转基因绵羊(图4-25),和含有人生长素基因的转基因兔。利用转基因动物生产人类药用蛋白的生物反应器研究还相继在猪、山羊、牛等其他家畜上取得了成功,表明生产人类药用蛋白等生物活性物质是可能和可行的。



图4-25 转基因绵羊

## 三 基因治疗

### ● 基因治疗的基本原理

由于人类的近万种疾病大都具有遗传特性,因此,科学家认为只有从基因修复入手才能根治许多遗传疾病。基因治疗是将健康和正常的基因通过某种载体导入人体细胞中有缺陷或有变异基因的部位,并使目的基因在有机体内有效表达,达到防治疾病的目的(图4-26)。基因治疗是在基因工程的基础上发展起来的一种分子生物学技术,其治疗策略及程序与一般的基因工程基本类似,主要包括目的基因的选择和制备、运载体的选择,靶细胞的选择、目的基因进入靶细胞的方式及外源基因表达的检测。



## 科技探索

1968年，美国科学家布莱泽尔(M. Blaese)首先提出了基因治疗的概念，然而基因治疗的发展却非常缓慢。1988年，美国科学家用动物做试验治疗严重免疫缺陷综合征获得成功。直到1990年，布莱泽尔等对一个患腺苷脱氨酶(ADA)缺乏症的4岁女孩进行人类历史上首次基因治疗，获得成功

后，才标志着基因治疗真正在临床医学上实施。此后，基因治疗便进入了狂热期，但由于一些关键技术障碍，使得基因治疗屡屡受挫。1996年以后，基因治疗才逐渐步入正规，目前基因治疗已从单基因遗传病扩展到多个病种范围，临床试验已达600多个，基因治疗已取得初步成效。

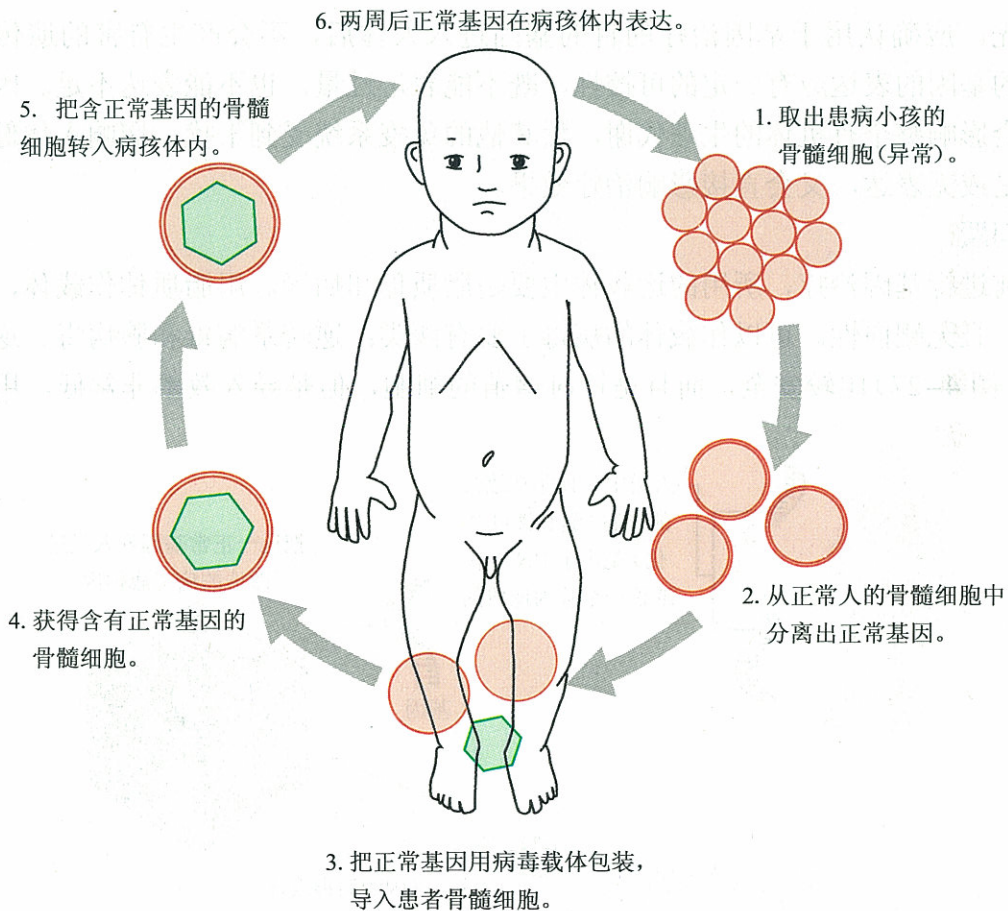


图 4-26 基因治疗方法示意图

### ● 基因治疗的业绩及展望

世界上第一例接受基因治疗的患者，是一个患有腺苷脱氨酶缺乏症的女孩，她接受治疗几个月后，便基本恢复了正常。此后不久，又有数十例患有严重免疫缺陷综合征的病孩

在世界各地接受了基因治疗。我国复旦大学也先后对 4 名患者进行了基因治疗试验，取得了令人满意的效果。现在，基因治疗的对象已包括血友病、严重贫血、关节炎、心血管病、癌症，甚至艾滋病等疑难顽症。

基因治疗是一种极有潜力的治疗手段，随着科学技术的发展，基因治疗会取得更大的进展，并将得以广泛应用。而且基因治疗的概念还在不断扩展，不再局限于用正常基因替换体内的异常基因，还可以导入人体内没有的基因，对人体的生理代谢进行调节。

### ● 基因治疗存在的问题

基因治疗方法使人类治愈一些遗传疾病及重大疾病成为可能，但在基因治疗实施的过程中，还存在很多问题。

#### 目的基因的安全性问题

首先，应确认用于基因治疗的目的基因进入人体后，不会产生有害的遗传变异。其次，目的基因的表达应有一定的可控性，既不能表达过量，也不能表达不足。因为表达过量有时会影响整个有机体的生理代谢，使其他的免疫系统受到干扰，影响人体健康；如果表达不足或无表达，又会直接影响治疗效果。

#### 运载体问题

目前进行基因治疗，所用的运载体主要是脂质体和病毒。用脂质体作载体，基因导入效率低，且无靶向性。可以作载体的病毒主要有两类：逆转录病毒和腺病毒。逆转录病毒作载体(图 4-27)比较安全，而且是针对增殖的细胞，但是导入效率非常低。用腺病毒作

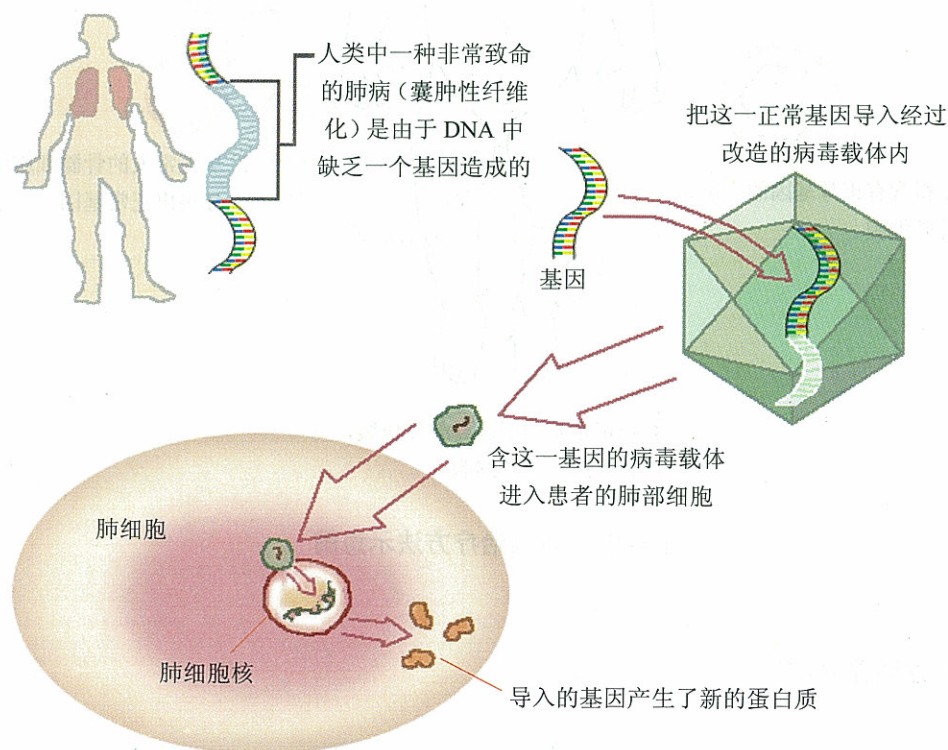


图 4-27 利用病毒作载体进行基因治疗的示意图

载体，导入效率较高，可以对生殖细胞进行导入，便于治疗遗传疾病与代谢病，但会引起严重的免疫反应。另外，病毒通常能感染多种细胞，引起炎症或免疫反应。因此如果使用病毒作载体运载基因，可能会引起目标细胞以外的细胞感染病毒，甚至可能将病毒传播给其他个体或传播到环境中，危害人类健康。

### 致病多基因问题

人类的许多遗传病，如心血管疾病(如高血压)、代谢病(如糖尿病Ⅱ型)、神经性疾病等，是由多基因控制的遗传病，而目前只有少数基因可进行基因治疗，如果仅对多基因中的一个或少数几个进行治疗，难以收到较好的疗效。

## 四 基因芯片

计算机芯片是一块布满微小的电子元件的小“片”，是计算机的核心。科学家把许多 DNA 片段装在一块小片上，制成基因芯片(gene microarray)。那么，基因芯片是如何工作的呢？

### ● 基因芯片的基本原理

基因芯片的制作，是在 5~6cm<sup>2</sup> 的小玻璃片上，装上一个一个长短不一的 DNA 片段，采用一种特殊的方法将这些 DNA 片段牢牢地粘在玻璃上。然后将每一个 DNA 片段的序列信息和所粘贴的位置都贮存在一台计算机里，这样科学家就可以利用这张芯片去做许多分析研究了(图 4-28)。

基因芯片的工作原理很简单，就是最基本的分子杂交技术(图 4-29)。利用基因芯片检测某种基因时，先将待测样品制成荧光标记的 DNA 探针，让它与基因芯片上已知序列

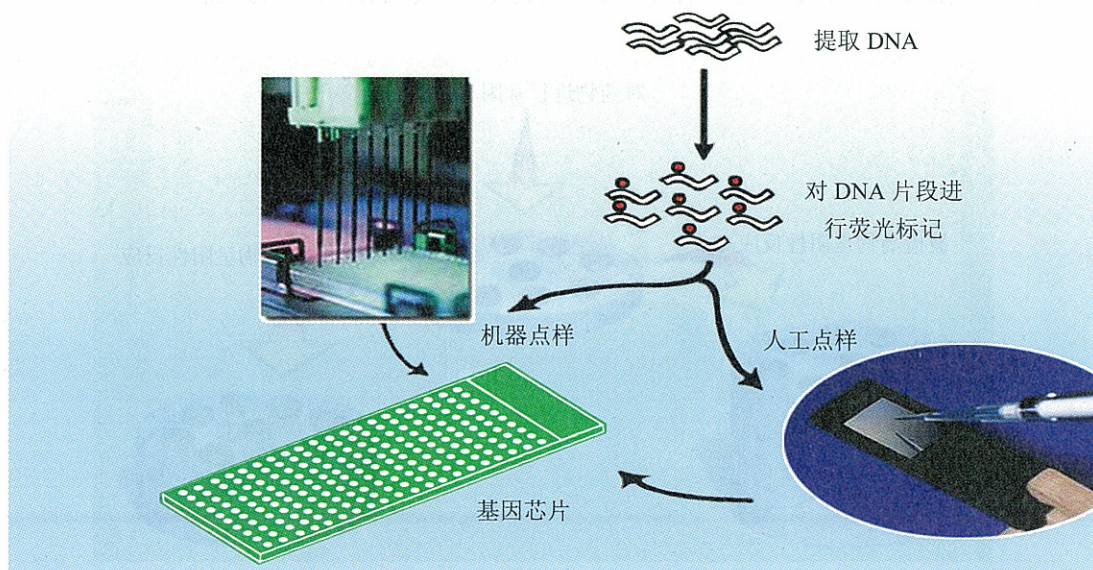


图 4-28 基因芯片的制作原理示意图

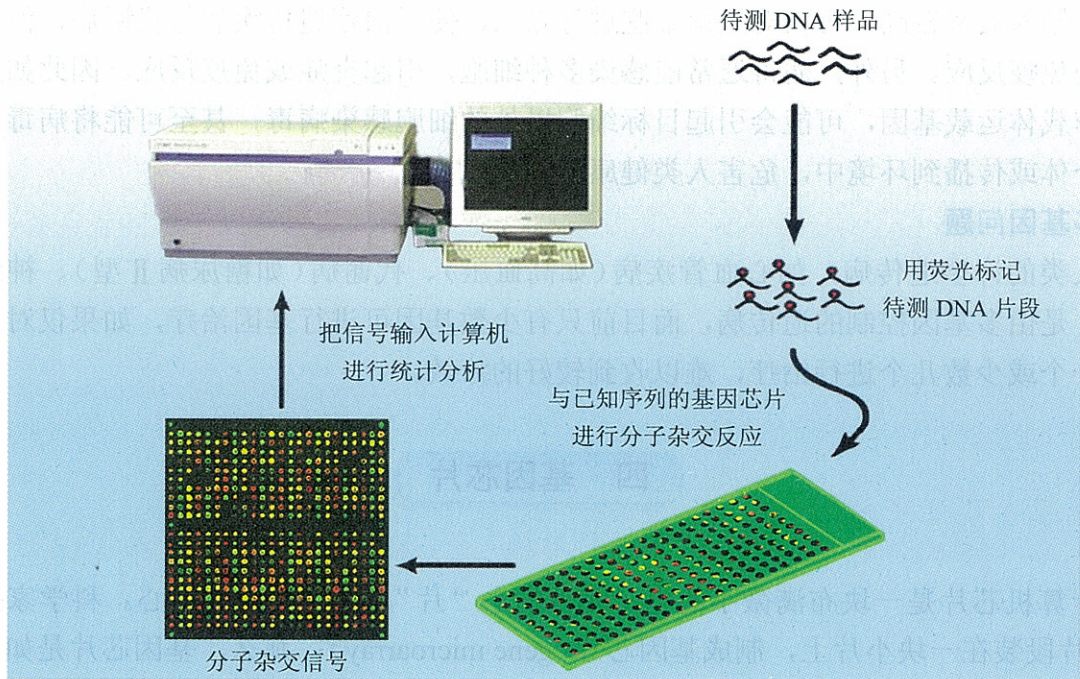


图 4-29 基因芯片的工作原理示意图

的 DNA 片段杂交，杂交信号经放大后输入计算机进行统计分析，这样就可以检测出样品 DNA 的序列。利用这种方法，一次可以检测大量的基因。

### ● 基因芯片的用途

基因芯片的用途非常多，它可以用来监测基因表达的变化、分析基因序列、寻找新的基因和新的药物分子(图 4-30)。利用基因芯片，可以比较同一物种不同个体或物种之间，以及同一个体在不同生长发育阶段、正常和疾病状态下基因表达的差异，寻找和发现新的基因，研究基因的功能以及生物体在进化、发育、遗传等过程中的规律。例如，可以把人

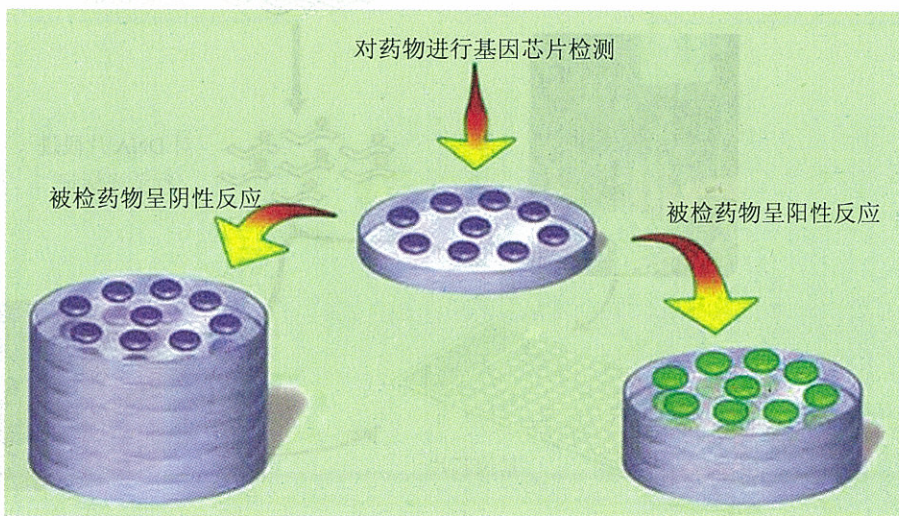


图 4-30 基因芯片在药物检测方面的应用

的基因制成基因芯片，分别把发生病变的细胞与正常细胞中的 DNA 放在基因芯片上反应，然后通过计算机识别，就可以很快找出发生病变细胞中的基因表达与正常细胞的差异，从而找出相关的致病基因。



### 自我检测

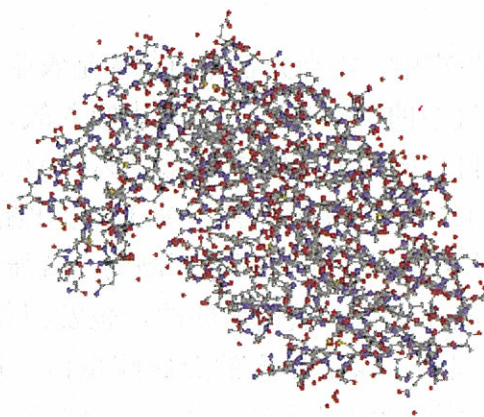
1. 日常生活中，你接触过哪些转基因植物或动物，与非转基因生物相比，它们有哪些优点？转基因生物为医药及环保事业带来哪些益处？
2. 你认为基因治疗的前景如何？谈谈你的所见所闻。

## 第 4 节 蛋白质工程的崛起

胰岛素(图 4-31)制剂现已广泛应用于临床，用于治疗糖尿病。但是天然胰岛素制剂在储存中容易形成二聚体和六聚体，增加了胰岛素从注射部位进入血液的时间，从而延缓了胰岛素制剂的降血糖作用，也增加了抗原性，降低了药效。研究表明，这是由于胰岛素  $\beta$  肽链上的第 23 和第 28 个氨基酸的结构造成的。如何解决这一问题呢？科学家想到了可以利用蛋白质工程技术改变这些氨基酸，降低其聚合作用，使胰岛素快速起作用。那么，什么是蛋白质工程呢？



胰岛素蛋白质由  $\alpha$  与  $\beta$  两条肽链组成



胰岛素蛋白质分子的空间结构

图 4-31 胰岛素蛋白质的结构示意图

### ● 蛋白质工程的诞生

蛋白质工程是由美国科学家厄尔默(K. M. Ulmer)于 1983 年首先提出的，随即被广泛接受和采用。蛋白质工程(protein engineering)是根据蛋白质的精细结构与生物活性以及结

构与功能之间的相互关系,利用基因工程的手段,按照人类自身的需要,定向地改造天然的蛋白质,甚至创造新的、自然界不存在的、具有优良特性的蛋白质分子。

天然存在的蛋白质,有时不尽如人意,需要改造。蛋白质是在 DNA 指导下合成的,由按一定顺序排列的链状的氨基酸组成,然后按一定的规律折叠起来,形成特定的空间结构,具有特定的生物学功能。改造原有的蛋白质和设计新的蛋白质,有两种办法:一种是多肽合成法,即利用多肽合成仪(图 4-32),从组成蛋白质的第一个氨基酸合成起,合成一种全新的蛋白质;另一种是采用基因工程手段,对负责编码某种蛋白质的基因进行设计,合成出更符合人们要求的蛋白质。



图 4-32 多肽合成仪

### ●蛋白质工程的研究与应用

蛋白质工程的研究主要包括以下几个方面:通过基因工程技术分析蛋白质的 DNA 编码序列,对蛋白质进行分离纯化,测定蛋白质的序列并对其结构与功能进行分析,通过计算机辅助设计突变区,对编码蛋白质的 DNA 进行定点突变改造等。蛋白质工程技术为改造蛋白质的结构和功能找到了新的途径,推动了蛋白质和酶学研究的发展。

在工业、农业、医药业和环境保护等领域,蛋白质工程技术已得到初步的应用。有些天然生物酶的应用,有很大的局限性。因此,人们运用蛋白质工程技术来改造天然生物酶,使其能够适应特殊的工业过程;或者设计制造出全新的人工酶或人工蛋白,以生产全新的医用药品、农业药物,等等。大家熟悉的加酶洗衣粉,就是利用蛋白质工程改造的产物。

农业生产中,提高光合作用效率是农业增产的关键。在光合作用中,绿色植物利用日光固定空气中的二氧化碳,同时也吸入氧、呼出二氧化碳,进行光呼吸。在光呼吸过程中,又把自己所固定的碳消耗掉 25%~50%。光合作用与光呼吸这两个过程都是由一种名为核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶(RuBP 羧化酶)催化的,如果对这个酶加以改造,使固定二氧化碳的作用加强,光呼吸作用减弱,就能提高光合作用的效率。

在环境保护中,蛋白质的改造也发挥着积极作用。例如,植物、微生物体内有一种能与重金属镉、汞等结合的金属硫蛋白,这种金属硫蛋白由 61 个氨基酸组成,包括  $\alpha$  和  $\beta$  两个不同的组成部分。其中  $\alpha$  部分有 11 个半胱氨酸,这些氨基酸容易与镉、汞等重金属结合, $\alpha$  部分与镉结合的能力要比  $\beta$  部分高出 1 000 倍。于是,科学家对  $\beta$  部分进行改造,使  $\beta$  部分与  $\alpha$  部分结构相同,合成具有两个  $\alpha$  的基因,再把这一基因连接到表达载体上,转移到微生物或植物体内,这时,含有这一新基因的微生物或植物都具有很强的吸附重金属的能力,保护了生态环境。

有科学家提出蛋白质工程是第二代基因工程,它的发展前景非常广阔,已成为生物工程研究的重要领域之一。



## 自我检测

1. 举例说明科学家如何按人类的需要,利用蛋白质工程技术对生物界的某些蛋白质进行改造。
2. 洗衣服时,经常使用加酶洗衣粉,你知道洗衣粉里的酶与生物体内的酶有什么不同吗?

## 本章小结

基因工程诞生于 20 世纪 70 年代,它是无数科学家辛勤劳动的成果。DNA 是主要遗传物质的发现,DNA 分子的双螺旋结构模型和 DNA 的半保留复制机理的阐明,遗传密码的破译和遗传信息传递方式的发现,为基因工程的诞生奠定了坚实的理论基础。限制性核酸内切酶、DNA 连接酶和基因工程载体的发现,又为基因工程的诞生进一步提供了可操作性。

基因工程是指在基因水平上,采用与工程设计十分类似的方法,根据人们的意愿,主要是在体外进行基因切割、基因拼接和基因重组,再转入生物体内,产生出人们所期望的产物,或创造出具有新的遗传特征的生物类型,并能使之稳定地遗传给后代。基因操作的基本程序主要包括:目的基因的获得、基因表达载体的构建、目的基因的导入和目的基因的检测与表达产物的鉴定。目前获得目的基因的方法主要有两种:一是化学合成法,二是从基因组中直接分离法。表达载体的构建主要指利用限制性内切酶与连接酶把目的基因与载体连接在一起。把目的基因导入受体的方法主要有花粉管通道法、氯化钙法、农杆菌介导的遗传转化法、基因枪法、电击法以及聚乙二醇法等等。对目的基因及其表达水平的检测主要从两种水平上进行:一是形态检测,二是分子检测。

基因工程技术已取得了很大成就。它突破了传统育种技术的局限性,能把目的基因引入目标生物体内,培育优质、高产、抗逆的优良品种;同时,动植物生物反应器为医药事业开辟了新途径。基因治疗技术的发展,还为疑难杂症患者带来了福音。

蛋白质工程是根据蛋白质的精细结构与生物活性以及结构与功能之间的相互关系,利用基因工程的手段,按照人类自身的需要,定向地改造天然的蛋白质,甚至创造新的、自然界不存在的、具有优良特性的蛋白质分子。蛋白质工程,在工业、农业、医药业 and 环境保护等领域已取得初步成果。



# 第 5 章

# 生物技术的安全性和伦理问题

## 主要内容

### 1. 转基因生物的安全性问题

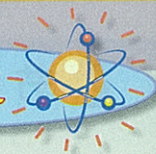
- 转基因作物引起的风波
- 转基因作物的安全评价
- 转基因生物的风险防范措施

### 2. 生物技术中的伦理道德问题

- 生物技术是把双刃剑
- 生物技术带来的道德问题
- 生物技术面临的伦理问题
- 倡导科学伦理, 发展科学技术

### 3. 生物武器对人类的威胁

- 什么是生物武器
- 生物武器对人类的危害
- 生物武器的防范
- 禁止研制开发生物武器
- 生物武器与国际反恐斗争



1953年沃森(J. Watson)和克里克(F. Crick)的DNA分子结构双螺旋模型的确立,是分子遗传学的发端。从此,在生命物质的分子水平上展开了一场生命科学的革命。这场革命不仅使人们在探索生命奥秘的道路上有了重大的理论突破,而且使得直接改变甚至创造生命成为可能。这就使得医学、生物学和社会学等学科遇到了前所未有的新难题,并对传统的伦理观念提出了新的挑战,由此导致了在20世纪五六十年代一个新的学科——生命伦理学的诞生。这反映了人类对新技术的使用进行社会化控制的要求。

20世纪70年代,以重组DNA和转基因技术为重点的生物工程一出现,便举世震惊,成为自发现DNA双螺旋结构以来发展最快、活力最强的高新技术领域之一。尤其是80年代以后,该技术在农业和医药领域里的应用,取得了举世瞩目的重大突破。其中转基因农作物的培育成功,便是该领域的一大成就。由此引发的一场关于转基因生物及转基因食品安全性的大讨论,在世界范围内方兴未艾。近年来,分子生物学及生物技术更是飞速发展,对于人类基因组计划,辅助生殖(人工授精、胚胎移植、代孕母亲)和克隆技术的研究与实施,需要我们做出理性思考和道德判断。现代生命科学的理论突破与技术创新所面临的巨大伦理冲突是诸如物理学等其他学科所不具备的。

## 第 1 节 转基因生物的安全性问题

说起转基因生物 (genetically modified organism, GMO), 你可能觉得这是科学家的事情, 距离自己很遥远, 其实它就在你的身边。比如你穿的牛仔裤很可能就是以转基因棉花为原料制作而成的; 你吃的食用油很可能来自转基因大豆; 你可能还注射过乙肝疫苗, 那也是转基因技术的产品。如此看来, 转基因生物与我们的日常生活息息相关, 所以转基因生物的安全性问题, 自然就引起了人们的关注。那么, 什么是转基因生物的安全性问题呢?

### ● 转基因作物引起的风波

转基因作物 (genetically modified crops) 的大本营在美洲。2000 年, 仅在美国转基因作物的种植面积即占全世界转基因作物种植面积的 70%, 而且每年都在不断增加。若再加上加拿大和阿根廷, 这三个国家的转基因作物种植面积占全世界的 98%。同一年, 我国的国产转基因抗虫棉的推广面积达  $3.7 \times 10^5 \text{ hm}^2$ , 减少农药用量 80%。转基因作物之所以能在上述地区迅速推广种植, 是因为种植转基因作物给农民带来了巨大的收益, 甚至改变了他们的命运。例如, 转基因抗虫玉米抵挡住了玉米螟的危害, 而这种害虫每年造成美国玉米种植者超过 10 亿美元的损失。当我国华北地区的棉农面对棉红铃虫的危害束手无策, 几乎陷于绝望之时, 转基因抗虫棉的出现, 使他们走出了困境, 挽救了当地的棉花种植业。因此, 就世界范围来说, 转基因作物的种植面积也在不断增加(图 5-1)。

然而在欧洲, 至今作为商品种植的转基因作物还很少, 欧洲的消费者也很难接受转基因食品。不仅如此, 还常常发生捣毁种植转基因作物农田的事件。

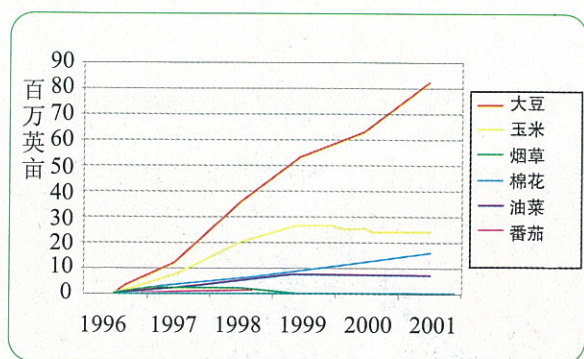


图 5-1 全球转基因作物种植面积



思考

一些人士和组织认为转基因生物对环境具有破坏性或潜在的危險, 所以应当坚决抵制转基因技术。你是如何看待这一问题的呢?

## ●转基因生物的安全性

转基因作物有效地降低了病虫害，提高了作物产量，全球转基因作物的种植面积在不断增加。但是，人们在享受转基因生物取得的成果的同时，有关转基因生物安全性问题的争论一直不绝于耳。争论的焦点在于转基因生物的环境安全性及转基因食品（genetically modified food）的安全性。

环境安全性即转基因植物是否会对环境构成威胁，转入的基因是否会从转基因植物的体内漂移到环境中（图5-2），破坏生态环境，打破原有物种间的生态平衡。例如，带有抗除草剂基因的转基因作物与其近缘野生种杂交，那么，将有可能产生带有抗除草剂基因的“超级杂草”。但是，由于物种间的生殖隔离，这种杂交成功的概率很低。假如出现使除草剂失去作用的“超级杂草”，随着技术的发展，人类还会发明新的技术手段，解决这一问题。

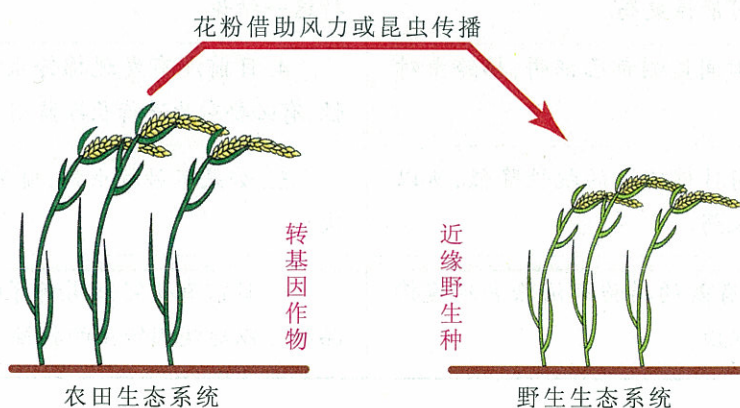


图5-2 基因漂移示意图

转基因食品的安全性同样受到关注。人们担心转入的外源基因或基因产物对人畜有害，担心外源基因表达的产物引起人群过敏。国际社会对转基因食品安全性的评价基本分为两种：一种是强调结果评估的美国模式，不管采用什么技术，只针对研究出来的产品进行评估；另一种是强调过程评估的欧盟模式，只要使用转基因技术，都对技术过程进行评估。我国不仅对产品、过程进行评估，而且增加了大鼠三代繁殖试验等指标。因此，我国转基因食品的安全性评价，不管是技术标准上还是程序上，都是世界上最严格的评价体系。

转基因生物正越来越多地影响着人类社会经济以及生活的各个方面，在肯定生物技术给人类生活带来巨大贡献的同时，我们应正确认识其存在的潜在安全性问题。随着生命科学的不断发展，通过风险评估及安全性知识的积累，人类对转基因生物的安全性将会进一步了解和掌握。



## 热点讨论

以下是关于抗虫棉争论双方的主要观点。根据已有的生物学知识,你的看法更倾向于哪个观点,理由是什么?

反对者的观点	支持者的观点
1. 抗虫棉使棉铃虫寄生性天敌——寄生蜂数量大大减少。	1. 使用化学杀虫剂,棉铃虫被杀死了,也会导致寄生蜂数量减少。
2. 抗虫棉使棉蚜、红蜘蛛、盲椿象、甜菜夜蛾等次要害虫上升为主要害虫。	2. 抗虫棉主要针对某些害虫,由于少打农药,其他害虫上升是自然的。化学杀虫剂也有选择性,一种害虫被杀死,另一些就会抬头。
3. 抗虫棉田中昆虫群落的稳定性低于普通棉田,某些害虫爆发的可能性更高。	3. 这只是一种推测,没有科学数据足以支持这一结论。
4. 室内观察和田间监测都已证明,棉铃虫对抗虫棉可产生抗性。	4. 目前没有发现棉铃虫对抗虫棉产生了抗性,有必要对此进行长期监测。
5. 抗虫棉在后期对棉铃虫的抗性降低,所以棉农还要喷 2~3 次农药。	5. 如果不种抗虫棉,喷药次数可达 15~20 次。
6. 现在还没有有效的措施来消除和延缓棉铃虫对抗虫棉产生抗性。	6. 目前有研究证明新育成的转基因抗虫棉品种可以延缓棉铃虫的抗性。

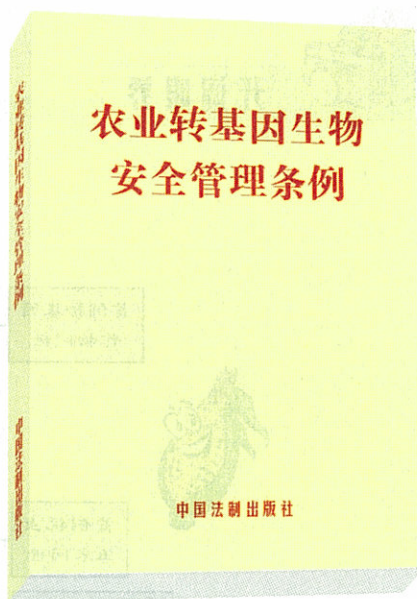
### ● 转基因生物的风险防范措施

如何在确保安全的前提下,积极地研究、开发和利用好转基因技术,科学家以及各国政府和国际组织都在积极寻找对策。世界主要发达国家和部分发展中国家都已制定了各自对转基因生物的管理法规,负责对其安全性进行评价和监控。如美国是在原有联邦法律的基础上增加转基因生物的内容,分别由农业部动植物检疫局、环保署及联邦食品和药物局(FDA)负责环境和食品两个方面的安全性评价和审批。由于各国在法规和管理方面存在着很大的差异,特别是许多发展中国家尚未建立相应的法律法规,一些国际组织也在积极组织国家间的协调,试图建立多数国家(尤其是发展中国家)能够接受的生物技术产业统一管理标准和程序。但由于存在许多争议,目前尚未形成统一的条文。

在我国,对于转基因生物的安全性评价(safety assessment)及监控工作也在顺利进行,国家科委在1993年12月颁布了《基因工程安全管理办法》。1996年7月农业部又颁布了《农业生物基因工程安全管理实施办法》。按照这一《实施办法》的规定,农业部设立了农业生物基因工程安全管理办公室,并成立了农业生物基因工程安全委员会,负责全国农业

生物遗传工程及其产品的中间试验、环境释放和商品化生产的安全性评价。2001年5月，国务院又颁布了《农业转基因生物安全管理条例》，规定由国务院农业行政主管部门负责全国农业转基因生物安全的监督管理工作，并在国务院建立农业转基因生物安全管理部际联席会议制度，负责研究农业转基因生物安全管理工作中的重大问题。《条例》规定国家对农业转基因生物实行分级管理评价制度。

总之，只要科学家严格地遵守科学道德，对转基因生物进行严格、科学的安全评价，各国政府的相关部门加强监控，我们完全可以控制转基因技术可能带来的风险，使之造福于全人类。



### 自我检测

1. 请你以一位科学家的名义，写一篇短文，向公众介绍转基因生物。
2. 作为一名普通消费者，你将如何面对商店里出现的越来越多的转基因食品？写一篇短文，谈谈你的想法。

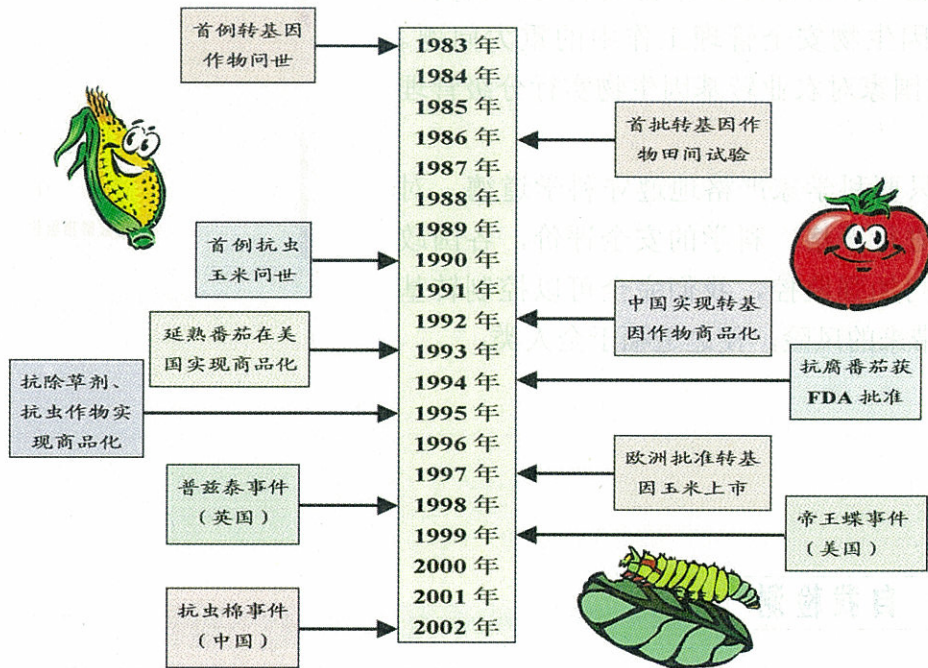


### 课外实践

搜集资料，了解当前转基因作物在我国和世界各地的种植状况，以及各界人士对转基因作物安全性的最新见解。



### 转基因作物大事记



## 第2节 生物技术中的伦理道德问题

1984年凯琳因病摘除了子宫，她和丈夫非常想要孩子，打算寻找无血缘关系的女性作代理母亲，但又担心代理母亲不肯将孩子交给他们。凯琳48岁的母亲，提出愿意作代理母亲。于是，1987年1月凯琳的卵和丈夫的精子在体外结合，受精后被植入母亲的子宫内。1987年10月1日，凯琳的母亲产下三胞胎。这些婴儿应该如何称呼凯琳的母亲，是母亲还是外祖母？这件事对传统伦理产生了一定的冲击。那么，生物技术的发展带来了哪些伦理道德问题呢？

### ● 生物技术是把双刃剑

近几十年来，人类在生物技术领域已经取得了巨大的进步。在按人类的需要改造自然方面，生物技术发展迅速，成效显著，但同时也存在着对人类社会的潜在危害。与任何科学技术一样，生物技术也是一把双刃剑，使用不当，受伤的将是人类自己。

在农业领域，生物技术带来了农业的革命，但也存在一些问题。例如，生物技术的应用有可能使农作物的栽培品种大大减少。在畜牧业领域，也有类似的问题，比如，胚胎工程和克隆技术的应用，使人们能够实现对生物种群的性别比例进行控制。但这样一来，势必造成种群性别比例的失衡，从而造成自然生态失衡。当生物技术应用于人类时，有可能带来我们意想不到的问题。

## ● 生物技术带来的道德问题

随着人类基因组计划的重大突破，个人的遗传信息有可能被破解并记录在案，这就使基因歧视(gene discrimination)的发生成为可能。基因歧视是指社会各方面对有基因缺陷的人的歧视性对待。例如，在基因上易患癌症、心脏病和其他病症的人，极有可能在就业、提升、人寿保险和其他选择上遭到拒绝；在爱情、婚姻和社交方面遭遇无法克服的障碍。而且这种基因歧视将使我们的周围出现新的弱势群体，会带来许多不公平的社会问题。



### 阅读与分析

阅读完下面这篇报道后，说说你对这件事有什么看法。在你的亲戚朋友或周围的其他人当中，有没有人遭遇到类似的歧视？如果你是一个有基因缺陷的人，当遭遇他人歧视时，心情会是怎样的？又会作出怎样的反应？

美国公平就业机会委员会于2001年年初将美国北圣菲铁路公司告上法庭，要求这家公司停止对其雇员进行基因缺陷检测。这是美国首例与工作场所基因隐私和基因歧视有关的法律纠纷案。

据此间媒体报道，公平就业机会委员会在向艾奥瓦州苏城地方法院提交的诉状中说，北圣菲铁路公司从部分雇员身上采集血样，然后进行基因缺陷检测，这种把基因检测结果作为员工录用基础的做法违反了美国残疾人法案，应该立即禁止。公平就业机会委员会说，北圣菲铁路公司是首批承认对雇员做基因检测的公司之一。

该委员会在一份声明中说，“在科学和技术进步的同时，我们必须保持警惕，确保新的科技成果不被用于侵害劳动者的权利”。

有4万多雇员的北圣菲铁路公司说，公司没有强迫雇员进行基因检测，但承认让一些反映得了“腕隧道综合征”这种职业病并要求赔偿的工人做过这类测试。公司表示将在今后两个月内停止检测，并利用这段时间来评估一下目前的基因检测情况。

自从科学家宣布绘制出人类基因组草图后，关于工作场所基因隐私的争议日益激烈，不过争论仍停留在理论阶段。这一案例的出现意味着这方面的问题已不再是纸上谈兵。

出于担心基因检测将使一些体质差、易于受伤或患病的人不被用人单位雇用，美国22个州已经通过了禁止在录用员工时借助基因检测做决定的法案。



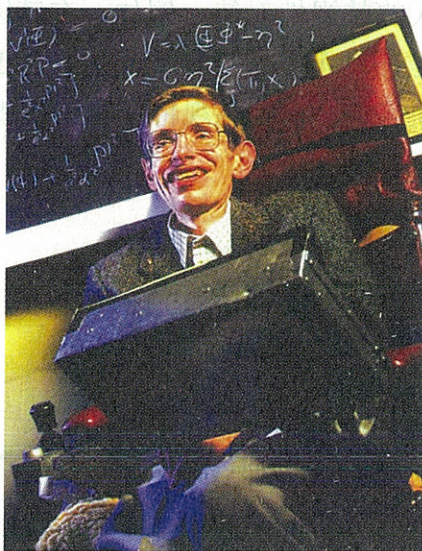
其实，每个人的基因都不可能是十全十美的，会有这样或那样的缺陷。基因多样性的存在，是一种非常自然的事情。任何人，不论其基因组成如何，在人权上都是平等的。任何歧视性做法，都是与现代文明社会的道德准则相背离的。

遗传基因研究的成果，使我们对于生命本质的认识更加深入和精确。但是也使一些人陷入了某种误区，认为基因是万能的，基因可以解释一切，人能干什么、成为什么样的人都是由基因决定的；还有人认为通过基因修补和改良，人类所有不治之症将被攻克，甚至将来不会患病，医生全得改行。凡此种种，均为“基因决定论(gene determination)”的表现。

基因真的能在人出生前就决定其一生的命运吗？事实上，许多带有所谓“坏基因”的人，并没有因此而成为无用的人，而是同样为社会作出了应有的贡献，有的甚至成为著名的科学家、文学家、艺术家。如霍金(S. Hawking, 1942— )就是一位肌萎缩侧索硬化症患者，但他却在宇宙起源等方面提出了一系列伟大学说，成为著名的物理学家。由此可见，一个人的智力、性格等不只受基因的控制，还会受到环境、社会等因素的多重影响。

另外，遗传信息被滥用还会导致社会和政治事件的发生。由遗传基因引起的种族仇视、性别歧视和年龄歧视也必然会成为更严重的全球性问题。政治野心家、战争狂人、宗教极端分子、恐怖集团和精神变态者，都有可能把遗传密码作为实现其邪恶目的的手段。

目前科技发展正成为人类文明的核心，因此，我们对科技成果影响人类文明的方式必须予以高度关注，对其偏离正确方向的可能性必须时刻保持警惕。



霍金

## ● 生物技术面临的伦理问题

1972年，基因工程研究刚刚起步，诺贝尔化学奖得主、美国斯坦福大学教授伯格(P. Berg, 1926— )将猴瘤病毒 SV40 DNA 与大肠杆菌质粒 DNA 通过剪切后拼接在一起，人工构成了第一个重组 DNA 杂交分子。但是有科学家提醒伯格：SV40 具有致癌性，带有 SV40 的细菌大量增殖有可能成为传播人类肿瘤的媒介，产生严重后果。伯格接受了他人的建议，停止自己的研究并在《自然》杂志上发表了“伯格信件”，呼吁全世界的科学家在重组 DNA 分子潜在危害尚未弄清或尚未找到适当的防护措施之前，应自动停止生产剧毒物质基因以及自然界尚不存在的抗药性组合的基因扩增实验，应当停止致癌基因的扩增实验。从此，科学家在基因工程研究中，面临着尖锐的矛盾：是在新的生命科学发现之前止



### 小资料

生命伦理学是应用规范伦理学的一个分支学科，是对医学伦理学的扩展，是用伦理学来解决生物医学技术引起的难题和挑战的一门新兴学科。生命伦理学的兴起和迅速发展，反映了人类对新技术的使用进行社会化控制的要求。

步，还是置伦理于脑后呢？虽然以后的研究证明“伯格信件”对基因重组技术的危险性估计过高，但由此引发的争论却有着深远的积极意义。

### 干细胞研究

关于胚胎干细胞研究尚存争论，争论的焦点在于人类胚胎的伦理地位问题，即关于胚胎是不是一个“人”的争论。随之而来的诸多问题，如是否可以制造、操纵、毁掉胚胎？什么时期的胚胎可以用于以上的研究应用？用什么样的胚胎进行研究？在运用干细胞进行研究应用时，这些问题必须得到解决。

现在国际公认，可以用干细胞来治疗目前尚无法治疗的重大疾病(图 5-3)，但必须使用“多余的”、“没有可能发育成个体的”、“不是特定用来得到干细胞的”早期胚胎细胞。但是，干细胞坚决不能用于生殖和克隆人研究。

### 克隆人

1996年7月5日克隆羊多莉诞生。克隆羊多莉是人们首次成功用体细胞克隆出的动物个体，它的问世实现了真正意义上的生物复制，标志着生命高科技领域进入了一个新的阶段。此后，体细胞克隆牛、鼠、山羊、猪、猫和兔也相继诞生。克隆技术为解决目前在基础医学、药学和畜牧业生产等领域棘手的难题，为保护地球生物多样性等开辟了一条独特的途径。在克隆技术给人类带来福音的同时，能否运用无性繁殖手段克隆人的问题也成为自然科学家、伦理学家和法学家争论的焦点，引起各国政府的高度重视。

生殖性克隆人面临着众多伦理问题。克隆人违背了生命伦理学的基本原则，即不伤害、有利、尊重和公正的原则。克隆人是反自然、反进化、反社会的，违背生命和谐的原则。

针对生殖性克隆人，国际组织和各国政府纷纷制定政策和法规禁止生殖性克隆人实验。欧洲理事会在1997年4月通过了《人权与生物医学公约》，公约指出禁止为了单纯研究的目的创造人类胚胎。1997年5月，在第50届世界卫生大会上，191个成员国一致通过反对克隆人的决议，指出将克隆技术用于人体个体复制，无论在道义上还是伦理上都不能被接受，人体克隆技术违背了人类的尊严和道德观。决议还呼吁有关人员自觉避免参加克隆人的研究活动。联合国教育、科学及文化组织在1997年11月通过《世界人类基因组与人权宣言》规定禁止进行与人类尊严相违背的生殖性克隆人实验。1998年1月，19个国家和组织在巴黎共同签署了严格禁止克隆人实验的《欧洲理事协议》。

我国政府于1997年就明确表示了反对克隆人研究。2001年10月在联合国教育、科学及文化组织会议上，我国政府表示坚决反对克隆人，不支持任何生殖性克隆实验。2003年12月，我国科学技术部和卫生部联合发布了《人胚胎干细胞研究伦理指导原则》，当中明确规定“禁止进行生殖性克隆人的任何研究”。我国不赞成、不允许、不支持、不接受



图 5-3 等待进行造血干细胞移植的白血病小患者

任何生殖性克隆人实验。

### 选择性生育

人类基因组计划研究对大多数普通人来说，除了看到可以通过基因治疗手段治病，更希望通过基因技术改造自己。那么，能否通过生物技术，生育出一个包含所有“优秀基因”，不含任何“坏基因”的十全十美的“完人”呢？事实上这是不可能的。许多专家认为，人类的基因没有好坏之分，所有的基因都是有用的，这是基因的多样性决定的。而且，如果将基因研究成果用于改良人种，也是违反人伦的，无异于当年希特勒的种族灭绝行径。

### ● 倡导科学伦理，发展科学技术

倡导科学伦理，并非是要阻碍科学技术的发展，而是要最大限度地减少科学技术给人类带来的伤害。在科学技术的发展过程中，科学家应该同时考虑与技术相关的社会、伦理和法律问题，而且他们以及他们的研究也需要民众的了解和支持。其实生物技术所引发的伦理道德问题，并非生物技术本身的问题，而是如何利用它的问题。科学技术只是工具和手段，功能的发挥取决于使用它的人。新技术的诞生所引发的伦理之争，正是人类自觉规范自身行为的体现，可以防止少数不负责任的科学家和大恶之人的胡作非为。我们必须提倡科学家要“约束自我，尊重人类”，要有高度的社会责任感，同时更期望健全相应的法律，以保证科学技术的健康发展。



### 热点讨论

就是否应该克隆人举行一场辩论会。正反双方就这一问题充分说明自己的理由，做到证据充分、逻辑严密。



### 自我检测

1. “生物技术是一把双刃剑”，谈谈你对这句话的认识。
2. 面对生物技术引发的伦理问题，如果你是一位科学家，会做出什么反应？如果你是一位普通民众，又会如何呢？

## 第 3 节 生物武器对人类的威胁

生物武器素有“瘟神”之称，是国际社会全力禁止的一类武器。那么，生物武器到底是一种什么样的武器，会对人类产生哪些危害呢？为什么国际社会要全面禁止研制和生产生物武器呢？

### ● 什么是生物武器

生物武器(biological weapon)是指有意识地利用致病微生物、毒素、昆虫侵袭敌人的军队、人口、农作物或牲畜等目标，以达到战争目的的一类武器。生物武器一般由致病微生物、毒素、昆虫以及装载它们的容器和投掷物组成，其中起伤害作用的微生物、毒素又称生物战剂(biological agent)。

生物武器的使用历史相当久远。早在 2000 年前，罗马人就通过将动物死尸抛入水井、污染敌人水源的方法，置敌人于不利局面，这可以说是最早的生物武器。历史上比较著名的利用生物武器赢得战争的案例还有鞑靼人与卡法人的战争。1346 年，鞑靼人围攻卡法人的城市，用抛石机将鼠疫病人的尸体抛入城内。结果疾病不仅使卡法人屈服，而且据医学史专家推测，这一事件还导致了在 1347 年至 1351 年间，鼠疫传染病(黑死病)横扫整个欧洲，死亡人口达 2 500 万。另外，日本在侵华战争期间，曾在战俘和中国平民身上试验生物战剂(图 5-4)。为了传播鼠疫，他们在中国 11 个城市抛撒感染病菌的跳蚤，结果造成了鼠疫在中国的流行，致使大量人员伤亡。



图 5-4 日本在中国从事生物武器研究的 731 部队遗址

### ● 生物武器对人类的危害



#### 思考与讨论

1. 根据你掌握的资料，说一说第二次世界大战期间生物武器对我国军民的危害。
2. 根据已有知识，说一说生物武器对人的伤害与常规武器、化学武器和核武器相比有哪些特点。

生物武器与常规武器相比，对人更具危害性，其特点概括如下：

**致人生病，造成失能或死亡** 各种生物战剂的致病作用不同，有的可造成失能，有的可导致死亡，但没有绝对的界限(图 5-5)。失能战剂可引起受害者较重的症状，如发烧、无力、局部或全身疼痛等，甚至需要住院治疗，在一段时间内失去工作能力，病死率一般较低。致死性战剂引起症状严重、病死率高，但也可因个体抵抗力强或治疗及时，只引起失能。不同的生物战剂引起的疾病，其病程长短和治疗的难易也不相同。

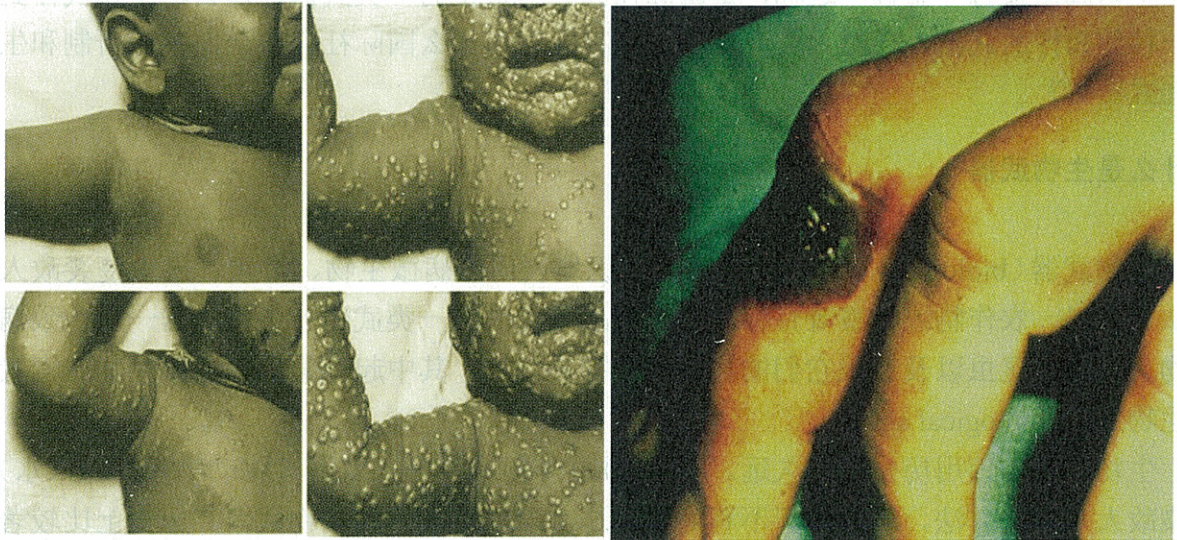


图 5-5 感染天花的婴儿和感染炭疽热的手部症状

**传染性强，持续时间长** 有些生物战剂可引起人与人之间的传染，这是其他武器所没有的效果。病源微生物从感染到出现症状一般需要 24h 到 6 周的潜伏期，而不像其他武器那样攻击过后效果立刻显现，这就意味着生物武器能持续地、长时间地攻击对方。它所引发的传染性疾病的流行，会长期危害人的健康。

**杀伤范围大，难防难治** 当施放生物战剂气溶胶时，在气象、地形适宜的条件下可造成较大范围的污染。空气、水源、食品、昆虫等都有可能成为生物战剂的传播载体。同时潜伏期的存在意味着当人们察觉之时，袭击早已实施，这就为偷袭创造了条件，而且可能和自然爆发的疾病相混淆，这会给防御带来很大的麻烦。因此生物武器一旦为恐怖分子掌握，后果不堪设想。

由于生物武器造成危害的特殊性，生物袭击还可能导致军队和平民极大的恐慌情绪。例如，1991 年海湾战争期间，由于害怕伊拉克使用生物武器和化学武器，以色列特拉维夫机场的旅客们戴上了防毒面具(图 5-6)。这种恐慌情绪很可能使一座城市、一个地区、甚至一个国家陷于混乱或瘫痪状态。可见，生物武器对人的危害不仅是身体上的，还有心理上的。



图 5-6 戴防毒面具的旅客

## ● 生物武器的防范

生物武器虽然对人的危害巨大，但并非不可防范。生物武器的防护原则与一般的防护原则是一致的，主要措施包括：

1. 加强公共卫生管理，搞好各项卫生防疫工作，严密监视，加强监测，及时发现和消除可疑生物武器。

2. 普遍开展疫苗接种，使人群获得基础免疫力，增强抵抗疾病的体质。

3. 要早期发现、隔离和治疗病人，同时做好个人防护，如适时、正确地穿戴防毒面具和防护口罩、防护服等(图 5-7)。

4. 要保护好粮食、食物和水源。

5. 对污染区要进行隔离封锁，区内人员采取药物预防，并进行彻底的消毒处理。



图 5-7 身穿防护服的士兵

## ● 禁止研制开发生物武器

生物武器已经极大地威胁到人类的生存，因此制止生物武器在全球的扩散是国际社会面临的重大挑战之一。为此国际社会采取了一系列的措施。

1971年9月28日由美国、英国、苏联等12个国家联合向第26届联合国大会提出《禁止生物武器公约》草案，经联合国大会通过决议，决定推荐此公约。1972年4月10日该公约分别在华盛顿、伦敦和莫斯科签署。1975年3月26日公约生效。各国在自愿的基础上遵守该公约。1984年9月20日，中国决定加入此公约。1984年11月15日，中国分别向英、美、苏政府交存加入书，公约同日对中国生效。截至2003年11月，已有151个国家批准了该公约。

《禁止生物武器公约》的主要内容是：缔约国在任何情况下不发展、不生产、不储存、不取得除和平用途外的微生物制剂、毒素及其武器；也不协助、鼓励或引导他国取得这类制剂、毒素及其武器；缔约国在公约生效后9个月内销毁一切这类制剂、毒素及其武器；缔约国可向联合国安理会控诉其他国家违反该公约的行为。

## ● 生物武器与国际反恐斗争

和平与发展是当今世界的主题，国与国之间爆发大规模战争的危险在逐步减小，但是恐怖分子对平民的威胁不容忽视。生物武器一旦为他们掌握，其后果令人担忧。

1995年3月20日，东京地铁系统遭到了一个名叫奥姆真理教的邪教组织的化学战剂的袭击，导致12人死亡，5500人受伤。5节地铁车厢同时受到了一种叫做沙林的神



图 5-8 遭沙林毒气袭击后的东京地铁

经毒剂的袭击（图 5-8）。这是一起罕见的重大事件，因为它用一种致命的秘密气体袭击无辜平民，暴露了公众场合容易遭受攻击的弱点，在民众当中引起了极大的恐慌。3 月 28 日，在搜捕奥姆真理教的过程当中，东京警方还发现了大量的肉毒杆菌生物战剂。这一发现清楚地表明，恐怖组织决心利用生物战剂对毫无防备的平民实施可怕的生物攻击。

生物恐怖主义事件的发生，已经唤起了人们对文明社会处理此类不测事件能力的关注。生物恐怖主义是对文明社会的挑战，也是对我们的军事技术、医学技术和智慧的挑战。虽然我们有《禁止生物武器公约》这一阻止生物战的国际条约，但是，恐怖分子是不按规则行事的。生物技术的双重作用可以给生物武器的制造者们提供一个冠冕堂皇的保护伞，这一点尤其令人担忧。当前面临的主要任务是：(1) 技术部门开发出有效的生物武器探测设备及生物战剂净化剂(图 5-9)。(2) 医疗部门研制安全的和足够人们接种的疫苗。医生应努力做到快速诊断和有效治疗，并在面对生物武器袭击后出现大量病人时采取有效的应对措施。(3) 安全机关在收集有关生物战威胁的信息方面必须增强力度和敏感性，能及时发现和阻止恐怖分子的袭击。

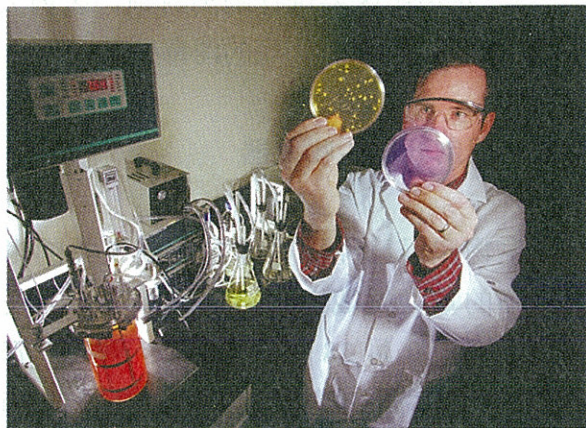


图 5-9 研究人员正在检查生物战剂净化剂的作用

所有这些，都是非常艰巨的任务。但是我们相信，善良的人们有正义和科学在手，一切邪恶终将被战胜。



### 自我检测

1. 说一说生物武器和常规武器相比,其危害的特殊性有哪些?
2. 生物武器的主要防护措施有哪些?
3. 国际社会为什么要禁止生物武器?

## 本章小结

转基因作物的种植为提高农业效益、改善人们的生活作出了巨大的贡献，但它可能具有潜在的安全性问题，已引起人们的高度关注。人们关注的重点是转基因作物的环境安全性和转基因食品的安全性。科学家认为，只要做好转基因作物的安全评价工作，问题是可以解决的。世界各国政府以及国际组织都在积极寻找对策，以确保在安全的前提下，研究、开发和利用好转基因技术。

生物技术是把双刃剑，既可为人类带来益处，也存在着潜在的危害。我们必须警惕对遗传基因滥用导致的基因歧视和基因决定论，同时对于诸如干细胞研究、克隆技术等生物技术所带来的伦理难题应给予足够的关注，确保科学技术的健康发展。科学技术只是工具和手段，功能的发挥取决于使用它的人。

生物武器是指有意识地利用致病微生物、毒素、昆虫侵袭敌人的军队、人口、农作物或牲畜等目标，以达到战争目的的一类武器。生物武器的危害性表现在：致人生病，造成失能或死亡；传染性强，持续时间长；杀伤范围大，难防难治。因此，国际社会采取了一系列措施全面禁止生物武器。1972年，联合国大会通过了《禁止生物武器公约》。



## 中英文词汇对照表

DNA 重组技术	DNA recombinant technique
安全评价	safety assessment
单克隆抗体	monoclonal antibody
蛋白质工程	protein engineering
动物细胞工程	animal cell engineering
复种	succession of crops
花粉管通道法	pollen-tube pathway
化学合成法	chemical synthesis method
基因工程	gene engineering
基因决定论	gene determination
基因歧视	gene discrimination
基因枪	particle gun
基因敲除	gene knock out
基因芯片	gene microarray
间作	companion cropping
精子	sperm
克隆	clone
连接酶	ligase
氯化钙法	calcium chloride method
卵细胞	egg cell
目的基因	target gene
囊胚	blastula
内细胞团	inner cell mass
农业	agriculture
胚胎发育	embryonic development
胚胎分割	embryo division
胚胎干细胞	embryonic stem cell
胚胎工程	embryo engineering
胚胎培养	embryo culture
胚胎移植	embryo transplantation
胚胎移植技术	embryo transplantation technique

人工授精	artificial fertilization
桑椹胚	morula
生态工程	ecological engineering
生态位	niche
生物多样性	biodiversity
生物武器	biological weapon
生物战剂	biological agent
生殖细胞	germ cell
食物链	food chain
受精	fertilization
水土流失	soil and water loss
套作	double cropping
限制性内切酶	restriction enzyme
雄性激素	androgen
胰岛素	insulin
原肠胚	gastrula
运载体	vector
沼气	biogas
质粒	plasmid
植物体细胞杂交	plant somatic hybridization
植物细胞工程	plant cell engineering
植物组织培养	plant tissue culture
转化 DNA	transfer DNA
转基因漂移	transgene drift
转基因生物	genetically modified organism
转基因食品	genetically modified food
转基因作物	genetically modified crops

## 附录 II

### 书海拾贝

1. 《植物组织培养》 潘瑞帜著 广东高等教育出版社 2001 年
2. 《植物组织培养教程》 李浚明著 北京农业大学出版社 1992 年
3. 《改造生命之舟——细胞工程》 邵健忠 陈晓萍 边红武著 浙江大学出版社 2002 年

4. 《复制生命——人类与克隆》 代天宇著 科学普及出版社 2000年
5. 《人体密码的破译》 刘植义 刘一婷 朱正歌著 河北科技出版社 2002年
6. 《转基因作物的安全性争论与事实》 樊龙江 周雪平著 中国农业出版社 2001年
7. 《科技大反扑》 刘焯主编 民族出版社 2000年
8. 《基础生命科学》 吴庆余著 高等教育出版社 2002年
9. 《普通生物学》 陈阅增著 高等教育出版社 1999年
10. 《克隆技术》 李建凡著 化学工业出版社 2002年
11. 《探索生命》 陈秀兰著 河北少年儿童出版社 1999年
12. 《中国的农业生态工程》 马世骏 李松华主编 科学出版社 1987年
13. 《生态工程》 云正明等著 气象出版社 1998年
14. 《有机农业生态工程》 席运官 钦佩著 化学工业出版社 2002年
15. 《农业生态工程与技术》 杨京平主编 化学工业出版社 2001年
16. 《城市生态学》 杨小波等编著 科学出版社 2000年
17. 《基因的故事》 陈章良主编 北京大学出版社 2000年
18. 《基因经济分割绿色黄金》 阎维毅等著 中国广播电视出版社 2001年
19. 《PCR传奇》 保罗·拉比诺著 朱玉贤译 上海科技教育出版社 1998年
20. 《破译生命密码——基因工程》 周雪平等著 浙江大学出版社 2002年