普通高中教科书

生物学

选择性必修 3

生物技术与工程

上海科技教育出版社

普通高中教科书

生物学

选择性必修 3

生物技术与工程

上海科技教育出版社

编写人员名单

主　　编　张新时

执行主编　张可柱

分册主编　何兴明　石　建

编著者（以姓氏笔画为序）

汤　洋　汪绍鑫　陈　亮　郑达钊

赵广宇　唐志哲　梁江遊　彭小敏

熊　硕

审　　读　王仁卿　李文军

致同学们

“葡萄美酒夜光杯，欲饮琵琶马上催。”“兰陵美酒郁金香，玉碗盛来琥珀光。”唐朝诗人这些充满豪情的诗句，说明唐代的酒文化已经相当发达。我国先民早在 4000 年前的龙山文化时期就掌握了发酵酿酒技术，至少在 3000 年前的周朝，人们就已在利用微生物发酵制取酱、豉和醋。

古老的酿造技术只能利用天然的发酵过程为人类服务，而现代生物技术与工程则可以按需改造现有的生物，甚至创造出全新的生物类型。20 世纪 70 年代以后，发酵工程、细胞工程、基因工程等取得了突飞猛进的发展。例如，现代生物技术开始利用生物芯片等寻找致病基因，甚至能采取基因治疗手段，为根治疾病带来了希望；基因工程和细胞工程应用于农作物技术，能够带来抗虫害、抗冻和改善作物品质等益处，还能使高品质经济植物的产量得到极大提升；此外，工业菌种发酵工程已替代了一些传统化工工艺，开启新型绿色工业之门。现在，现代生物技术与工程已经广泛应用于工业、农牧业、医药、环保等方面，产生了巨大的经济效益和社会效益。但与此同时，现代生物技术与工程产生的伦理问题和安全问题，也给人类社会带来了前所未有的冲击和挑战。

本模块是高中生物学选择性必修 3《生物技术与工程》，包括发酵工程、细胞工程、基因工程以及现代生物技术安全与伦理。同学们通过学习，可加深对必修内容的理解，并在动手实践中了解生物技术与工程的基本原理、获得基本知识，同时理解必须在法律和伦理的约束下，以人类需求为目标进行产品开发，进而推动生物学不断进步，提高人类生活质量。

为了大家更好地学习，这一模块精心设立了如下栏目：

第三章　基因工程赋予生物新的遗传特性

《百鸟朝凤图卷》局部图（清 佚名）

“炎黄子孙”是海内外华人引以为荣的自我称谓。炎帝和黄帝并称中华始祖，关于他们的神话传说很多。相传黄帝统一天下后，他看见一只带有五彩锦毛的大鸟在天空翱翔，数不清的奇异鸟围着它翩翩起舞，这就是我国古代传说“百鸟朝凤”。据《尔雅·释鸟》所记载，凤凰形体为“鸿头、蛇颈、燕颔、龟背、鱼尾、五彩色，高六尺许”。凤凰是祥瑞、和谐的象征，是华夏民族的精神图腾。虽然具有多种动物特征的凤凰只存在于传说之中，但是现在科学家运用基因工程技术，确实能将一种生物的基因转入另一种生物体内，并使后者表现出原本不具有的特殊性状。怎样才能实现基因在不同物种之间转移和表达？这种新技术将对生命世界带来哪些奇妙的变化？

1956 年科恩伯格实现 DNA 的体外复制
1972 年伯格实现 DNA 的体外重组
1973 年科恩和博耶实现质体外基因的复制和表达
1978 年史密斯发明首项专属定点诱变技术
1983 年穆利斯发明聚合酶链式反应技术
1983 年植物转基因技术取得重大进展
1989 年卡佩奇等创立小鼠的基因打靶技术

70

章首页　精美的图片和富有深意的章引言，让同学们带着问题出发，逐步学习一章的主要内容；以时间轴形式呈现的科学史，一目了然地呈现与本章学习内容有关的重要科学发现。

课题研究

课题研究　通过一个探究实验、调查研究活动或者模型制作活动等项目实现任务驱动，引领全章内容的学习。

探究活动

探究活动　通过实验探究、资料探究、社会考察、经典再现、模型建构、方案设计、观点碰撞等形式引领同学们针对特定的主题进行观察提问、实验设计、方案实施、分析讨论，逐步增强对自然现象和社会现实的好奇心与求知欲，掌握科学探究的基本思路和方法，培养主动学习与思考的品质。

阅读空间

阅读空间　提供一些趣味性的自主阅读资料，既与正文相呼应，又引领同学们将学习与生活实际密切联系。

思维训练

思维训练　通过模型建构、曲线解读等形式，认识事物，探讨、阐释生命现象及其规律，进一步发展科学思维。

学业检测

学业检测　每节正文之后，以核心素养为指向，围绕本节内容精心设计一组自评自测题，促进学习目标内化和巩固，便于同学们自我反馈、自我评价、主动发展。

学业要求

学业要求　聚焦生物学大概念，关注生物学学科核心素养，以表格的形式，简洁明了地将本章有关的课程标准内容要求和活动要求按一定逻辑呈现出来，有助于同学们将学习内容结构化联结，以提升本章内容学习水平。

视野拓展

视野拓展　包括时代亮点、历史长河、榜样人物、科学生活和绿色视野等，展现与本章内容有关的最新研究进展，回顾重大历史发现，介绍榜样人物的高贵品质，为同学们提供更多的学习意义启发。

CONTENTS 目 录

第一章　发酵工程利用微生物进行规模化生产 ……2

课题研究——尝试培养微生物 ……3

第一节　无菌技术和制备培养基是培养微生物的基础 ……4

一、防止杂菌污染的技术 ……4

二、配制适合微生物生长繁殖的营养基质 ……6

第二节　获取纯净的微生物培养物 ……10

一、从微生物群体中分离出目标微生物 ……10

二、培养特定微生物群体 ……11

第三节　测定微生物的数量 ……16

一、间接计数法 ……16

二、直接计数法 ……20

第四节　发酵工程为人类提供多样的生物产品 ……22

一、运用传统发酵技术生产食品 ……22

二、利用发酵技术工业化生产产品 ……25

第二章　细胞工程通过细胞水平的操作获得产品 ……32

课题研究——观察多肉植物的叶插繁殖过程 ……33

第一节　植物细胞工程包括组织培养和体细胞杂交等技术 ……34

一、组织培养技术将外植体培育成新植株 ……34

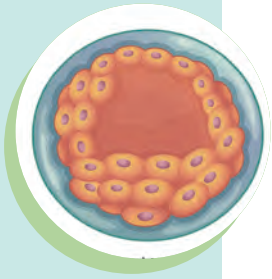
二、体细胞杂交技术使两种细胞融合育出新植株 ……40

三、植物细胞工程的应用提高了生产效率 ……41

第二节　动物细胞培养是动物细胞工程的基础 ……44

一、动物细胞培养经历原代培养和传代培养 ……44

二、动物细胞培养需要适宜的外部条件 ……45



第三节　利用动物细胞融合技术可制备单克隆抗体 ……50

一、细胞融合技术使不同细胞结合成一个细胞 ……50

二、细胞融合技术是单克隆抗体制备的重要技术 ……51

第四节　核移植和干细胞技术具有广阔的应用前景 ……55

一、核移植技术可实现动物体细胞核的全能性 ……55

二、干细胞技术的发展和应用 ……58

第五节　胚胎工程可处理早期胚胎获得目标个体 ……62

一、胚胎形成经过了受精及早期发育等过程 ……62

二、胚胎工程有广阔的应用前景 ……65

第三章　基因工程赋予生物新的遗传特性 ……70

课题研究——模拟DNA分子的剪切和拼接 ……71

第一节　基因工程是一种重组 DNA 技术 ……72

一、生物科学与技术的发展催生了基因工程 ……72

二、重组 DNA 技术需要三种基本工具 ……73

三、基因工程的基本操作程序 ……74

第二节　基因工程的广泛应用改善了人类的生活品质 ……80

一、基因工程赋予农作物新的优良性状 ……80

二、基因工程在畜牧业、渔业上应用前景广阔 ……83

三、基因工程在医学领域贡献巨大 ……84

第三节　蛋白质工程是基因工程的延伸 ……88

一、根据基因工程原理设计和改造蛋白质 ……88

二、蛋白质工程可改变蛋白质的性状和功能 ……91

第四章　现代生物技术引发的安全与伦理思考 ……96

课题研究——调查消费者对转基因产品的了解和接受程度 ……97

第一节　转基因产品的安全性引发广泛关注 ……98

一、转基因产品引发安全争议 ……98

二、努力保障转基因产品的安全 ……100

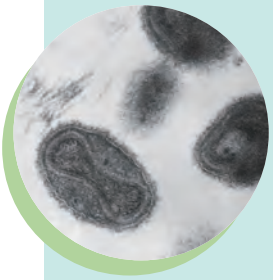
第二节　世界范围内应全面禁止生物武器 ……104

一、生物武器对人类造成威胁与伤害 ……104

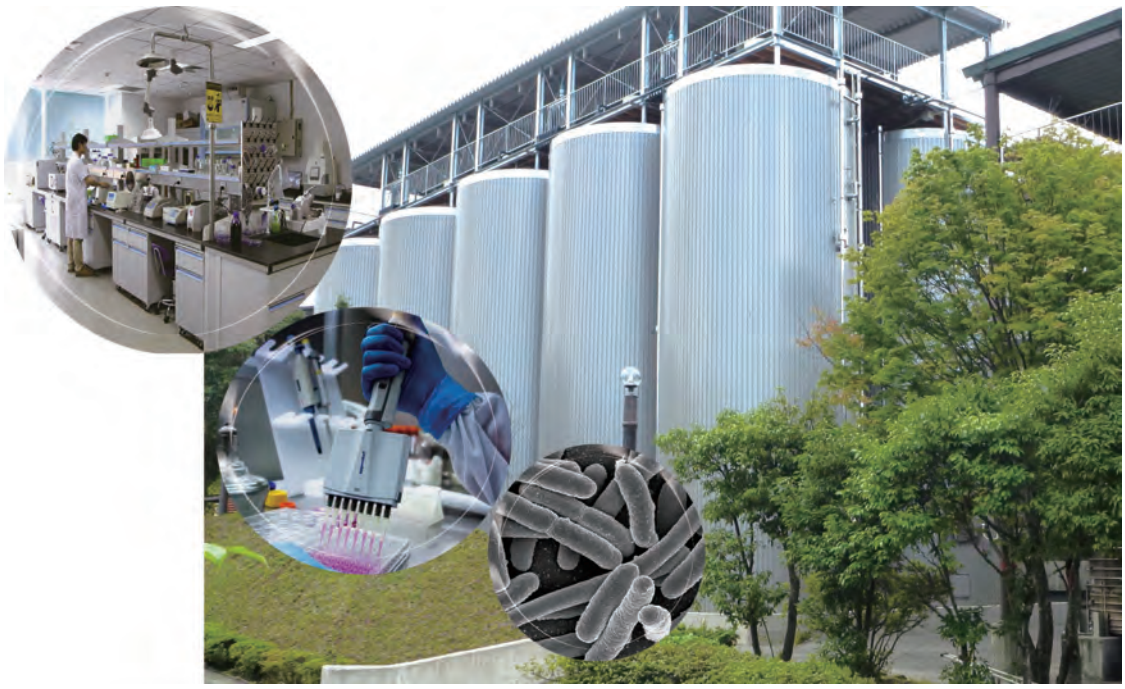
二、生物武器比常规武器更具危害性 ……105

三、针对生物武器的特点进行防护 ……107
四、我国反对生物武器及其技术和设备的扩散 ……108
第三节 关注生物技术带来的伦理问题 ……110
一、生殖性克隆人引发伦理风波 ……110
二、我国禁止任何生殖性克隆人实验 ……112
三、其他生物技术也面临诸多伦理问题 ……113

附录一 实验室规则 ……116
附录二 部分培养基配方 ……117
附录三 现场救护的基本原则 ……119



第一章　发酵工程利用微生物进行规模化生产



从繁华的都市到苍凉的沙漠，从生机勃勃的热带雨林到人迹罕至的北极冰川，从空气稀薄的高空到压力巨大的深海，从生物的体表到体内，处处都有微生物的踪迹。这些人类肉眼看不见的生命在地球的物质循环和能量流动中，起着不可或缺的作用。人类文明发展的历史也与微生物息息相关，人们利用微生物获得酒、醋、面包等食物以及抗生素等多种药物，同时微生物也给人类带来麻烦甚至灾难。显微镜的问世，开启了人类认知微生物世界的大门，巴斯德（L. Pasteur）的实验奠定了现代微生物学的基础，使人类逐步认识并利用微生物。如今，微生物学与现代工程技术相结合发展为发酵工程，使传统发酵技术迈上了一个新的台阶，在修复环境、开发新能源和保障人类健康等方面发挥着无可替代的作用。那么，如何在实验室培养出所需的微生物？如何利用这些微生物的特定功能，规模化生产出对人类有用的产品呢？

约公元前 6000 年早期酿酒工艺出现

公元 533—544 年贾思勰著《齐民要术》

公元 640 年马奶葡萄和葡萄酒酿制技术传入中原地区

1857—1885 年巴斯德创立细菌学说

1872 年科恩《细菌研究》出版

1982 年沃伦和马歇尔发现幽门螺杆菌可致胃病

课题研究

尝试培养微生物

从居住在人体肠道内，能为人类提供多种营养物质的益生菌群，到环伺在人体周围，随时会侵入人体兴风作浪的有害微生物，人们天天都在和微生物打交道。但由于微生物个体实在太小，人们往往无法感知它们的存在，只有借助显微镜才能目睹其真容。如果一个或几个微生物通过繁殖形成的成千上万甚至数百万个微生物聚集在一起，就能成为肉眼可见的“庞大”群体，便于人们开展研究。

提出问题

怎样制作营养基质，培养出肉眼可见的微生物群体？

制订并实施研究计划

1. 怎样制作营养基质？

- 查阅培养微生物的营养基质的种类。
- 查阅营养基质“皮冻”的制作方法。
- 购买相关材料自制“皮冻”。

2. 怎样获取环境中的微生物？

- 确定获取微生物的场所（如土壤、空气等）。
- 设计恰当的方法，将环境中的微生物转移至“皮冻”。
- 将含有微生物的“皮冻”放置在适宜的环境中，持续一定时间。

3. 如何进行观察记录？

- 查阅资料，明确判断微生物群体特征的方法。
- 观察“皮冻”表面是否出现微生物。
- 如果出现微生物，观察其中微生物群体的特点。
- 依据微生物的群体特征，设计表格进行记录。

成果交流

1. 以表格、照片和观察日志等方式展示实验结果。

2. 请教老师或专业人员，初步鉴定所培养微生物的种类。

3. 比较来自不同环境中的微生物，其种类是否有差异。

图 1-1　“皮冻”上的微生物群体

第一节　无菌技术和制备培养基是培养微生物的基础

图 1-2　手术前的消毒

100 多年前，伤口感染曾是外科医生面临的难题之一。如今，为防止病人在手术时被病菌感染，手术前需要对手术室进行灭菌和消毒，手术中使用的各种手术器械、用品也必须经过灭菌处理，连病人和医生也要进行消毒（图 1-2）。那么，除了医疗卫生领域外，还有哪些领域需要进行灭菌和消毒呢？人们是如何进行灭菌和消毒的？

一、防止杂菌污染的技术

微生物（microorganism）是肉眼看不见或者看不清的微小生物的总称，包括病毒、细菌、放线菌、真菌等。在自然环境中，微生物种类繁多、分布广泛。它们可以通过多种方式传播到生物体或者食物等基质上。如果要创造一个没有外来杂菌干扰的环境，就需要通过灭菌和消毒等技术来消除这些微生物。在微生物研究、医疗操作、食品生产中采取的防止其他微生物污染的技术，就是无菌技术（aseptic technique）。

灭菌方法

灭菌（sterilization）是指用强烈的理化因素杀死环境或物体内外所有的微生物，使微生物永远丧失其生长繁殖能力，常用的是高温灭菌法、紫外线灭菌法等物理灭菌法。

在微生物培养中，针对不同的实验用品需采用不同的灭菌方法。最常用的是高压蒸汽灭菌法（high pressure steam sterilization），将待灭菌的物品放入高压蒸汽灭菌锅（图 1-3）中，通过加热使蒸汽压达到 0.1MPa、温度为 121℃时，维持 20~30min，即可达到灭菌目的，此法适用于培养基、无菌水、工作服、玻璃器皿等物品的灭菌。

图 1-3　高压蒸汽灭菌锅

培养皿等玻璃器皿也可采用在 160~180℃的灭菌烘箱中放置 2h，利用热空气进行灭菌；

像接种环、接种针、镊子等金属用具，以及玻璃试管口、瓶口等适用于火焰灼烧灭菌。热空气灭菌、灼烧灭菌均属于干热灭菌法（dry heat sterilization）。

高压蒸汽灭菌法和干热灭菌法都是利用高温使微生物细胞内的蛋白质等活性物质变性，从而使微生物丧失活性，达到灭菌的目的。

针对无菌室和超净工作台等物体表面的灭菌，通常采用紫外线灭菌法（ultraviolet sterilization）。

消毒方法

消毒（disinfection）是指用化学、物理、生物等方法消除或杀灭外界环境中的致病微生物的措施。

煮沸消毒法是最常用的消毒方法，它是针对某些实验器具、餐具、饮用水等，采用在100℃煮沸5~10min的方法，达到消毒的目的。巴氏消毒法是指利用低于100℃的热力杀灭微生物的湿热消毒方法，广泛应用于牛奶、啤酒、人乳及婴儿合成食物等不能进行高温灭菌的液体的消毒。例如，将牛奶在62~65℃下维持30min消毒，可保证牛奶食用安全，且不失原本风味。还有化学药剂消毒法，如采用碘酒、体积分数为70%的酒精、双氧水、来苏尔等化学药剂，对实验室的空间、操作台表面、实验人员的工作服与手等进行消毒。

阅读空间

防　　腐

在微生物的研究和应用中，控制有害微生物的措施除了灭菌、消毒外，还有防腐。防腐是利用某种理化因素完全抑制微生物的生长、繁殖，以防止食品、生物制品等发生腐败的措施。防腐的方法很多，原理有所不同。

1. 低温：利用4℃以下的低温保存食物、生化试剂、生物制品、菌种等。

2. 缺氧：利用抽真空、充氮或二氧化碳等方法，防止食品、粮食等变质，达到保鲜的目的。

3. 干燥：采用晒干、烘干等干燥方法对粮食、食品等进行干燥保藏。

4. 高渗：通过盐腌和糖渍等高渗措施保存食物。

5. 高酸度：利用乳酸菌发酵产生乳酸，借助其酸度达到抑制杂菌、防止腐败变质的目的。

6. 高醇度：利用白酒、黄酒保存食品。

7. 防腐剂：在需要保存的对象中，加入适量的苯甲酸、乙二酸、山梨酸等防腐剂，以达到防止腐败变质的目的。

二、配制适合微生物生长繁殖的营养基质

微生物需要从生活环境中获取各种营养物质，以维持自身的生命活动。微生物代谢方式不同，因而对营养物质的需求也有差异。在培养微生物时，可根据微生物生长繁殖和代谢的需要，将各种营养物质混合在一起，配制成适合微生物生长、繁殖和产生代谢产物的营养基质——培养基（culture medium）。

实验探究

配制培养基

由于不同微生物的营养方式存在差异、实验研究的目的不尽相同，实验室配制的培养基营养成分、物理状态是不一样的。尽管配制的培养基类型不同，但是，配制的基本方法和操作步骤是基本相同的。

目的要求

1. 运用培养基配制的原理与方法，配制马铃薯葡萄糖琼脂（PDA）培养基，为酵母菌的纯化培养做准备。

2. 使用不同的无菌技术，完成培养基配制。

材料器具

去皮马铃薯、葡萄糖、琼脂、蒸馏水，滤纸、天平、药匙、纱布、量筒、搪瓷杯、玻璃棒、电磁炉、锥形瓶、棉塞、高压蒸汽灭菌锅、酒精灯、培养皿。

活动程序

1. 配制培养基

原料称量、溶解　根据培养基的配方，准确称取各原料成分（图 1–4 ①）并置于搪瓷杯中，加入适量蒸馏水，在电磁炉上边加热边搅拌（图 1–4 ②），以防琼脂糊底或溢出，直至琼脂完全溶解，然后加蒸馏水至 1000mL（PDA 培养基的原料称量、溶解步骤见附录二）。

调节 pH　配制培养基时，需要根据微生物的类群调节 pH。一般来说，细菌适合于中性环境，放线菌适合于偏碱性环境，而酵母菌和霉菌适合于微酸性环境。

先用精密 pH 试纸测定培养基的原始 pH，再滴加 1mol/L 的 NaOH 或盐酸溶液，边滴加边搅拌，并随时用 pH 试纸测试，直至达到所需 pH。

分装、包扎　将配制好的培养基分装到锥形瓶内（不超过其容积一半为宜）；用棉塞塞紧，棉塞外包一层牛皮纸或旧报纸（图 1–4 ③）。用记号笔注明名称、组别、日期。

灭菌　将洗净晾干的培养皿，用旧报纸进行包扎，每包 6~10 套，与配制的培养基一起放置于高压蒸汽灭菌锅中，121℃灭菌 20min。

2. 倒平板

倒平板前，实验操作人员先洗手，再用体积分数为 70% 的酒精消毒。用紫外线照射无菌室或者超净工作台，灭菌 20~30min，或用 70% 的酒精擦拭超净工作台表面。

倒平板的全过程需要在酒精灯火焰旁的无菌区进行操作。

待培养基冷却至 50℃左右时，右手持装有培养基的锥形瓶，在酒精灯火焰旁拔出棉塞（图 1–4 ④）。 右手拿锥形瓶，瓶口通过火焰，灼烧灭菌（图 1–4 ⑤）。左手持培养皿，将皿盖打开一条缝。右手将锥形瓶中的培养基约 15mL 倒入培养皿（图 1–4 ⑥）。立即盖上培养皿盖，待培养基冷却至凝固后，倒置平板备用。

① 称量

② 溶解

③ 分装

④ 拔出棉塞

⑤ 灼烧灭菌

⑥ 倒平板

图 1–4　制备培养基

分析讨论

1. 培养基配制后为什么要立即进行灭菌？
2. 已灭菌的培养基如何进行无菌检查？
3. 灭菌后制成的培养基为什么要及时使用？

实验室培养的微生物需要从培养基中获得各种必需的营养物质，培养基的营养成分通常包括 6 种营养要素（表 1–2）。

表 1–1　培养基中所含的微生物营养要素及其主要作用

微生物的营养要素	主要作用
碳源（carbon source）	能够提供微生物生长繁殖所需碳元素的营养来源。
氮源（nitrogen source）	能够提供微生物生长繁殖所需氮元素的营养来源。
能源（energy source）	能够为微生物生命活动提供最初能量来源的营养物质。
生长因子（growth factor）	对调节微生物正常代谢必需的、不能用简单的碳源和氮源自行合成的微量有机物，如维生素、含氮碱基等。
无机盐（mineral salts）	为微生物提供除碳源、氮源以外的其他各种重要元素。
水	微生物最基本的营养要素，在微生物生存中起重要作用。

配制培养基时，除满足微生物所需的营养物质外，还要有适宜的 pH 和渗透压。同时，还要根据研究目的的差异，配制不同物理状态的培养基。

培养基按照其物理状态划分，可分为液体培养基（liquid medium）、固体培养基（solid medium）、半固体培养基（semi-solid medium）。其中，固体培养基是将含有琼脂等凝固剂的培养基基质溶解、冷却后制成的凝固状态的培养基。在无菌培养皿中制成的固体培养基，也称为平板培养基。

从外界环境中获取营养物质是微生物的重要生理特征，科学配制培养基以适合培养特定微生物的需要，是进行微生物研究的基础。而无菌操作技术可防止其他微生物的污染，使培养单一种类的微生物成为可能，是开展微生物研究的保障。

学业检测

1. 大肠杆菌结构简单、繁殖迅速，是生物学研究中的重要实验材料。在实验室中常使用牛肉膏蛋白胨培养基培养大肠杆菌，牛肉膏主要含有多肽、氨基酸、核苷酸、无机盐、维生素等成分，蛋白胨则含有多肽、氨基酸等成分。

（1）根据牛肉膏和蛋白胨的成分分析，二者为细菌的生长和增殖提供的营养要素主要有 _____；如果需要配制固体培养基，还需要加入的物质是

_____。

（2）配制培养基的主要操作步骤有 _____。

（3）无菌技术是培养微生物的基础，下列的无菌操作措施不恰当的是（　　）。

A. 需要对实验操作的空间、操作者的衣着和手进行灭菌

B. 灼烧、高压蒸汽灭菌、紫外线照射等都属于无菌技术

C. 为避免环境中微生物污染，实验操作应在酒精灯火焰附近进行

D. 实验操作时应避免已经灭菌处理的材料用具与周围物品相接触

2. 法国微生物学家巴斯德在解决葡萄酒变酸的问题中，发明了巴氏消毒法，这种消毒方法已被广泛运用于牛奶、啤酒等不宜进行高温灭菌的食品生产，既延长了保存时间，又能保持食物风味。请根据所学内容，尝试回答下列问题：

（1）为了筛选出使酒变酸的微生物，需要制备培养基。培养基的配制需要遵循相关原则和操作规范，下列叙述不符合要求的是（　　）。

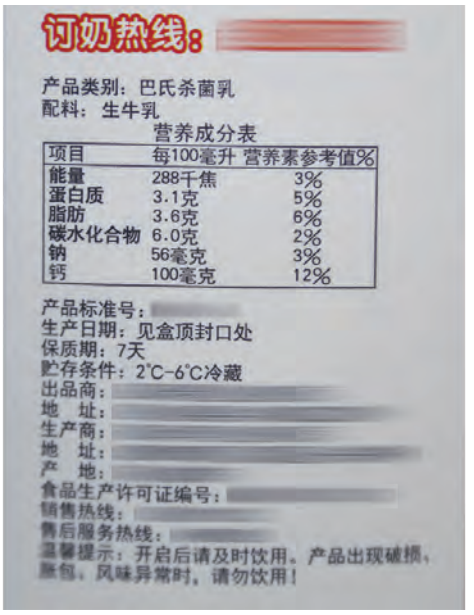
A. 配制的培养基用干热灭菌法灭菌

B. 培养基配制需要适宜的渗透压和 pH

C. 溶解琼脂需用玻璃棒不断搅拌以防糊底

D. 倒平板后需等待培养基凝固后将其倒置

（2）市售的牛奶中有部分是采用巴氏消毒法杀菌的，通常称为“巴氏杀菌乳”（如右图）。这种牛奶一般来说储存时间较短，其原因是什么？



3. 我们生活的环境中有很多微生物存在，有些微生物可能使人患病。为防止疾病传播和交叉感染，公共场所和家庭中常会采取一定措施进行消毒或灭菌。请列举公共场所和家庭中常见的消毒或灭菌的方法，并尝试解释这些措施的原理。

第二节　获取纯净的微生物培养物

图 1-5　幽门螺杆菌

一直以来，幽门螺杆菌（*Helicobacter pylori*，图 1-5）感染是慢性胃炎、消化性胃溃疡的主要病因。世界卫生组织报告，截至 2017 年，全球至少 37.5 亿人被感染，中国感染率超过 50%。幽门螺杆菌发现于 20 世纪 80 年代初。当时，澳大利亚学者沃伦（R. Warren）发现，取自慢性胃炎和消化性胃溃疡病人体内的活检标本中有不知名的细菌。年轻医生马歇尔（B. Marshall）不断摸索培养条件，终于在培养基上培养出该细菌，这就是幽门螺杆菌。他们的发现，为研究和治疗胃部疾病提供了重要线索。幽门螺杆菌的发现过程运用了哪些微生物实验技术？研究人员又是如何判断生长在培养基上的微生物种类的？

一、从微生物群体中分离出目标微生物

微生物在自然界中往往是混杂生活在一起的，要想研究或者是利用某种微生物，就需要采用技术手段将目标微生物从中分离出来，以获得纯种微生物。从同种微生物群体中或者从混杂的微生物群体中，获得某一种或某一株微生物的过程，称为分离纯化。

分离微生物的技术，一是利用稀释的原理，即在平板培养基上，通过稀释涂布平板法（spread plate method）或平板划线法（streak plate method）等接种技术，在固体表面高度稀释微生物群体，使单位面积仅存留单个细胞，并使此单细胞增殖为一个新的群体，得到目标微生物的菌落；二是利用选择培养的原理，即选用仅适合目标微生物生长繁殖的特殊培养条件，培养混杂菌群，从中获取目标微生物的菌落，以达到分离的目的。

阅读空间

菌　　落

在固体平板培养基上，单个微生物细胞或孢子可生长繁殖成一个具有特定形状、肉眼可见的子细胞群体，称为菌落（colony）。在一定培养条件下，微生物的菌落形状、大小、边缘、隆起度和颜色等特征是稳定的（图 1-6）。如细菌菌落光滑，易与基质脱离；放线菌菌落质地致密，菌落较小而不致广泛延伸；酵母菌菌落较细菌菌落大而厚；霉菌形成的菌落较疏松，多呈绒毛状、絮状。通过对菌落特征的观察可以识别微生物的类群。

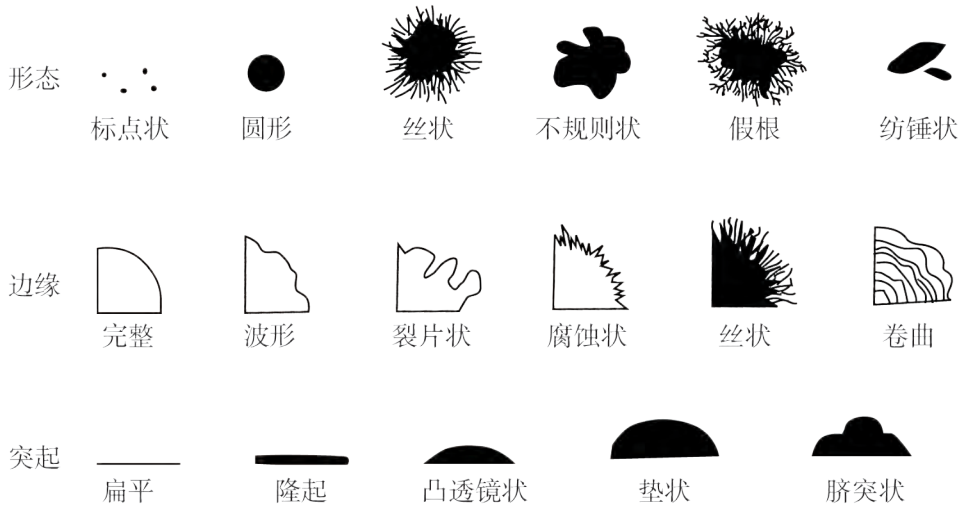


图 1-6　不同的菌落形态示意图

二、培养特定微生物群体

分离得到的目标微生物，可用进一步用稀释涂布平板法或平板划线法等进行纯化，得到由单一微生物个体经过生长繁殖形成的群体。微生物的分离与纯化技术是探索微生物世界的重要手段。

实验探究

酵母菌的纯化

酵母菌（yeast）是单细胞真菌，现在已知有 1000 多种，常用作生物工程和细胞周期研究的模式生物。运用平板划线的方法，将酵母菌接种到 PDA 培养基上，可得到酵母菌的菌落。

目的要求

1. 运用平板划线法进行微生物的接种。

2. 使用干热灭菌法等技术完成无菌操作。

3. 观察酵母菌的菌落特征。

材料器具

酵母菌菌液，PDA 培养基（附录二），超净工作台或无菌箱、酒精灯、接种环、恒温培养箱等。

活动程序

1. 接种

接种（inoculation）是指无菌条件下，将纯种微生物或含菌材料转移到适合其生长繁殖的培养基中的过程。

实验中要根据实验目的、培养基种类和实验器皿的差异，采用不同的接种方法。在平板培养基上常用的接种方法有平板划线法、稀释涂布平板法等。

图 1-7　超净工作台

（1）接种前的准备工作

将所用的实验器材全部放入超净工作台（图 1-7）或无菌箱，用紫外灯照射 30min。进入无菌室前，要用消毒液清洁双手，还需换好工作服、鞋、帽，戴上口罩。

（2）平板划线法接种

将接种环的环端在酒精灯外焰上烧红，再将接种环斜放，沿环向上，烧至可能碰到培养皿的部分，来回数次（图 1-8）。

在酒精灯火焰附近冷却接种环。左手拿取装有菌液的试管，让试管口缓缓通过火焰灭菌（图 1-9）。

图 1-8　灼烧接种环

图 1-9　试管口通过火焰

将接种环伸入试管内，蘸取一环菌液（图 1-10）。

左手持培养皿并开启一条缝隙，右手迅速将接种环伸入培养皿，在平板表面划线（图 1-11）。

图 1-10　沾取菌液

图 1-11　划线接种

划线的方法包括连续划线法和分区划线法。连续划线法是从平板边缘的一点开始，连续作紧密的波浪式划线（图 1-12）。分区划线法是从平板的一边作第一次划线若干条，接着转动培养皿约 60°，将接种环在火上灼烧并冷却后，通过第一次划线部分，作第二次划线。同法进行第三次、第四次划线（图 1-13）。

通过平板划线，聚集的微生物被分散到培养基的表面。在数次划线后，可以分离得到由单个微生物细胞繁殖而来的菌落。

图 1-12　连续划线示意图

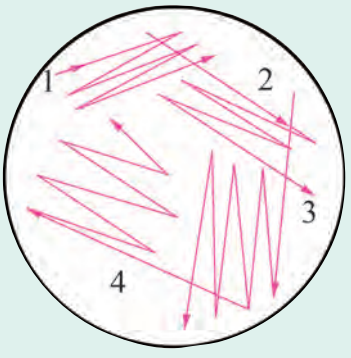


图 1-13　分区划线示意图

2. 培养

培养（cultivation）是指微生物被接种到培养基后，在一定条件下生长繁殖的过程。一般是将接种后的培养基放入恒温培养箱中（图 1-14），在适宜的温度下培养一定时间，以得到目标微生物。

划线接种完毕后，盖上培养皿盖，做好标记。将培养皿倒置，放入 28~30℃的恒温培养箱中，培养 3~5d。

图 1-14　恒温培养箱

3. 观察记录

观察酵母菌菌落特征并记录（图 1–15）。观察后，如果发现有杂菌，可进一步挑菌划线，完成纯化。

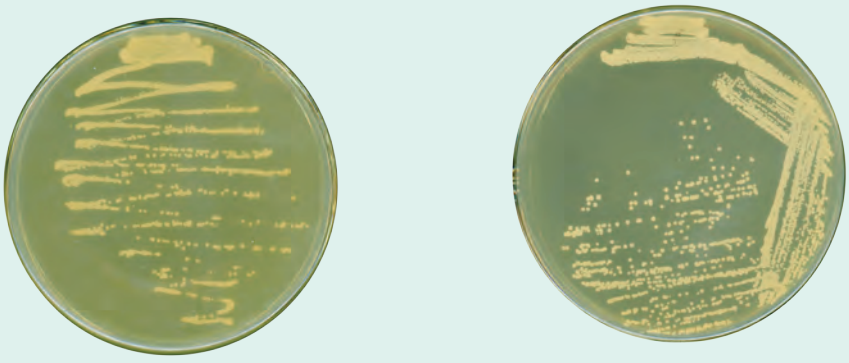


图 1–15　划线法接种后获得的酵母菌菌落

4. 纯培养

挑取单个酵母菌菌落接种到培养基上，在 28~30 ℃恒温培养箱中培养 3~5d，可获得纯净的酵母菌培养物。像这样获取由一个细胞或一群相同的细胞经过生长繁殖形成后代的过程，称为纯培养（pure cultivation）。

分析讨论

1. 同学之间比较划线分离的效果，分析出现划线效果差异的原因。

2. 在本次活动中，你是否实现目标微生物的分离与纯培养？能否通过观察菌落特征判断微生物的类群？

3. 你在实验中获得的目标微生物的纯净培养物，如果需要保留至以后使用，应该如何保存？如果不需要保留，应该如何处理？

思维训练

设计表格，记录现象

我们的手上、手机屏幕上有多种微生物。结合前面所学，将微生物培养成菌落。观察获得的微生物菌落特征，包括菌落的大小、颜色、形态和边缘等方面。例如，红酵母菌菌落（图 1–16）大小适中，颜色多为暗红色，形状为较规则的圆形，表面光滑，边缘整齐。将观察结果记录在自主设计的表格上，并根据菌落特征区分不同的微生物。

图 1–16　红酵母菌菌落

琼脂平板培养基分离纯化技术是一种简便有效的微生物学常规技术，它至今仍广泛应用于微生物菌种的筛选、鉴定、育种、计数等工作中。分离纯化技术还在不断发展完善，如许多用于活菌计数的平板等已日趋微型化、简便化、商品化和系列化。

学业检测

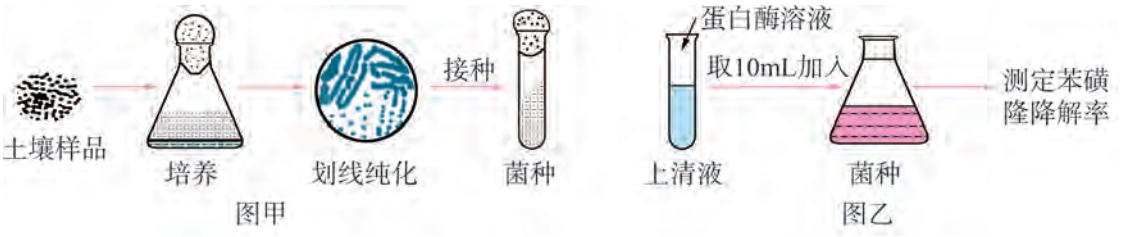
1. 在微生物学的研究中，为了获取纯净的目标微生物，需要实施配制培养基、消毒灭菌、分离纯化等技术操作。请完善下面相关的实验操作步骤：

（1）防止杂菌入侵、获取纯净的培养基是研究和应用微生物的前提。对微生物培养基进行灭菌，一般采用 _____ 法。在培养过程中，需要随机取若干灭菌后的空平板先行培养一段时间，这样做的目的是 _____。

（2）在平板培养基上，由 _____ 生长繁殖成一个具有特定形状、肉眼可见的子细胞群体，称为菌落。在一定培养条件下，区分微生物种类可以依据菌落的 _____ 等特征。

（3）采用平板划线法分离微生物时，接种环需要_____灭菌。在第二次及以后划线时，总是从 _____ 开始划线，这样做的目的是 _____ 。

2. 有机农药苯磺隆是一种除草剂，长期使用会污染环境。研究发现，苯磺隆能被土壤中某些微生物降解。分离降解苯磺隆的菌株的实验过程如图甲所示。



（1）微生物生长繁殖所需要的主要营养物质有碳源、水、_____ 六类。

（2）纯化菌株时，通常使用的划线工具是 _____。划线的某个平板培养后，第一划线区域不间断地长满了菌落，第二划线区域所划的第一条线上无菌落，其他划线上均有菌落。造成划线无菌落可能的操作失误有 _____。

（3）有人认为某细菌能降解苯磺隆的原因可能是该菌能分泌降解苯磺隆的酶所致，为了检验该假设，研究人员将该菌的培养液过滤离心，取上清液做图乙所示的实验。该实验设计是否合理？为什么？

第三节　测定微生物的数量

项目	采样方案及限量（若非指定，均以 CFU/g 或 CFU/mL 表示）			
	n	*c*	*m*	*M*
菌落总数	5	2	50 000	100 000
大肠菌群	5	2	1	5
金黄色葡萄球菌	5	0	0/25g（mL）	–
沙门氏菌	5	0	0/25g（mL）	–

图 1-17　巴氏杀菌乳含菌量国家标准

在日常生活中，人们往往通过目测色泽、鼻闻气味、口尝味道等方法，判断食品是否变质，这样的判断方法可靠吗？在《中华人民共和国食品安全法》制定的相关食品卫生强制性标准中，检测的指标包括了感官指标、微生物指标及理化指标等。其中，微生物指标中制定了对菌落总数、大肠菌群及其他致病性微生物的检测标准（图 1-17）。那么，食品中的微生物数量是如何测定的？

一、间接计数法

细菌、酵母菌等微生物的计数是测定其在单细胞状态下的个体数目，测定方法可分为两类：间接计数法和直接计数法。

间接计数法中最常用的是稀释涂布平板计数法，该方法是根据微生物的单个个体可培养形成一个菌落的培养特征而设计的。用稀释涂布平板法计数时，需要将待测样品配制成均匀的系列稀释液，尽量使样品中的微生物细胞分散开。再取一定稀释度、一定量的稀释液接种到平板中，使其均匀分布于培养基表面；或将一定量的稀释液，与熔化后冷却至 45℃左右的琼脂培养基混合，倾入无菌培养皿中，摇匀、静置待凝。经过培养后，单个微生物生长繁殖形成菌落，一个菌落就代表着原稀释液中一个微生物个体。统计培养基中的菌落数，即可推算出检测样品中的活菌数。

实验探究

分离土壤中分解尿素的细菌并计数

土壤中生活的微生物种类极其丰富且数量众多，它们对提高土壤肥力有重要作用。因此，土壤中相关微生物的数量可以作为判定土壤肥力的一个重要指标。用稀释涂布平板法将土壤稀释液接种到选择培养基上，得到分解尿素的细菌菌落，统计菌落数目，可计算得出土壤样品中细菌数量。

目的要求

1. 配制分解尿素的细菌的选择培养基。
2. 配制系列浓度的土壤稀释液。
3. 尝试采用稀释涂布平板法接种。
4. 运用稀释涂布平板法对菌落进行计数。

材料器具

土壤样品，无菌水、分解尿素细菌培养基（附录二），培养皿、移液管、天平、锥形瓶、玻璃珠、涂布器、试管、高压蒸汽灭菌锅、酒精灯、恒温培养箱等。

活动程序

1. 制备土壤稀释液

取土壤表层 5~10cm 处的土样。准确称取 1g 土样，放入盛有 99mL 无菌水的锥形瓶（250mL，放有小玻璃珠）中，用手或摇床振荡 20min，即制成 10^2 倍的稀释液。

用 1mL 无菌移液管，吸取 10^2 倍稀释液 0.5mL，移入装有 4.5mL 无菌水的试管中，配制成 10^3 倍稀释液。用同样的方法可制成稀释倍数为 10^4、10^5、10^6 的系列稀释菌液（图 1–18）。

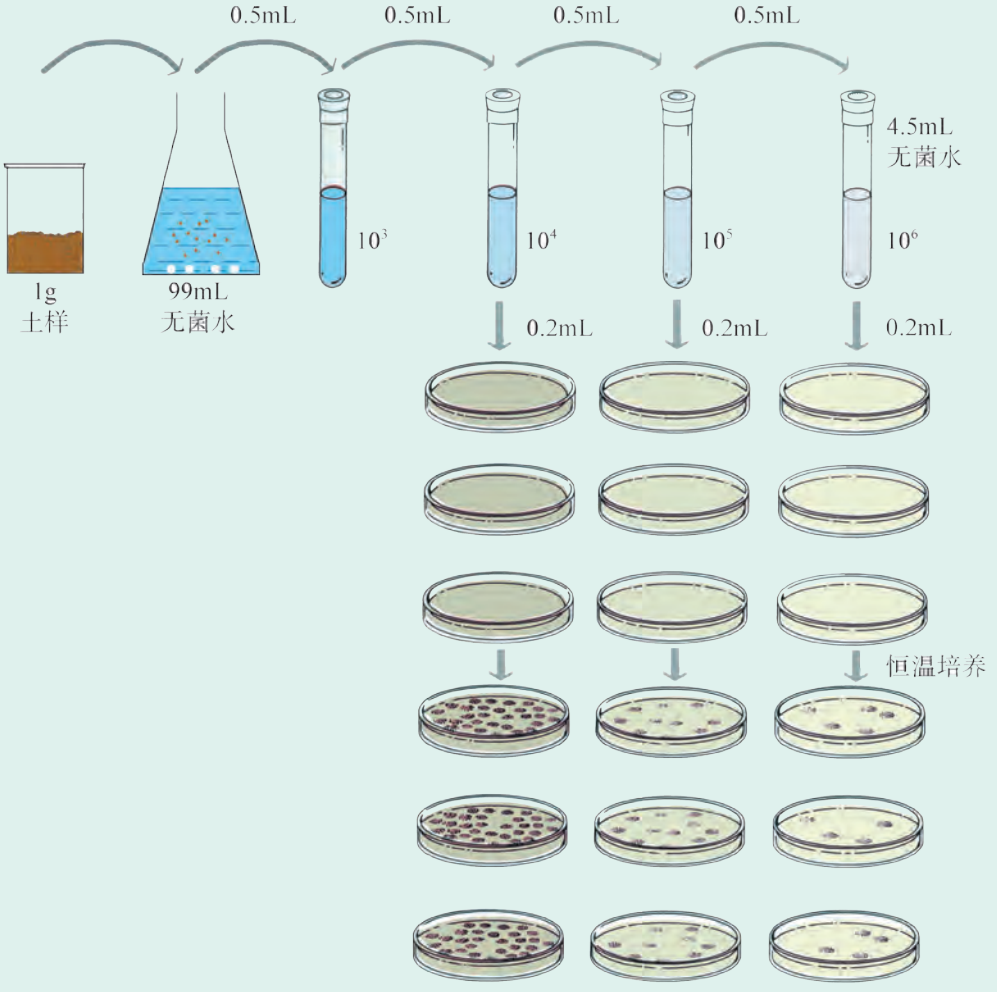


图 1–18　稀释涂布平板示意图

移液时，要将移液管插入液面，吹吸 3 次，每次吸上的液面要高于前一次，让菌液混合均匀并减少稀释中的误差。

2. 准备平板培养基并编号

将已灭菌的培养基倒平板，制成平板培养基。将培养皿编号，并在培养皿底部标出稀释倍数（依次为 10^4、10^5、10^6），每个稀释倍数设置 3 个重复（图 1–18）。

3. 涂布平板

用无菌移液管 3 支，分别吸取稀释倍数为 10^4、10^5、10^6 的土壤稀释液各 0.2mL，滴到相应编号的培养皿中的平板培养基上（图 1–19），每个稀释倍数各 3 个培养皿。再分别用无菌涂布器将菌液涂布在平板上，涂布时可转动培养皿，使涂布均匀（图 1–20）。

图 1–19　滴加菌液

图 1–20　涂布器涂布

4. 培养

将上述接种好的平板培养基倒置，放入 25~30℃的恒温培养箱中培养 24~36h，直至长出菌落。

5. 观察记录

将实验中得到的菌落数填入表 1–2。

表 1–2　不同稀释倍数下的菌落数

稀释倍数	10^4				10^5				10^6			
菌落数	1	2	3	平均	1	2	3	平均	1	2	3	平均

分析讨论

1. 选取具有合适菌落数的稀释倍数并计数。

在计算结果时，从接种的 3 个稀释度中选择一个合适稀释倍数，统计出菌落数。选择的原则是：

（1）细菌、放线菌、酵母菌以每个培养皿内有 30~300 个菌落为宜。霉菌以每个培养皿内有 10~100 个菌落为宜。如果菌落数大于该上限，计数会偏小。

（2）同一稀释倍数各个重复的菌落数相差不要太悬殊。

2. 将统计出的菌落数按下列公式计算，得出每克样品中的活菌数：

$$\text{每克土壤样品活菌数} = \frac{\text{某稀释倍数的菌落平均数}}{\text{细菌培养时所用的稀释液体积}} \times \text{稀释倍数}$$

当需要分离的微生物在混合样品中数量很少时，通常采用选择培养基，选择性分离和培养目标微生物，使分离对象大量繁殖，便于计数。例如，分离可分解尿素的细菌的培养基中，只加入尿素作为唯一的氮源，使能分解尿素的细菌可以繁殖，其他微生物由于缺乏尿素分解酶，不能利用尿素作为氮源而无法生长，从而可以分离出能分解尿素的细菌。这种能让特定的微生物生长，抑制其他微生物生长，将所需要的微生物从混杂的微生物群体中分离出来的培养基，就称为选择培养基（selective medium）。很多微生物都可以通过选择培养基进行分离纯化。

配制选择培养基时，可以根据某一种或某一类微生物的特殊营养要求，加入某些物质或除去某些营养物质（如碳源、氮源、生长因子、无机盐等），使其有利于某一类群或某一种特定微生物的生长，而抑制其他微生物的生长。此外，也可以根据某些微生物对一些物理、化学因素的抗性来配制培养基，以抑制不需要的微生物的生长繁殖，创造有利于特定种类的微生物优先生长的条件。

阅读空间

培养基的种类

微生物种类繁多，为其配制的培养基种类也千差万别。一般来说，培养基种类可以依据培养基的物理状态、组成成分、应用功能进行划分。

一、按组成成分

1. 天然培养基：利用天然的动物、植物或微生物（包括其提取物）制成的培养基，其营养成分复杂而丰富，难以确切了解培养基的化学成分。

2. 合成培养基：根据微生物的营养需求，将各种纯化学物质按一定比例配制而成的培养基。

3. 半合成培养基：由一部分纯化学物质、一部分天然物质配制而成的培养基。

二、按应用功能

1. 选择培养基：根据某种微生物的特殊营养要求，或对某种物理、化学因素的抗性而设计的培养基。

2. 鉴别培养基：在培养基中加入能与目的微生物的无色代谢产物发生显色反应的指示剂，以便仅用肉眼辨别颜色就能方便找出目的菌的菌落。

3. 加富培养基：在基础培养基中加入血液、血清、动物组织液或其他营养物质，这种营养丰富的培养基，用于培养某种或某类对生长条件要求苛刻的微生物。

二、直接计数法

直接计数法中常用的是显微镜直接计数法，这种方法是先将待测样品制成悬液，然后取一定量的悬液放在血细胞计数板上，在显微镜下直接进行计数。根据在显微镜下观察到的微生物数目来计算出单位体积内的微生物总数。直接计数法所需设备简单，可迅速得到结果，而且在计数的同时能观察到所研究微生物的形态特征，其缺点是所测得的结果是活菌体与死菌体的总和。一般适用于纯培养悬浮液中各种单细胞菌体的计数。

稀释涂布平板计数法和显微镜直接计数法是测定微生物数量的常用方法。通过测定微生物数量，可以研究微生物在土壤、水、空气和食品中的繁殖状况，为监测环境质量、检测食品卫生质量等方面提供科学依据。

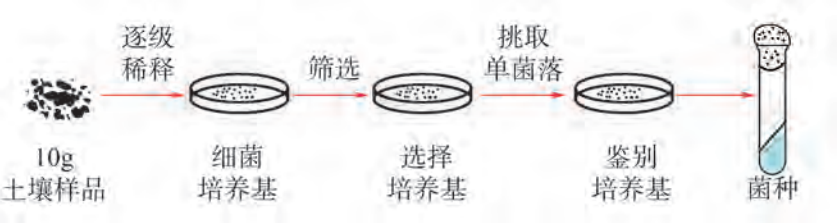
学业检测

1. 大肠杆菌是人和动物肠道中普遍存在的一种兼性厌氧菌，常以其在水中的含量作为评价水质的指标之一。某研究机构使用“滤膜法”对受污染的河流水体进行了大肠杆菌活菌数目的测定。根据所学知识，尝试回答下列问题：

（1）为了便于统计污染严重的水体中活菌的数目，需将水样进行适当稀释，例如取水样 1mL 加入无菌水_____ mL 制备稀释倍数为 10^2 的稀释液，并照此依次制备_____。

（2）每个稀释倍数的菌液取 10mL 进行过滤，然后将滤膜放置在培养基上进行培养。如果经过培养后稀释倍数为 10^2 的 4 个平板上菌落数分别为 43、47、42、48，那么每升河水中约含大肠杆菌____个。与血细胞计数板计数结果相比，此计数方法测得的细菌数目较_____（多/少），其原因是_____。

2. 下图是从土壤中筛选分解尿素细菌的过程。回答下列问题：



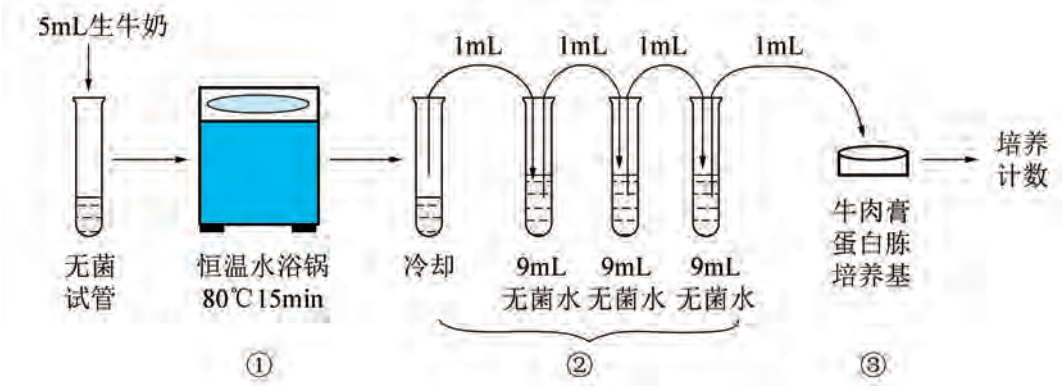
（1）与普通牛肉膏蛋白胨培养基相比，图中的选择培养基和鉴别培养基在功能上有什么区别？

（2）完成分离分解尿素细菌的实验中，在接种了 10^6 倍稀释液的培养基上，绝大多数同学统计的菌落数为 115~120 个，而某同学统计的菌落数为 40 个。该同学实验结果与其他同学产生了明显误差，最可能原因是（　　）。

A. 使用的培养基被污染　　B. 土壤样品的来源不同

C. 菌液稀释倍数小于 10^6　　D. 涂布的菌液不均匀

3. 牛奶富含多种氨基酸和矿物质，多饮用牛奶有利于增强体质，但牛奶消毒不严格也容易携带细菌。根据国家标准（GB19645—2010）规定，每毫升合格的牛奶细菌总数不能超过 50 000 个。某兴趣小组利用恒温水浴锅对生牛奶进行消毒，然后检测消毒的效果。回答下列问题：



（1）图中的步骤①对生牛奶消毒的方法是什么？牛肉膏蛋白胨培养基一般采用什么方法灭菌？这两种方法的主要区别是什么？

（2）步骤②是将牛奶进行梯度稀释，这样做的意义是什么？步骤③的接种方法是什么？这种方法可以用来统计样品中活菌的数目，其原理是什么？

（3）兴趣小组的同学通过步骤①—③接种了 3 个平板，将这 3 个平板和 1 个未接种的平板放入恒温培养箱，在适宜的温度条件下培养 48h，然后统计出 4 个平板上的菌落数分别是 57、53、55 和 9。根据这样的实验结果，能否判断该兴趣小组消毒后的牛奶细菌超标？为什么？

第四节　发酵工程为人类提供多样的生物产品

图 1-21　腊酒待客

“莫笑农家腊酒浑，丰年留客足鸡豚”（图 1-21），诗中的“腊酒”就是腊月里酿造的米酒。米酒自古以来就是农家日常饮用的酒品，人们在生活中使用传统发酵技术，以手工作坊的生产方式制作像米酒这样的发酵食品，极大地丰富了人们的食物品种。随着发酵工程的发展，人类需要的许多产品，都可以通过发酵工程实现工业化生产。在发酵工程中，利用了微生物的哪些特性？发酵工程又是如何将传统发酵技术与现代工程技术相结合的？

一、运用传统发酵技术生产食品

远古时代，草原上的游牧民储存的牛奶、羊奶经常因受污染而变质。人们偶然发现，有些变酸的奶口味独特、酸爽怡人，于是有意识地尝试制作并食用它，这就诞生出人类历史上早期的发酵食品——酸奶。果酒和果醋的出现也有着类似的经历。

实验探究

酿制果酒和果醋

果酒常以葡萄、橙、蓝莓等水果作为材料，以酵母菌（图 1-22）为菌种酿制而成，是具水果风味的酒精饮品。果醋是以苹果、葡萄等水果为原料，以醋酸菌（图 1-23）

图 1-22　酵母菌

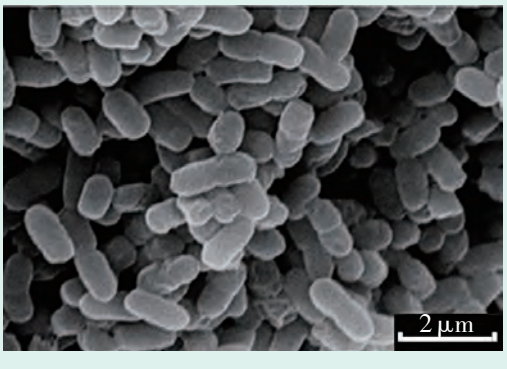


图 1-23　醋酸菌

为菌种酿制的饮品。

酿制果酒通常以附着在水果表面的野生酵母菌作为菌种。酿制过程需要设置适宜的温度条件，理论上将温度控制为 20℃，实际温度 15~25℃均可。酵母菌先在有氧条件下大量繁殖，然后在无氧条件下完成酒精发酵，产生乙醇（C_2H_5OH）。

以水果为原料酿制果醋，需要经过酒精发酵和醋酸发酵两个阶段；若以果酒为原料，只需要进行醋酸发酵。醋酸菌是好氧细菌，生长繁殖的最适温度是 30~35℃，醋酸菌在酶的作用下，先将乙醇氧化成乙醛，再将乙醛氧化为乙酸（CH_3COOH）。

活动要求

1. 尝试利用酵母菌和醋酸菌的特定功能，酿制果酒、果醋。

2. 通过控制果酒、果醋酿制的条件，总结不同微生物发酵条件的差异。

材料器具

酵母菌菌种、醋酸菌菌种，水果，发酵容器等。

活动流程

1. 原料选择

能酿制果酒、果醋的水果种类很多，可以根据地区、季节等因素，自主选择原料。家庭酿制果酒、果醋通常使用葡萄。

2. 原料处理

先用清水将葡萄冲洗干净，然后榨汁，再将葡萄汁装入消毒后的容器中。葡萄汁可直接取用榨取的果汁，也可以取用过滤残渣后得到的澄清果汁。

3. 酒精发酵

可直接用葡萄皮上的酵母菌作为菌种；或取少量酵母粉，用新鲜的葡萄汁溶解并搅匀，静置 20~30min 活化，将葡萄汁和活化的酵母汁倒入已消毒的容器中发酵。

4. 醋酸发酵

取酿制的果酒倒入消毒的容器中，接入醋酸菌菌种，完成发酵过程。

依据酵母菌、醋酸菌的特点，确定各自发酵条件，并设计控制发酵条件的措施，以保证产品的质量。

分析讨论

1. 经过酒精发酵、醋酸发酵后，如何鉴定是否有乙醇、乙酸产生？

2. 归纳酒精发酵、醋酸发酵所需的条件，总结控制发酵条件的方法与措施。

思维训练

实验数据处理与分析

自制酸奶通常是以消毒的新鲜牛奶为原料，添加厌氧型的乳酸菌作为菌种，在适宜温度及无氧条件下，密封放置一定时间。乳酸菌将葡萄糖等分解成乳酸，导致其中的酪蛋白凝集沉淀，成为颜色乳白、有弹性、细腻的固态凝块，即酸奶。

1. 制作酸奶过程中，利用抽样检测的方法，定时测量发酵瓶中的乳酸菌种群密度，在下面的坐标图（图 1–24）中绘制曲线，并尝试分析数量变化的原因。

2. 发酵过程中，营养物质和代谢产物含量、pH 等会不断发生变化。酸奶制作过程中，每隔 1h 测量一次发酵液的 pH，绘制成坐标图（图 1–25），并分析 pH 变化的原因。

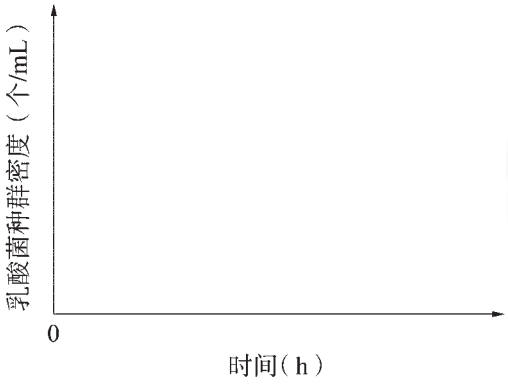


图 1–24　发酵过程中菌种群密度变化

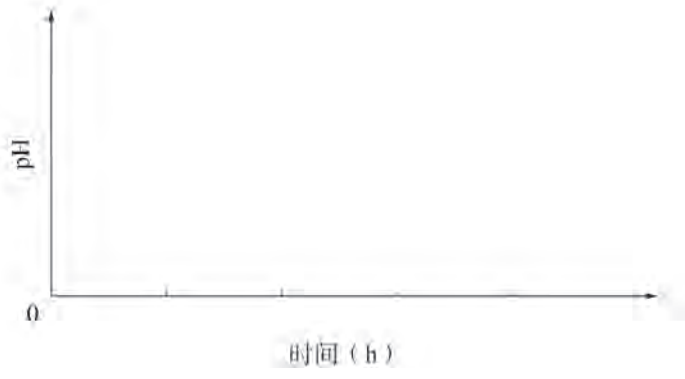


图 1–25　发酵过程中 pH 变化

人们把借助微生物在有氧或无氧条件下的生命活动，制备微生物菌体及各种不同代谢产物的过程，称为发酵（fermentation）。根据发酵过程对氧的需求情况，发酵可分为需氧发酵和厌氧发酵；也可根据发酵生成的产物，分为酒精发酵和乳酸发酵等。

除了酸奶、果酒和果醋外，在人类文明发展的历史长河中，人们逐步摸索出利用谷物、豆类、乳类、肉类、蔬菜等作为原料，在特定的环境条件下，通过一种或多种微生物的作用，生成种类繁多、风味独特的食品。一般来说，凡是利用微生物的特定功能制取的食品都可称为发酵食品（图 1–26）。

图 1-26　常见的发酵食品

二、利用发酵技术工业化生产产品

家庭酿制发酵食品一般只能满足自身的需要，手工作坊实现了发酵产品的商品化，但发酵过程易受到杂菌的污染，生产规模也受到限制，难以满足人们的需求。随着科学技术的进步，人们在改进传统发酵生产工艺的基础上，借鉴化学工程的模式，逐渐实现了发酵生产的工业化。

现在，人们已经把微生物发酵与现代工程技术手段相结合，或利用微生物的某些特定功能生产人类所需产品，或把微生物直接用于工业生产过程中，这就是发酵工程。现代发酵工程以研究微生物的生命活动为核心，利用各种微生物的特性来设计和指导工业发酵生产。发酵工程在现代生物工程中地位越来越重要。

发酵工程的流程

发酵工程产品门类众多，生产工艺各有不同，但总体上发酵工程的流程分为菌种选育、发酵过程和产品提炼等

阶段，每个阶段又包括不同的步骤。

菌种选育　选育优良的菌种是发酵工程的首要条件。人们最早采用自然选育的方法，即从自然界的菌种资源中筛选出理想的生产菌株。随着生物技术的发展，发酵工程的菌种选育逐渐采取诱变育种和基因工程育种等现代生物技术，其中，诱变育种是发酵工程中常用的育种方法。在菌种的筛选过程中，一般都要研究其最适发酵条件。这样，发酵工程可根据目标菌种的新陈代谢特性，选择不同的方式进行发酵，确定大规模发酵生产过程中的控制条件。

发酵过程　发酵过程是指在最适发酵条件下，在发酵罐中大量培养细胞和生产代谢产物的过程。发酵罐（图 1–27）是工业上用来进行微生物发酵的装置，通过控制发酵罐中的相关条件，为微生物提供一个最有利于产物合成及积累的培养环境。发酵过程对发酵条件的控制，一是要对发酵设备和培养基严格灭菌；二是发酵过程中需要随时取样，检测培养液中的目的菌数目、产物浓度等，以了解发酵进程；三是要及时添加必需的培养基组分，以满足菌种的营养需求；四是要严格控制温度、pH、溶氧等环境因素。

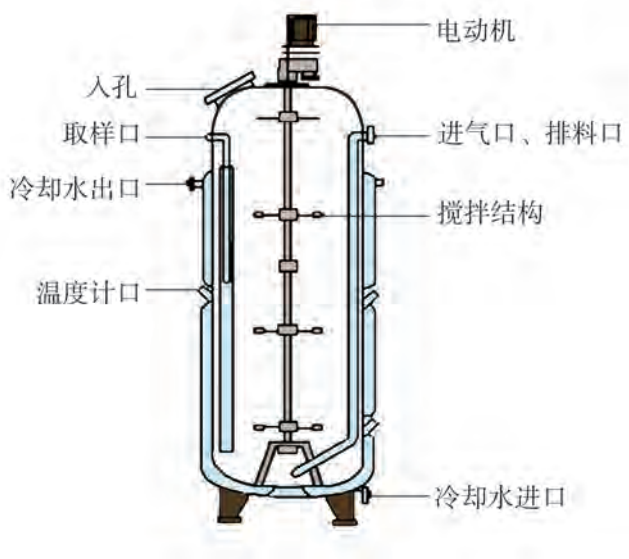


图 1–27　发酵罐示意图

产品提炼　产品提炼是指从发酵液中分离纯化目的产物并加工为成品的过程，一般分为粗分离阶段和纯化精制阶段。由于发酵产品种类繁多、性质各异，产品提炼的方法也有很多种，包括蒸馏、萃取、结晶、吸附、蒸发和干燥等操作方法。随着科技的发展，更多的新技术也开始应用于产品的提炼。

发酵工程的应用

发酵工程不仅用于生产发酵食品，还在工农业生产、医药以及环境保护等方面服务于人类的生活，创造出极大的价值。

图 1–28　添加 L– 苹果酸的果酱

食品工业　目前，发酵工程在食品工业上的应用十分广泛，一是生产传统的发酵产品，如啤酒、果酒、食醋等，显著提高了产品的产量和质量。二是生产各种各样的食品添加剂，改善食品的品质。例如，用发酵工程制得的 L– 苹果酸是国际食品行业公认的安全型酸味剂，广泛用于果酱、饮料、糖果等食品的生产中（图 1–28）。

工业农业　将发酵工程引入工业领域，可改良生产工艺。如微生物湿法冶金技术，就是利用微生物产生的代谢产物，将矿石中的金属溶解并还原出来。与传统冶金技术相比，它具有环境污染小、资源利用率高的优点。

将发酵工程引入农业领域，为解决粮食短缺等社会问题开辟了新途径。如以淀粉或纤维素的水解液、制糖工业的废液、石化产品等为原料，通过发酵工程获得大量微生物菌体，这种微生物菌体叫作单细胞蛋白。有的单细胞蛋白可以作为人类的食品，具有高蛋白、低脂肪的优点；有的用作饲料，能使家畜、家禽增重快，产奶量或产蛋量显著提高。

医药工业　发酵工程技术使医药工业的面貌焕然一新。有些原本需要从动植物中提取的珍贵药物，因为产量低而无法广泛使用。应用发酵工程后，产量提高、成本降低，得以广泛使用。例如生长抑素，最初从 50 万个羊脑中才能提取 5mg，远远不能满足需求。如今，应用发酵工程生产技术，仅 7.5L 培养液就能得到 5mg。除此之外，胰岛素、生长因子、干扰素、乙肝疫苗等具有临床效果的药物，都可通过发酵工程技术大量生产，惠及大众。

环境保护　利用微生物对污染物的降解能力，发酵工程在对污染环境的生物修复、废弃物处置和资源再利用等方面发挥着重要作用。例如，处理、利用垃圾的固体废物堆肥法，固体废物中的有机物在细菌、真菌和放线菌等微生物作用下，发生生物化学反应而降解形成一种类似腐殖质的物质，它既是土壤改良剂，也是优质肥料。相信在不久的将来，发酵工程技术将成为环境保护应用中非常重要的技术。

阅读空间

中国“智”造——维生素 C 的工业化发展历程

维生素 C 是许多动物必需的营养物质，目前除了应用于医药、保健外，因其具抗氧化特性，还被广泛运用于食品、工业等行业，市场需求巨大。

1933 年，英国化学家霍沃斯（W. Haworth）发明了维生素 C 的化学合成方法，但由于过程繁琐，不适于工业化生产。波兰化学家赖希斯泰因（T. Reichstein）利用微生物——氧化葡萄糖酸杆菌，完成了生产过程中的关键反应：将 D–山梨醇转化为 L– 山梨糖，真正实现了工业化生产（图 1–29）。

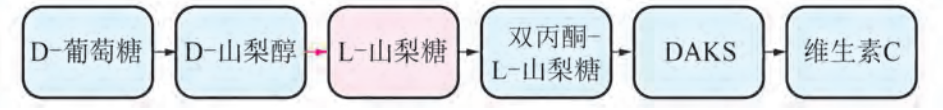


图 1–29　赖希斯泰因的维生素 C 生产法

赖氏法生产效率高，但环保处理费用高昂。20 世纪 80 年代，我国中科院微生物学家另辟蹊径：在赖氏法利用微生物的基础上，继续利用微生物将 L–山梨糖转化为古龙酸（KGA），KGA 经转化直接得到产品（图 1–30）。该方法分别利用了氧化葡萄糖酸杆菌和假单孢杆菌，即采用了两次微生物发酵，所以被称为二次发酵法。

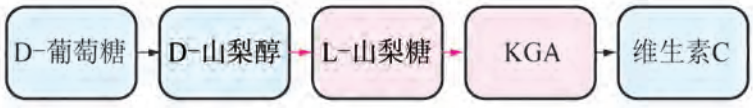


图 1–30　二次发酵维生素 C 生产法

二次发酵法方法步骤简单，使用化学原料少，大幅降低了处理废弃物费用，成本是赖氏法的 1/3。该方法的独创性，使中国拥有了自主知识产权，获得了技术专利。目前，中国生产的维生素 C 已占据世界市场的绝大多数份额。二次发酵法的成功，彰显了发酵工程相对于化学合成的巨大优势，也说明“中国制造”要想提高国际竞争力，拥有自主知识产权的科学技术至关重要。

如今，随着现代生物技术的发展，与基因工程技术相结合的现代发酵工程技术飞速发展，它为人类面临的资源、环境、能源、粮食等重大问题，提供了有效的解决途径，也将在化工、医药、食品、农牧业等众多领域为人类提供更多的产品。

学业检测

1.“蒲萄酒，金叵罗，吴姬十五细马驮。”在唐代诗人李白的诗《对酒》中，“蒲萄酒”即葡萄酒。结合所学知识，尝试回答下列问题：

（1）酿制果酒时常需要在培养基中添加一定浓度的葡萄糖液。若葡萄糖浓度过高，会抑制酵母菌的生长，其原因最可能是（　　）。

A. 酵母菌细胞呼吸加快，产热增多抑制酶的活性

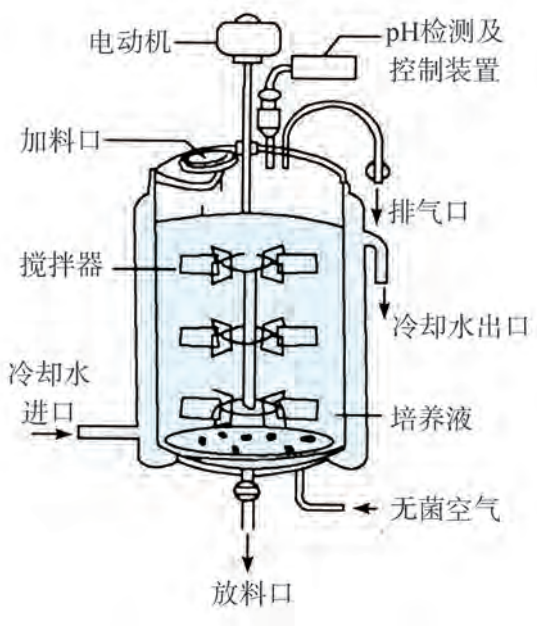
B. 培养基的渗透压增大，导致酵母菌细胞过度失水

C. 葡萄糖分解为丙酮酸，改变了培养液的 pH

D. 醋酸菌大量繁殖，抑制了酵母菌的增殖

（2）每年夏季，很多人都会自己在家酿制葡萄酒。但有传闻称自酿的葡萄酒有可能因甲醇含量过高而引起中毒。请查阅资料，分析讨论在家庭自酿葡萄酒的过程中是否会产生甲醇等有害物质？如果会，如何降低它对人体的危害？

2. 木聚糖酶可以将木聚糖（植物细胞壁的主要成分之一）降解为木糖，在酿造、饲料生产中很有应用价值。木聚糖酶可以用黑曲霉发酵生产，下图表示生产该酶的连续发酵装置。



（1）根据物理性质，该发酵过程使用的培养基属于_____。

（2）从发酵装置加料口输入的培养基必须经过严格的_____处理。根据图示可知，发酵过程需要严格控制_____与搅拌速度等条件。

（3）图示连续培养装置以一定的速度不断添加新的培养基，同时又以同样的速度放出旧的培养基，可大大提高生产效率，原因是_____。

学业要求

重要概念	节次	学科素养
发酵工程利用微生物的特定功能规模化生产对人类有用的产品。	第一节	◆阐明在微生物培养和发酵工程中，无菌技术是获得纯净微生物培养物的前提。 ◆阐明无菌技术是在操作过程中，保持无菌物品与无菌区域不被微生物污染的技术。 ◆完成配制培养基的操作，学会使用无菌技术。 ◆建立获得纯净的微生物培养物是发酵工程基础的生命观念。
	第二节	◆概述平板划线法是实验室进行微生物接种、分离和纯化的常用方法。 ◆阐明分离与纯化技术是微生物研究的重要技术。 ◆运用平板划线法进行接种，完成微生物的分离纯化，获得纯净的微生物菌落。
	第三节	◆概述稀释涂布平板法是实验室进行微生物分离和纯化的常用方法。 ◆概述稀释涂布平板法和显微镜计数法是测定微生物数量的常用方法。 ◆运用选择培养基培养某种微生物，探究培养基对微生物的选择作用。领悟基于实验的科学探究方法，感悟基于实验论证的科学思维方法。 ◆运用稀释涂布平板法接种微生物，完成微生物的分离、培养与计数。
	第四节	◆运用发酵的原理酿制果酒、果醋，说明日常生活中的某些食品是运用传统发酵技术生产的。 ◆举例说出发酵工程及相关技术的基本原理，建立微生物学知识是发酵工程设计基础的生命观念。 ◆阐明发酵工程利用现代工程技术及微生物的特定功能，工业化生产人类所需产品。树立发酵工程为人类提供多样化生物产品的生命观念。 ◆尝试利用微生物的某种功能，设计简单的工业化流程，生产人类需要的某种产品，提高综合运用生物学知识的能力。

历史长河

纯种分离和培养技术的发展

建立在无菌技术基础上的纯种分离和培养技术是人类揭示微生物世界奥秘、利用微生物的重要手段。

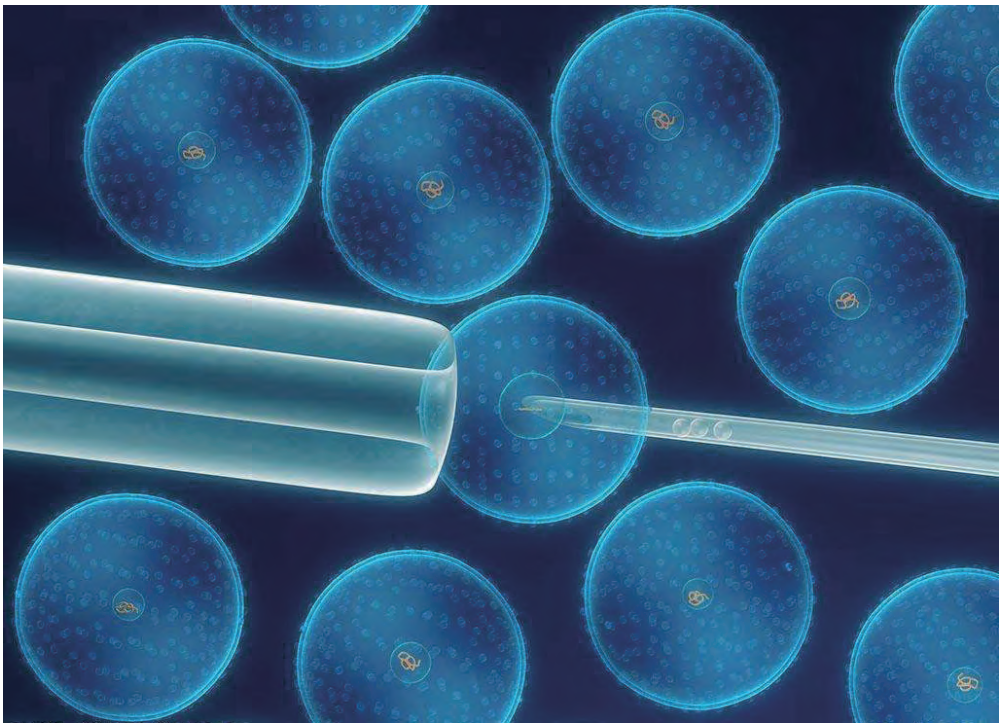
在19世纪中叶以前，确定某种微生物是引起传染病的病原体是一个科学难题。因为微生物是混杂生活在一起的，即使一小撮土壤、一滴血液中，也可能存在着多种微生物，想要把它们分离、纯化以便用于研究，谈何容易。德国医生科赫（图1–31）是炭疽杆菌、结核杆菌等重要致病微生物的发现者，也是微生物分离和培养技术的先驱。最初，他采用马铃薯片作为固体培养基，在其表面长出肉眼可见的单菌落，从而分离微生物，得到纯的微生物。可是，许多微生物不能在马铃薯片上生长，于是科赫又设计使用明胶作为培养基成分中的凝固剂，即将明胶加入液体培养基中溶解，再将培养基倒在玻璃板表面冷却凝固，从而在玻璃板表面形成一层固体培养基。但是，明胶在28℃以上就会熔化，非常不适于培养人类病原菌（最适温度35 ~ 37℃）。此外，有些细菌可以分解明胶，使其失去作为培养基支撑物的作用。科赫的助手海塞在妻子的启发下，尝试用做果冻的琼脂代替明胶。琼脂是从一种海藻中提取出来的多糖，在水中加热可溶解，当溶液温度降至42℃以下则凝固为胶体，且不为微生物分解。科赫的另一名助手皮特里设计了透明的玻璃培养皿，这种培养皿既便于容纳培养基，也便于观察细菌等微生物的菌落，还可以达到通气而不易污染杂菌的目的。迄今为止，这种培养皿仍是微生物学中广泛使用的器材之一。

图1–31　科赫和助手在研究微生物

琼脂固体平板培养基的问世和普遍应用为微生物的纯种分离技术奠定了坚实的基础。以后，用于霉菌和酵母菌等的单孢子或单细胞分离纯化技术也相继问世。这些技术为研究致病微生物进而有效防治，为寻找有益于人类的微生物，提供了便利。

在微生物发酵工业中，要使微生物良好地生长或累积代谢产物，就需要应用微生物纯种培养技术。微生物纯种培养技术的发展表现为：从固体培养法为主发展到液体培养法为主；从浅层培养法发展到深层发酵法；从静止培养法发展到通气搅拌培养法；从单罐培养发展到连续培养以及多级连续培养；从利用分散的微生物细胞发展到固定化细胞；从利用自然菌种到利用变异菌株、“工程菌”，等等。其中，大规模液体深层通气搅拌发酵装置（即发酵罐）的发明和普及，为生物工程学开辟了崭新的路径，也使微生物发酵工业成为国民经济的重要支柱产业之一。

第二章　细胞工程通过细胞水平的操作获得产品



一个个小小的细胞，竟蕴藏着生命的无限奥秘。从胡克（R. Hooke）发现细胞到克隆羊“多莉”问世，在这 300 多年的时间里，细胞已成了科学家发挥想象力的实验“乐园”，他们使一小块植物组织长成完整植株，用动物细胞来“生产”酶、疫苗等生物制品，甚至可以像玩积木那样对细胞进行拆分和组装。像这样在细胞水平上按照人们的设计蓝图，有目的、有计划地对动植物细胞进行“加工”，使细胞的结构发生改变，从而对生物进行创造设计的技术就是细胞工程。那么我们可用哪些技术手段对细胞进行“加工”呢？科学家利用这些技术获得了哪些生物产品？奇妙的细胞工程会怎样改变我们的生活？

1907—1908 年哈里森和卡雷尔开创动物组织培养技术

1918—1924 年施佩曼推进胚胎发育研究

1972 年卡尔森培育出第一株体细胞杂交植物

1975 年米尔斯坦和科勒获得能稳定分泌单克隆抗体的杂交瘤细胞株

1996 年第一只体细胞克隆动物“多莉”羊诞生

1998 年汤姆森和吉尔哈特获得可体外培养的人胚胎干细胞

2006 年山中伸弥获得诱导多能干细胞

课题研究

观察多肉植物的叶插繁殖过程

多肉植物形态优美、种类繁多，人们常利用根、茎、叶等器官进行扦插繁殖。将多肉植物肥厚的叶片取下来，独立地摆放在湿润、疏松的土壤表面，大约 2~4 周后叶片基部便会长出植物幼体，这种方式称为叶插。

提出问题

多肉植物在叶插繁殖过程中，叶片基部的形态结构发生了哪些变化？

制订并实施研究计划

1. 做哪些准备？

◆查阅资料，配制符合要求的营养基质。
◆选择适合进行叶插的多肉植物叶片。
◆叶插前将多肉植物叶片在阴凉通风处放置两三天。

2. 怎样进行叶插实验？

◆尝试将叶片从不同角度放置在营养基质上或插入营养基质中。
◆探究温度、湿度或其他环境因素对繁殖成功率的影响。

3. 怎样观察并记录实验现象？

◆设计记录多组实验结果的表格。
◆观察放置或插入叶片角度的差异对繁殖结果的影响。
◆观察多肉植物在叶插繁殖过程中，叶片基部的形态结构发生的主要变化。

成果交流

1. 利用图片、视频等展示叶插繁殖过程。
2. 分析并讨论影响叶插繁殖成功率的环境因素。
3. 查阅资料，尝试解释离体叶片基部长出植物幼体的原因。

图 2-1　叶插繁殖的多肉植物

第一节　植物细胞工程包括组织培养和体细胞杂交等技术

图 2-2　植物界的活化石——珙桐

珙桐（图 2-2）是 1000 万年前新生代新近纪的孑遗植物，如今只在我国四川等地留存下来，因自然繁殖十分困难，野生种群数量很少，已被列为国家一级重点保护植物。近年来，科研团队利用植物组织培养技术在实验室成功培育出了珙桐试管苗，为迅速扩大珙桐的种群提供了可能。为什么通过植物组织培养技术能达到迅速繁殖的目的？植物组织培养技术属于植物细胞工程（plant cell engineering），植物细胞工程还包括哪些技术？它们在人类生产和生活中有哪些应用？

一、组织培养技术将外植体培育成新植株

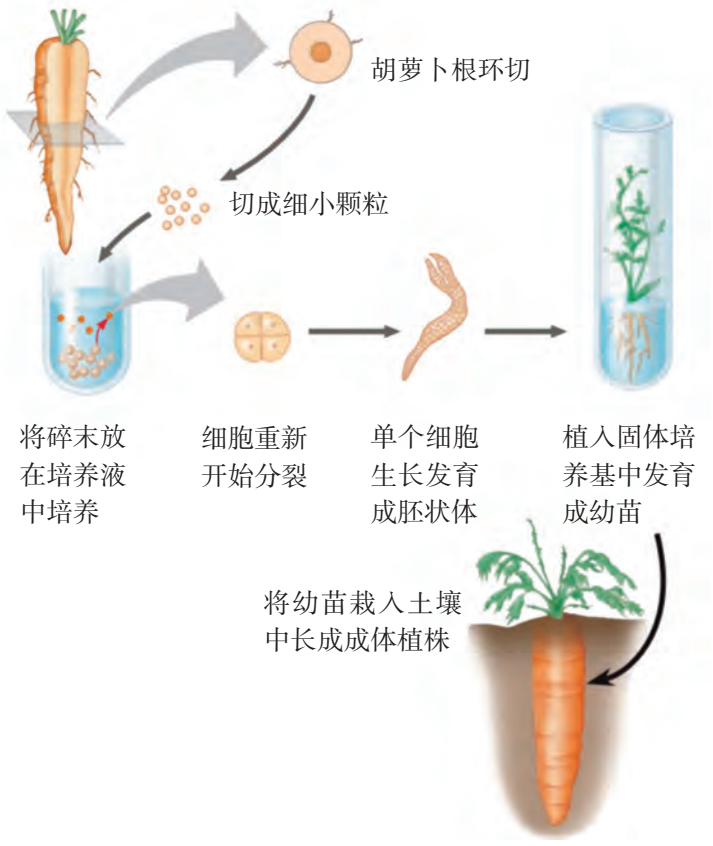


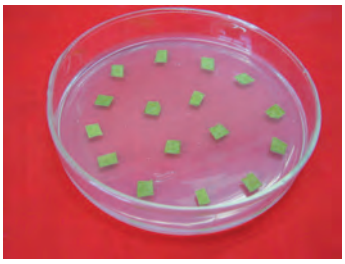
图 2-3　将胡萝卜韧皮部细胞培育成完整植株示意图

1958 年，美国植物学家斯图尔德（F. Steward）等人取胡萝卜的韧皮部细胞，放入含植物激素、无机盐、糖类等物质的培养液中培养，获得了完整的植株（图 2-3）。该实验证明高度分化的植物细胞仍具有发育成完整植株的潜能，即植物细胞具有全能性。像这样把离体的植物器官、组织和细胞接种到含有营养物质的培养基上，在一定条件下进行人工培养，最终培育成完整植株的过程称为植物组织培养（tissue culture），用于离体培养的植物器官、组织和细胞称为外植体（explant）。

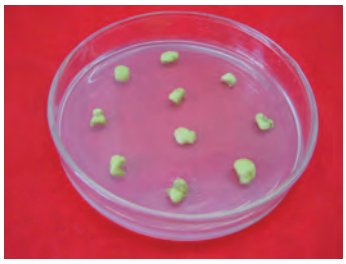
外植体在培养基中培养一段时间后，会通过细胞分裂形成愈伤组织。愈伤组织呈无定形状态，由一群高度液泡化的薄壁细胞组成，排列疏松而无规则，具有很强的分裂能力。由高度分化的植物器官、组织或细胞形成愈伤组织的过程，

称为植物细胞的脱分化（dedifferentiation）。脱分化产生的愈伤组织在一定条件下继续培养，可以重新分化形成根、芽等器官，这一过程称为植物细胞的再分化（redifferentiation）。经过脱分化和再分化过程，外植体在培养基上形成具有根、茎、叶的试管苗（图 2–4）。试管苗经过驯化移栽，最终可发育成完整植株。

外植体 —脱分化→ 愈伤组织 —再分化→ 根、芽等 → 试管苗 —驯化移栽→ 完整植株

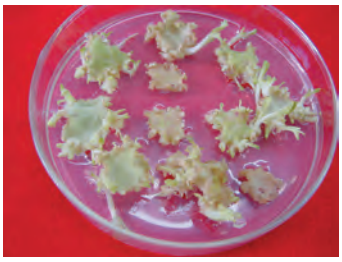


① 将外植体接种到培养基上



② 产生愈伤组织

③ 愈伤组织增殖



④ 把愈伤组织转移到生芽培养基上再分化产生小芽

⑤ 将小芽切下接种到生根培养基中

⑥ 培养基中的试管苗

图 2–4　植物组织培养流程示意图

离体的植物器官、组织和细胞，对营养、环境条件的要求相对特殊，需要配制适宜的培养基。组织培养常用的 MS 培养基，含有植物细胞生长繁殖所需要的大量元素、微量元素、有机物等各种营养成分。培养基富含营养，若外源杂菌进入，则会迅速繁殖并产生大量毒素从而导致外植体死亡。因此，无菌条件和无菌操作对组织培养的成功至关重要。配制好的 MS 培养基中，常常需要添加一些植物激素，植物激素中的生长素和细胞分裂素在启动细胞分裂、脱分化和再分化的过程中起着重要作用。

思维训练

植物激素对愈伤组织再分化的影响

将离体的烟草茎髓培养形成愈伤组织，再将愈伤组织分割接种到含有不同比例生长素和细胞分裂素的培养基中。在适宜条件下培养一段时间后，部分培养基上的愈伤组织再分化形成了根，部分培养基上的愈伤组织再分化形成了芽，部分培养基上的愈伤组织则继续生长繁殖并没有发生分化。实验结果如图 2–5 所示。

1. 不添加生长素的培养基与不添加细胞分裂素的培养基相比较，愈伤组织的分化有何差异？

2. 最有利于愈伤组织分化为芽的培养基中和最有利于愈伤组织分化为根的培养基中，两种激素的比例各是多少？

3. 综合分析，生长素和细胞分裂素的不同配比对植物根、芽的分化有何影响？

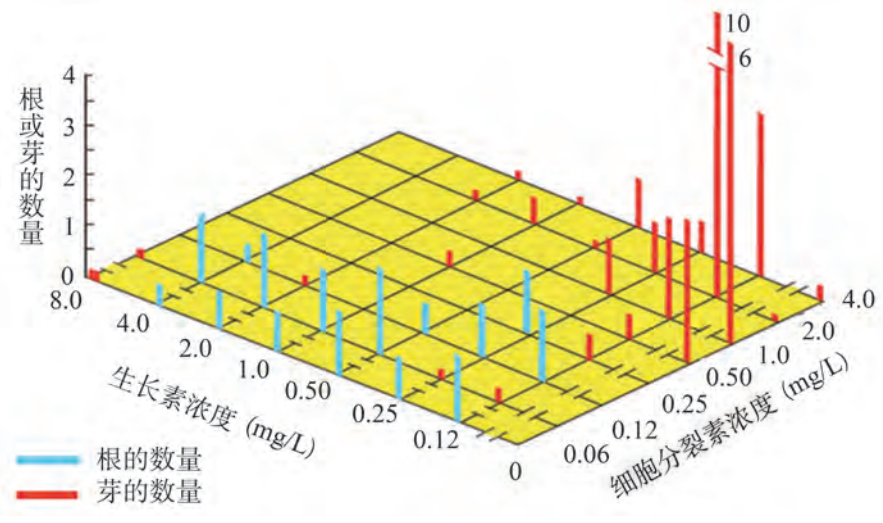


图 2–5　植物激素对再分化的影响

植物细胞的再分化过程中，生长素浓度与细胞分裂素浓度的比值会影响植物细胞的发育方向。当比值较低时，诱导芽的分化；比值较高时，则诱导根的分化；比值处于中间水平时，愈伤组织只生长而不分化。所以，根据不同的培养阶段对营养及植物激素的不同需求，一般需要配制脱分化培养基、生芽培养基和生根培养基。

影响植物组织培养的因素还有很多，如外植体的遗传特性、取材部位都影响着愈伤组织的形成和再分化能力，培养环境中的 pH、光照和温度等条件也很重要。

实验探究

利用植物组织培养技术培育月季幼苗

月季（图 2-6）是我国常见的观赏性花卉，分布广泛。用月季进行组织培养，不仅材料易得，而且成功率高。

图 2-6　月季

目的要求

1. 配制月季组织培养不同阶段所需的培养基。
2. 尝试用月季的嫩茎进行组织培养获得试管苗。
3. 尝试将月季试管苗进行驯化移栽。

材料器具

月季的嫩茎，配制 MS 培养基的各种试剂、体积分数为 70% 的酒精、质量分数为 2% 的次氯酸钠溶液、0.1mol/L NaOH、0.1mol/L HCl、6-苄基氨基腺嘌呤（6-BA）、吲哚乙酸（IAA）、萘乙酸（NAA）、琼脂、蔗糖、蒸馏水，三角烧瓶、烧杯、量筒、锥形瓶、容量瓶、移液管、培养皿、封口膜、棉线、分析天平、牛皮纸、超净工作台或简易接种箱、恒温培养箱、高压蒸汽灭菌锅、无菌滤纸、解剖刀及长镊子等。

活动程序

1. 配制培养基

将各种营养成分按比例配制成 MS 培养基母液（附录二）。培养基含有 20 多种营养成分，为了避免每次配制培养基时都要称量几十种成分，先将各种成分按比例配制成浓缩液（即培养基母液），然后按量取母液配制培养基。利用母液配制月季组织培养所需要的三种培养基（图 2-7）。

脱分化培养基
MS培养基中加入质量浓度为0.1mg/L的6-BA和IAA。

生芽培养基
MS培养基中只加入质量浓度为0.1mg/L的6-BA。

生根培养基
无机盐浓度为MS的1/2，添加质量浓度均为0.1mg/L的NAA和IAA。

图 2-7　三种培养基

配制以上培养基时，先称量 10g 琼脂及 30g 蔗糖，加入 800mL 蒸馏水中，加热使琼脂及蔗糖溶解。再根据培养基的配方，加入一定量的各种母液、相关激素等成分，充分混匀后加蒸馏水定容至 1000mL。用浓度为 0.1mol/L 的 NaOH 或 HCl 溶液调节 pH 到 5.7。最后分装到锥形瓶中，每瓶分装 50mL 或 100mL。用包在纱布中的棉塞封严瓶口，外面包一层牛皮纸。将配制好的培养基放入高压蒸汽灭菌锅，121℃灭菌 20min。

2. 外植体的选取和消毒

在晴天，选择未开花月季新萌生的健壮侧枝，取嫩茎 1~2cm。先用清水洗净，再用体积分数为 70% 的酒精浸 5s 后，立即放入质量分数为 2% 的次氯酸钠溶液中浸泡 6~10min；取出月季嫩茎，在无菌水中至少清洗 3 次，漂净消毒液，用无菌滤纸吸干。

图 2-8　接种

3. 接种

无菌接种前先用 70% 的酒精消毒工作台，再点燃酒精灯。在超净工作台上铺上无菌滤纸，将已消毒的月季嫩茎切成小段（长 0.5~1.0cm），迅速接种到“脱分化培养基”上（图 2-8）。接种时锥形瓶口应斜向火焰，在酒精灯火焰附近操作，器械使用前后都要用火焰灼烧灭菌。插入时应注意方向，使嫩茎的形态学下端接触培养基，不要倒插。每瓶接种 6~8 段嫩茎。接种后，将锥形瓶的瓶口在酒精灯火焰上转动灼烧一遍，将封口膜重新扎好，贴上标签，做好记录。

4. 培养

接种后的锥形瓶放在恒温的无菌培养箱中培养，并定期进行消毒。培养温度应控制在 18~22℃，经过 20d 左右就可在茎段基部形成愈伤组织。将愈伤组织接种到“生芽培养基”上，每天应保证至少 12h 的光照，光照强度约为 1500lx，也可使用自然光。培养 10d 左右可见愈伤组织上长出小芽，小芽继续生长成枝条。待枝条长到 3cm 左右时，将它切下后插在“生根培养基”上诱导生根，培养 7~10d，可形成试管苗。

5. 试管苗的驯化和移栽

当小苗长到 5~6cm、基部形成根时，即可进行驯化移栽。试管苗是在无菌、充分营养供给、适合的光照和温度以及 100% 相对湿度环境中生长的。刚出瓶的试管苗对外界环境不太适应，要逐步驯化适应，以提高成活率。

将试管苗培养瓶的瓶口敞开一半，放置在 20~25℃的遮阴环境中，适应 7~14d。若试管苗不萎蔫、有新生长的趋势，便可将试管苗取出，小心洗净黏附在根上的培养基，植入盛有培养土的花盆中，浇足水分，罩上带孔的塑料薄膜，将花盆放置在 20~25℃的阴凉处 3~5d。

待幼苗长出新叶后，揭去塑料薄膜，再过 7~10d，幼苗即可移栽。

分析讨论

1. 愈伤组织诱导分化形成芽和诱导分化形成根的顺序能否颠倒？为什么？
2. 为了使培养物不被污染，你们小组在整个组织培养过程中采取了哪些措施？
3. 请根据上面的实验过程，概括出植物组织培养技术的流程。

研究表明，不同的植物进行组织培养的难度差异很大，菊花、月季、烟草、胡萝卜等植物组织培养较容易，而梅花、柏树等植物相对困难。科研人员通过改进组织培养工艺、优化培养条件等探索，攻克了许多植物不能进行组织培养的难题。现在已有越来越多的植物可以通过组织培养来实现快速繁殖。

阅读空间

植物细胞再分化的途径

菊花、草莓、马铃薯等绝大多数植物的愈伤组织发生再分化时可形成不定芽（图 2–9）、不定根，最终可形成具有根、茎、叶的试管苗。胡萝卜、康乃馨等植物的愈伤组织可诱导分化出具有类似胚芽、胚根、胚轴的结构，即胚状体，再由胚状体继续发育形成具有根、茎、叶的试管苗。人们将胚状体包裹在能提供营养的胶囊里，再在外层包上具有保护作用的人工种皮，就可以得到人工种子（图 2–10）。

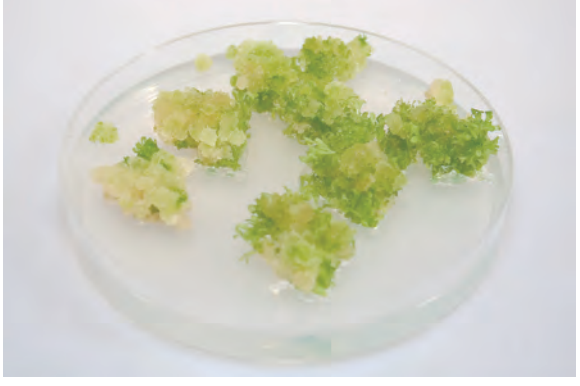


图 2–9　再分化形成的不定芽

图 2–10　人工种子发芽

二、体细胞杂交技术使两种细胞融合育出新植株

1972 年，美国遗传学家卡尔森（P. Carlson）等采用细胞融合方法，将粉蓝烟草和郎氏烟草两个物种的体细胞融合在一起，诱导培育出世界上第一株体细胞杂交植株。

植物体细胞杂交首先要实现不同植物细胞之间的融合。由于植物细胞外有细胞壁，只有去掉细胞壁后细胞才能融合。目前除去细胞壁最常用的方法是酶解法，即在温和的条件下用纤维素酶、果胶酶等分解细胞壁。去掉细胞壁后的植物细胞称为原生质体，因此植物的细胞融合也称为原生质体融合。

诱导原生质体融合的方法主要分为化学法和物理法两大类。化学法一般是用聚乙二醇（PEG）进行诱导，物理法包括电刺激、离心等。诱导融合时，由于细胞之间的接触是随机的，不同种的原生质体相互融合可形成杂合细胞，同种细胞的原生质体也可相互融合形成自体融合细胞，所以还需要通过筛选淘汰非杂合细胞。筛选出的杂合细胞继续培养形成新的细胞壁后，标志着原生质体融合已经完成。最后，利用植物组织培养技术，可将杂合细胞培育成一株完整的植物体。

这种将不同植物体细胞在一定条件下融合成杂合细胞，继而培育成新植物体的技术称为植物体细胞杂交技术。该技术主要包括原生质体的制备、原生质体的融合、杂合细胞的筛选与植物组织培养等环节（图 2–11）。

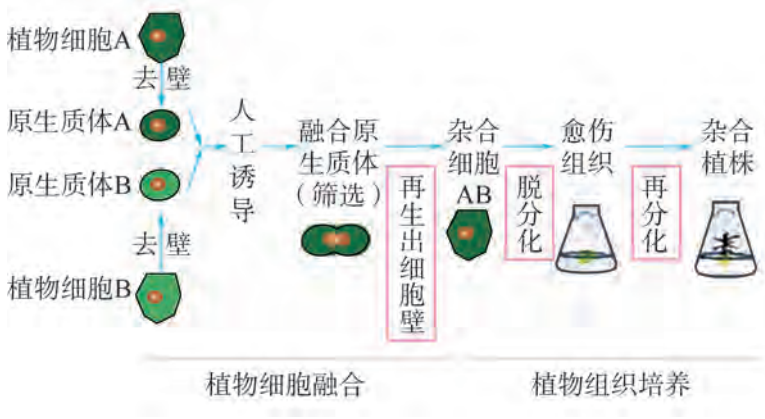


图 2–11　植物体细胞杂交过程示意图

通过植物体细胞杂交技术形成的杂合植株含有两个物种的遗传特性，因而这种方法克服了远缘杂交不亲和的障碍，为培育植物新种提供了全新的研究方向。

三、植物细胞工程的应用提高了生产效率

植物组织培养技术和体细胞杂交技术都属于植物细胞工程，这些技术常用于植物的快速繁殖、种苗脱毒、生产次生代谢产物及培育植物新品种等方面，进而提高了生产效率。

植物的快速繁殖　在生产中，可从一株植物上获取大量的外植体，通过植物组织培养，短期内即可获得大量种苗，实现植物的快速繁殖。通过该技术，可以在较短时间内利用一株植物繁殖出几十万乃至几百万株幼苗。因此，它对濒危植物的保护、名贵花木的大规模生产有着积极的意义。目前，植物的快速繁殖技术推动了兰花、珙桐、人参等植物的试管苗的大量种植，取得了良好的社会效益和经济效益。

植物种苗脱毒　马铃薯在种植过程中经常会受到病毒、细菌和真菌等病原体感染，导致品质和产量下降，采用喷洒农药的方式一般只能清除入侵的真菌和细菌，但不能有效地清除入侵的病毒。研究发现，植物分生区一般不会受到病毒侵染，把茎尖等分生组织从感染病毒的植株上剥离，在离体条件下进行组织培养，可获得不含病毒的脱毒苗（virus-free cutting），这一过程称为种苗脱毒。实验证明，通过种苗脱毒可有效地防止种薯退化，大幅度提高马铃薯产量（图 2–12）。利用植物组织培养技术，已培育出了大量的无病毒种苗，成功实现了甘薯、生姜、大蒜、草莓等多种农作物的脱毒，提高了农作物的产量。

图 2–12　脱毒马铃薯（左）和普通马铃薯（右）

生产次生代谢产物　科学家发现，某些植物细胞代谢过程中能够产生对人类有用的有机化合物。这些与植物的生长发育无直接关系，却对植物适应不良环境或抵御病原物侵害、对植物的代谢调控等有重要作用的化合物，被称为次生代谢产物，如紫杉醇就是红豆杉属植物（图 2–13）中的次生代谢产物。紫杉醇能够抑制细胞分裂，阻止癌细胞的增殖，是天然抗癌药物。而红豆杉属植物中紫杉醇的产量极低，远远不能满足市场的需求。人们利用植物组织培养技术获得愈伤组织或细胞，从中直接提取紫杉醇，大

图 2–13　红豆杉

幅提高了紫杉醇的产量，减少了对天然树木的砍伐。目前，利用植物组织培养技术还可以生产多种次生代谢产物，如人参皂苷等天然药物，花青素、甜菊苷等食品添加剂，鱼藤碱、除虫菊酯等生物农药，木瓜蛋白酶、SOD 酶等酶制剂。

培育植物新品种　植物体细胞杂交技术自诞生以来便备受人们关注，科研工作者通过大量实验与探索，获得了一些具有优良性状的植物新种，如白菜－甘蓝（图 2-14）、胡萝卜－羊角芹、烟草－海南烟草等。该技术不仅可用于培育具有优良性状的植物新种，还可利用融合的杂交细胞生产所需产品，如将人参细胞与胡萝卜细胞融合，得到的杂合细胞也能合成人参皂苷，甚至有的细胞中人参皂苷的含量比人参细胞还高。但目前利用植物体细胞杂交技术培育出的新种成功应用于农业生产的例子还较少，其潜力还需要科研工作者继续开发与探索。

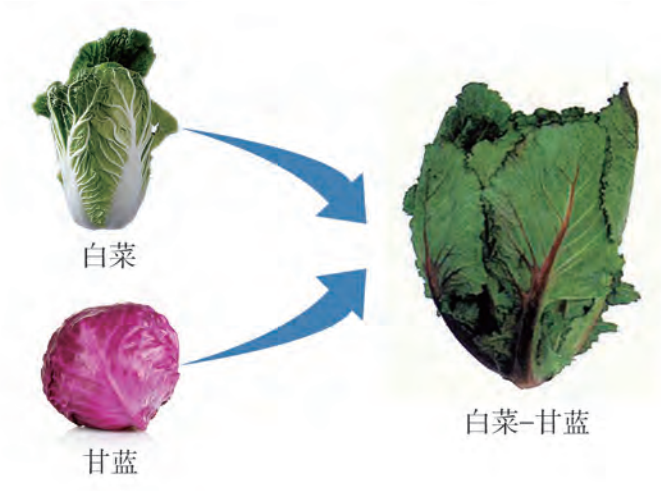


图 2-14　白菜－甘蓝

植物细胞工程包括组织培养和体细胞杂交等技术，这些技术在植物细胞、组织或器官水平上进行操作，在离体条件下进行培养，从而加速繁殖植物、提取有用物质或创造植物新种等，大大提高了生产效率。植物细胞工程已在科学研究和生产上开辟了众多新领域，成为人类有效利用自然资源的重要技术手段。随着生物学基础理论研究的不断深入、技术手段的不断更新，植物细胞工程一定会为现代农业和生命科学技术的发展作出更大的贡献。

学业检测

1. 草莓的营养繁殖易将所感染的病毒传给后代，导致产量降低、品质变差。运用植物组织培养技术可以培育出无病毒植株。回答下列问题：

（1）植物组织培养常用 MS 培养基，该培养基中的蔗糖能为离体组织细胞提供_____和能源，同时能够维持细胞的_____。与微生物培养基的营养成分相比，诱导愈伤组织的培养基除了添加糖类外，还应该添加_____。

（2）无菌技术是植物组织培养的关键，一般使用_____法对培养基进行灭菌；外植体消毒一般采用体积分数为 70% 的酒精和氯化汞（或次氯酸钠）溶液处理，但处理既要考

虑药剂的消毒效果，又要考虑植物的耐受能力。若要探究对外植体消毒的最佳处理时间，实验的因变量应该是外植体的_____和_____。

（3）科研人员研究了草莓茎尖长度对分化苗的形成及脱毒效果的影响，结果如下表。下列相关叙述错误的是（　　）。

处理	外植体数	分化苗数	脱毒苗数
小于 0.3mm	20	1	1
0.3~0.5mm	20	10	7
大于 0.6mm	20	13	4

A. 茎尖越短，分化苗的形成越困难

B. 茎尖越长，脱毒苗所占比例越低

C. 0.4mm 的茎尖比 0.6mm 的茎尖中的分生区细胞多

D. 选取 0.3~0.5mm 的茎尖有利于培养脱毒草莓苗

2. 人参是名贵的中药材，但长期以来，由于过度采挖，野生人参濒临灭绝。研究人员利用植物组织培养技术，实现了人参的快速繁殖。请分析回答：

（1）图中①、②、③号培养瓶中的培养液成分是否有差异？为什么？

（2）利用液体培养基进行组织培养，应该特别注意控制哪些实验条件？

（3）人参根中的单个细胞经培养能够形成完整植株，根本原因是什么？

（4）随着科学技术的发展，培养技术的不断完善，植物组织培养技术的应用越来越广泛，请列举该技术在生活或生产中的其他应用。

第二节　动物细胞培养是动物细胞工程的基础

图 2-15　“人造牛肉”汉堡

你可知道，荷兰生物学教授波斯特（M. Post）手里的这份汉堡（图 2-15）有什么特殊之处吗？这份汉堡中的牛肉是波斯特把牛的肌肉细胞放在培养液中培育得到的。这种人工培育的牛肉能防止疯牛病病毒、口蹄疫病毒等动物病毒的感染，为人类获取更多的健康食品探索出了一条新的途径。那么，培养动物细胞需要控制好哪些条件？培养过程中细胞会发生哪些变化呢？

一、动物细胞培养经历原代培养和传代培养

动物细胞培养是从动物体中获得相关组织，分散成单个细胞后，在适宜的培养条件下让细胞生长和增殖的过程。

1907 年，哈里森（R. Harrison）在无菌条件下用淋巴液作培养基，培养蛙胚神经组织存活数周，并观察到神经细胞突起的生长过程，奠定了动物细胞体外培养的基础。后来的半个多世纪中，科学家对动物细胞培养技术不断进行改进。1957 年，杜尔贝科（R. Dulbecco）等人采用胰蛋白酶处理和应用液体培养基的方法，培养获得了单层细胞，此后单层培养成为动物细胞培养中普遍采用的技术。

进行动物细胞培养时，首先取健康动物的一小块组织并剪碎，用胰蛋白酶处理，使其分散成单个细胞，再与特定培养液混合，制成一定浓度的细胞悬液，最后转入培养瓶中，在适宜条件下培养。像这种直接从动物体获取组织或细胞后，进行的第一次培养过程称为原代培养（primary culture），也叫初代培养（图 2-16）。

图 2-16　原代培养过程示意图

淋巴细胞、癌细胞等少部分细胞能够在悬浮状态下持续生长，而大部分动物细胞在培养液中悬浮生长一段时间后，会贴附在培养瓶的表面生长，这种现象称为贴壁生长（图 2–17）。当培养的细胞生长到表面相互接触时，细胞就会停止分裂，逐渐走向衰亡，这种现象称为接触抑制（contact inhibition）（图 2–18）。培养瓶中的细胞出现接触抑制后，需要用胰蛋白酶将细胞从瓶壁上脱离下来，重新分散稀释成细胞悬浮液，分装到多个培养瓶中继续培养（图 2–19）。细胞由原代培养瓶中分离稀释后，转到新的培养瓶中继续培养的过程称为传代培养（subculturing）。

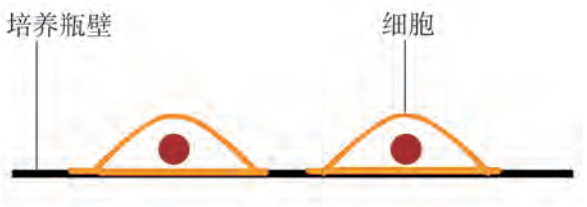


图 2–17　贴壁生长示意图

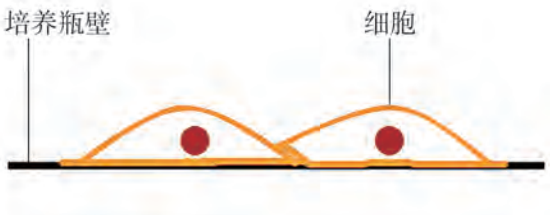


图 2–18　接触抑制示意图

转瓶培养后的细胞一般传至 10 代左右，细胞的生长、分裂就会出现停滞，大部分细胞衰老死亡，但也有极少数细胞能存活下来，并可传至 40~50 代，这种传代细胞称为细胞株。一般情况下，当细胞株传至 50 代以后会再次出现停滞，不能继续传代，但有部分细胞的遗传物质发生了改变，并带有癌变的特点，从而有可能在适宜培养条件下无限传代下去，这种传代细胞叫作细胞系。

图 2–19　分装转瓶

二、动物细胞培养需要适宜的外部条件

在体外培养细胞时，需要提供与体内细胞相似的环境条件，如充足的营养物质，适宜的温度和 pH、稳定的渗透压等，以保证培养的细胞能正常生长、增殖。

充足的营养　体外培养的动物细胞需要从培养液中获取各种营养物质，如水、葡萄糖、氨基酸、无机盐、维生素等，以维持自身的生命活动。因此，在进行动物细胞培养过程中，应定期更换培养液，以便及时补充营养物质，清除代谢产物，防止代谢产物积累对细胞造成伤害。同时，不同来源的细胞还需要添加不同的生长因子（如表皮生长因子、成纤维细胞生长因子等）。生长因子对促进细胞生长、维持细胞形态及功能具有十分重要的作用。目前进行动物培养时，补充生长因子的常用方法是向培养液中添加一定量的动物

血清。

严格的无菌环境　体外培养动物细胞时，细胞极易因病毒、细菌和真菌等微生物的感染而死亡，所以培养过程需要严格执行无菌操作，同时还需向培养液中加入适量的抗生素，预防由于操作不慎而产生微生物污染。

适宜的温度　体外培养动物细胞时，可以根据该动物的体温选择适合的培养温度。大部分哺乳动物细胞包括人体细胞培养的最适温度为（36.5 ± 0.5）℃，偏离这一范围，细胞的正常代谢就会受到影响。体外培养的细胞对低温的耐受能力比对高温的耐受力强。

阅读空间

细胞的冻存和复苏

在培养细胞的过程中，有时需将培养的细胞保存起来，如胎儿分娩时获得的脐带血干细胞、实验室用于研究的各种细胞等。保存细胞的措施主要是降低温度。短期和临时性的保存可以采用一般的低温，如哺乳动物的细胞在4℃左右可存活几十天甚至几个月。长期保存细胞的方法，目前一般采用超低温冻存法，即将细胞和保护剂放入–196℃的液氮中进行保存（图2–20）。在超低温环境下，细胞的代谢活动降到了最低点，近似于“休眠”状态。当需要这些细胞时，可以将它们取出后，迅速放入37℃的温水中解冻，细胞便会逐渐“苏醒”过来，再经过培养，细胞就能继续正常生长。

图2–20　冻存细胞

适宜的气体环境和pH　体外培养动物细胞时，气体环境一般由体积分数为95%的空气和5%的二氧化碳构成。这样既可以防止因培养液中溶解氧浓度过高导致细胞受到损伤，也可利用较高浓度的二氧化碳在一定程度上维持培养液的pH稳定。大多数细胞的适宜pH为7.2~7.4，过高或过低都会影响细胞的生长，所以一般还需向培养液中添加适量的$NaHCO_3$溶液以维持培养液pH的稳定。

稳定的渗透压　在细胞培养过程中，细胞代谢产物积累、pH的调节、培养液的补充等，都会影响培养液的渗透压。渗透压过高或过低都会影响动物细胞的代谢活动，甚

至造成细胞死亡。研究发现，在培养液中加入渗透压保护剂，如甘氨酸、甜菜碱、脯氨酸和苏氨酸等，可以缓解培养液中渗透压改变对细胞生长的影响。

目前，动物和人的绝大多数细胞都可在体外培养，但由于对细胞所处的体内环境还未完全研究清楚，人工模拟的环境与体内细胞的生活环境可能不完全相同，加之缺少神经系统和内分泌系统的调节作用等因素，体外培养的细胞在生长、增殖和功能等方面与体内细胞相比还存在差异，这有待今后进一步研究。

思维训练

认识动物细胞培养反应器

生物反应器是人们对生物体进行有控制的培养，以生产某种产品或进行某种反应的容器。随着生物技术的发展，动物细胞培养已逐渐从实验室培养过渡到工业化的生物反应器中。通过动物细胞的大规模培养，可以得到疫苗、诊断试剂、抗体、酶等生物产品。较大规模的工业化生产更需要严格控制细胞培养所需要的条件。下图为某种动物细胞培养反应器的工作流程示意图（图 2–21）。请仔细观察并分析这种反应器的基本工作原理。

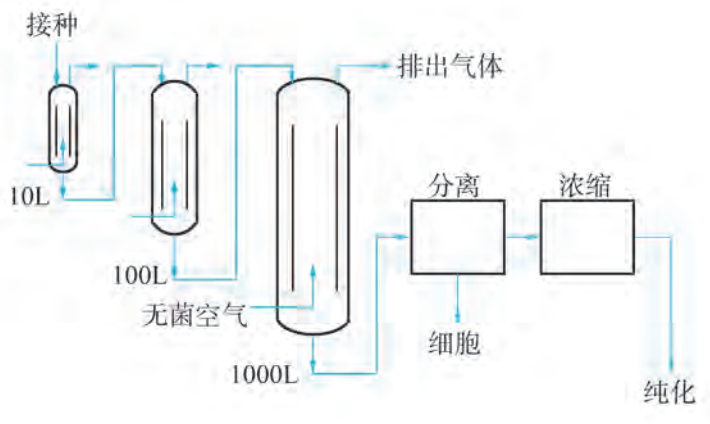


图 2–21　规模化动物细胞培养流程图

1. 该反应器能获得哪些类型的生物产品？
2. 该反应器从底部通入无菌空气有哪些作用？
3. 该反应器与实验室用培养瓶进行传代培养相比，有哪些优点？
4. 为了更好地模拟体内细胞的生活环境，尝试提出针对该细胞培养反应器的改进措施。

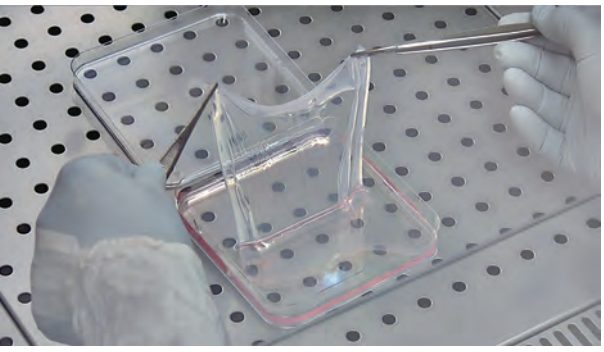


图 2-22　人工皮肤

动物细胞培养技术日趋成熟，已被广泛应用于生物制品的生产、临床治疗、药物检测等方面。在临床治疗上，为避免移植他人皮肤造成的免疫排斥反应，可用烧伤病人自己的细胞来培养人工皮肤（图 2-22）进行移植。另外，在生物学基础理论研究（如细胞全能性、细胞周期及其调控、细胞衰老机制与癌变）、细胞融合、核移植技术、干细胞技术等的研究中，都离不开细胞培养技术，可以说动物细胞培养技术是动物细胞工程中最基础的技术。

学业检测

1. 新型抗肿瘤药物 Y 具有见效快、机体不易对该药产生耐药性等优点。某研究小组以小鼠肝肿瘤细胞（甲）和正常肝细胞（乙）为材料进行了相关实验。请回答下列问题：

（1）进行实验时，需首先利用 _____ 处理肝组织块，使其分散成单个细胞，然后制成细胞悬液进行培养。用于实验的肝组织块一般应从幼龄小鼠获取，其原因是 _____。

（2）在进行细胞培养时，培养液中除加入细胞所需的营养物质外，还需添加一定量的抗生素，其目的是 _____；培养所需的气体环境一般是 _____；此外，还应定期更换培养液，主要目的是 _____。

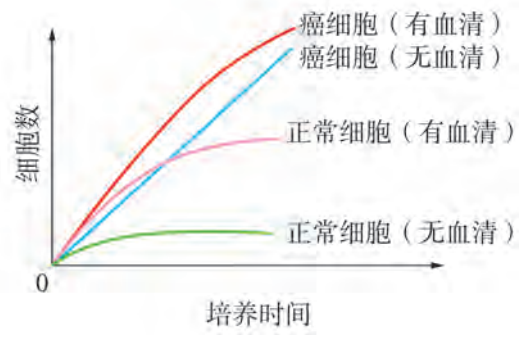
（3）若需检测药物 Y 对正常肝细胞的毒性，能否选取传代到 60 代以后的肝细胞？原因是什么？

（4）已知肝细胞中 X 基因的过量表达与肝肿瘤的发生密切相关，若要检测药物 Y 的疗效，应该如何设计实验？请写出实验的主要思路。

2. 血清是由血浆去除纤维蛋白原后形成的一种复杂的混合物，呈淡黄色透明液体状。进行动物细胞培养时，通常要在培养液中补充一定浓度的血清。

（1）在进行动物细胞的体外培养时，培养液中加入血清的作用是 _____ _____。

（2）下图是血清对正常细胞和癌细胞培养影响的实验结果。从该图提供的信息不能获得的结论是（　　）。



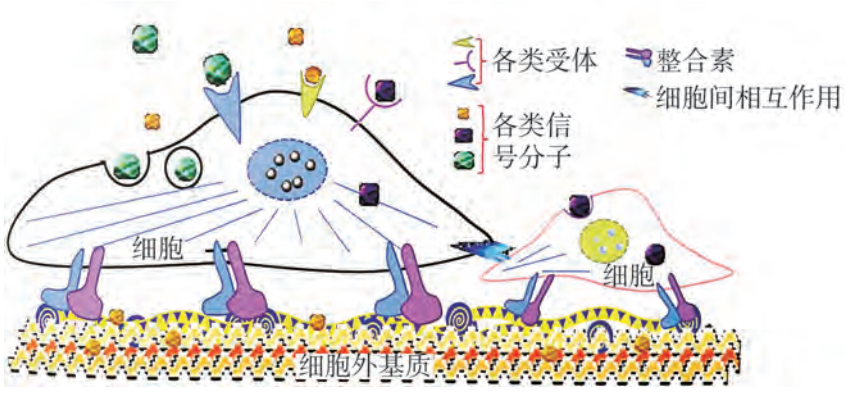
A. 血清能促进体外培养细胞的体积增大

B. 血清能促进癌细胞的分裂增殖

C. 培养基中补充血清有助于正常细胞的培养

D. 血清对癌细胞增殖的影响小于对正常细胞的影响

3. 体外细胞培养的关键问题是如何模拟体内细胞的生活环境。了解和认识细胞在体内所处的微环境以及细胞与微环境的相互作用，可以更好地指导体外培养的过程。下图是体内细胞与其所处的微环境的相互作用示意图，请据图分析，体外培养的细胞所处环境与体内生长的细胞所处环境相比都有哪些差异?



第三节　利用动物细胞融合技术可制备单克隆抗体

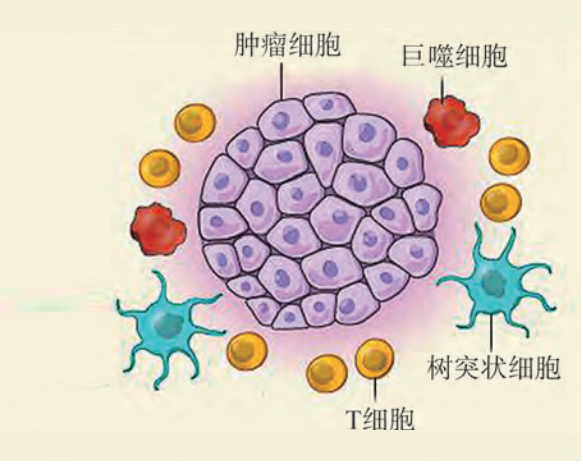


图 2-23　几种细胞的示意图

人体血液中的树突状细胞（图 2-23）是一种具有很强的抗原呈递功能的淋巴细胞。近年来的研究发现，树突状细胞与肿瘤细胞融合形成的杂交瘤细胞，既能表达肿瘤抗原，又能合成激活 T 细胞的相关刺激分子。用此方法制成的肿瘤疫苗可以诱导机体产生较强的特异性免疫反应，这为癌症的治疗提供了新的方法。但如何才能让两个不同的细胞融合？细胞融合技术在生产实践中有哪些应用？

一、细胞融合技术使不同细胞结合成一个细胞

动物细胞融合是指通过物理、化学或生物学等手段，使两个或多个动物细胞结合形成一个细胞的过程。融合形成的细胞称为杂交细胞，它是具有原来两个或多个亲本细胞遗传信息的单核细胞。

1962 年，科学家利用灭活的仙台病毒，使体外培养的腹水瘤细胞成功发生融合。后来科学家们又成功地诱导了不同种动物的体细胞融合，并且能将杂交细胞培养成活。不论是同种细胞还是不同种细胞，其融合的过程基本是相同的。第一阶段是通过一定的技术手段（如灭活的病毒）诱导两个亲本细胞相互充分接触。第二阶段是相互接触的细胞膜因磷脂分子和蛋白质分子的运动而发生融合，两个细胞最终融合成一个细胞（图 2-24）。

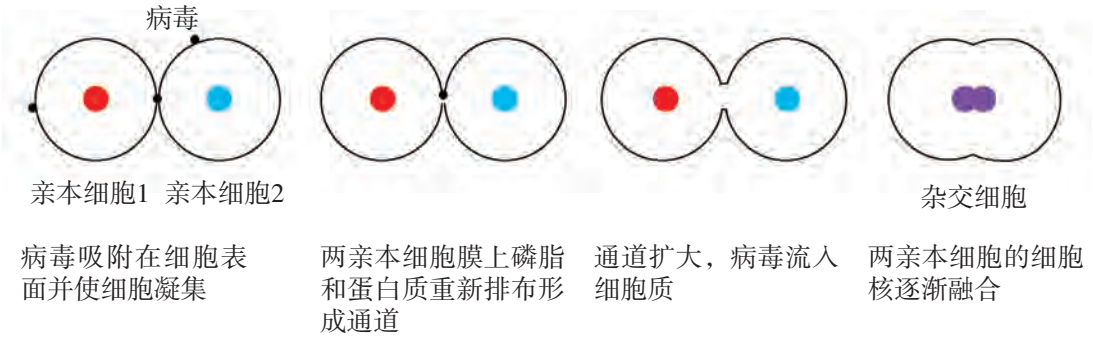


图 2-24　灭活的病毒诱导细胞融合的过程示意图

人工方法诱导两种不同细胞融合时，细胞间的融合是随机的，既可以是不同细胞相互融合形成杂交细胞，也可以是相同细胞形成自体融合细胞，同时还存在许多未发生融合的细胞。因此，需要设计和使用合适的筛选方案选出所需的细胞。

经过科学家们的不断探索，促进细胞融合的技术手段越来越丰富，融合率也逐步提高。目前用于促进细胞融合的主要技术可分为三类：物理法（离心、振动、电激等）、化学法（聚乙二醇）和生物法（灭活的病毒）。随着细胞融合的技术手段不断改进，融合的对象也不断扩展，从动物、植物到微生物，从种内扩展到种间，从近缘物种扩展到远缘物种，每一次技术上的更新和改进都会带来应用上的革命和创新。

二、细胞融合技术是单克隆抗体制备的重要技术

抗体是由成熟的 B 淋巴细胞（即浆细胞）产生的一类能与抗原特异性结合的免疫球蛋白，在免疫系统中具有重要作用。通常，人和动物会受到多种抗原的刺激，体内会同时存在多种抗体。直接从动物血清中提取某种所需的抗体很困难，且产量很低。那么要如何才能获得大量的单一种类的抗体呢?

1975 年，德国科学家科勒（G. Köhler）和英国科学家米尔斯坦（C. Milstein）用灭活的仙台病毒，诱导小鼠的 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合形成杂交瘤细胞（hybridoma cell），然后大量培养杂交瘤细胞，从而获得了所需的单一种类的抗体。像这样，利用单个细胞进行克隆形成细胞群，然后培养这些细胞，所生产出的化学性质单一、特异性强的抗体，称为单克隆抗体（monoclonal antibody）。

阅读空间

克　　隆

“克隆”（clone）一词起源于希腊文“klone”，原意是用“嫩枝”或“插条”进行繁殖。用现代的观点来解释，克隆是指从一个共同的祖先，通过无性繁殖的方法产生出来的一群遗传特性相同的分子、细胞或个体。如一个 DNA 分子经过复制扩增得到很多个 DNA 分子，属

于分子克隆；一个细胞经过分裂得到多个相同的细胞，属于细胞克隆；一个动物个体通过生物技术手段无性繁殖出与原个体相同的后代，属于个体克隆。

制备单克隆抗体的流程主要有：抗原准备及动物免疫、细胞融合、杂交瘤细胞的筛选、杂交瘤细胞的增殖及抗体提取等（图 2–25）。

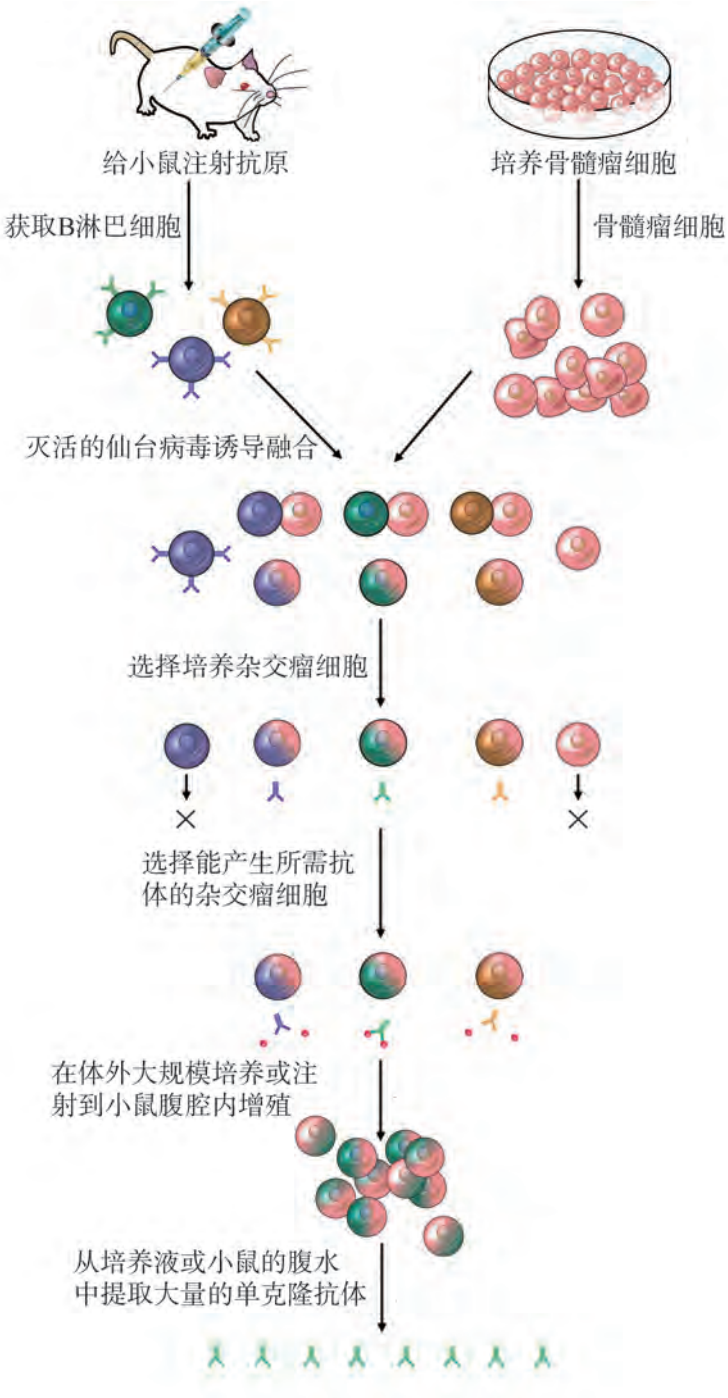


图 2–25　单克隆抗体制备过程示意图

单克隆抗体问世后，因其特异性强而被大量应用于临床。单克隆抗体既可以用于疾病的诊断，也可用于疾病的治疗。如利用单克隆抗体可特异性识别抗原物质的特点，研制出了具有精确“定位”能力的抗癌“药物导弹”，它能将药物准确地引导到癌细胞表面并予以攻击，以提高抗癌药物的特异性和抗癌效率。

思维训练

调查单克隆抗体的应用

单克隆抗体具有化学性质单一、特异性强的特点，不仅应用于疾病的诊断和治疗，在食品生产以及科学研究中也都有广泛的应用。

1. 请以小组为单位，通过走访相关单位，查阅报纸杂志、互联网等多种途径，调查临床医学、食品生产和科学研究中单克隆抗体的应用实例。

2. 根据单克隆抗体的特性，选择某一特定的应用实例，说明其应用的原理，了解其在应用中还有哪些问题，尝试提出解决这些问题的理论方案。

3. 把搜集的资料按照应用领域进行分类，并以多种形式进行交流，如分组讨论、班级研讨会、制作黑板报或举行图片资料展览等。

随着细胞融合技术的不断发展，其应用越来越广泛。除了用于单克隆抗体的制备以外，还为核质关系、基因调控、细胞免疫、肿瘤发生等基础理论研究提供了有力的手段，在细胞学、遗传学、免疫学、病毒学等学科的研究工作中，将发挥更大的作用。

学业检测

1. 酿酒酵母是酒精工业中重要的生产菌株，但它一般不能直接利用淀粉产生酒精，而糖化酵母能够产生淀粉糖化酶使淀粉水解，但酒精产量低，研究人员尝试利用细胞融合技术培育既能水解淀粉又能产生较高浓度酒精的新型酵母菌株。请回答：

（1）实现细胞融合的原理是什么？目前，在离体条件下实现细胞融合常用的诱导手段有哪些？

（2）酵母菌的细胞融合与动物细胞融合相比，有什么不同？

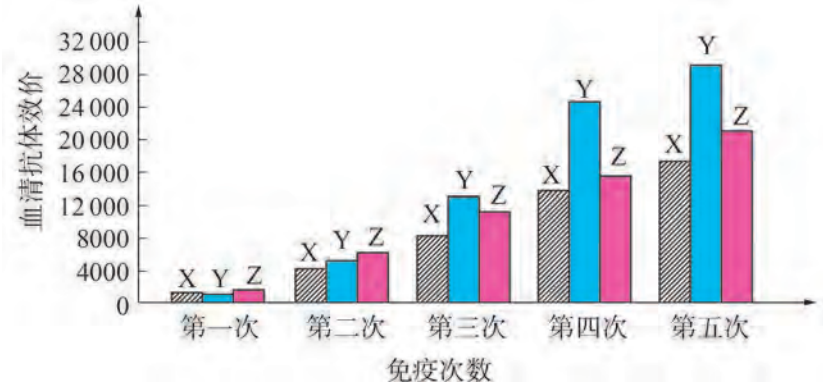
（3）请设计实验，利用细胞融合技术培育出既能水解淀粉又能产生较高浓度酒精的新型酵母菌株，并用文字和箭头写出实验流程。

2. T 细胞是人体中重要的免疫细胞，其细胞膜表面有程序性死亡蛋白–1（PD–1），肿瘤细胞表面会过量表达程序性死亡蛋白配体–1（PD–L1），PD–L1 与 PD–1 结合后会抑制 T 细胞的活性，导致 T 细胞不能杀死肿瘤细胞（见下图）。阻断 PD–1 与肿瘤细胞的 PD–L1 结合是清除肿瘤细胞的关键。近年来，研究人员对利用细胞融合技术生产单克隆抗体类抗肿瘤药物进行了很多研究，2018 年底，我国首个抗 PD–1 的单克隆抗体药物获批上市。请回答：

（1）根据以上信息分析，利用细胞融合技术生产该类单克隆抗体药物可以分为哪两种？请写出利用细胞融合技术制备该类抗肿瘤的单克隆抗体药物的基本流程。

（2）在进行细胞融合的过程中，融合体系中会出现多种融合细胞，其原因是什么？利用细胞融合技术生产单克隆抗体的过程中，需经过两次筛选才能得到所需的融合细胞，第一次筛选的目的是选出哪类细胞？第二次筛选的目的是选出哪类细胞？请查阅相关资料，了解两次筛选的方法。

（3）制备单克隆抗体时，获得能产生所需抗体的 B 淋巴细胞至关重要。研究人员欲利用小鼠来生产该类单克隆抗体，他们用抗原（A）分别免疫 3 只同种小鼠（X、Y 和 Z），每只小鼠免疫 5 次，每次免疫一周后测定各小鼠血清抗体的效价（能检测出抗原抗体反应的血清最大稀释倍数），结果如下图所示。



该研究中，注射入小鼠体内的抗原 A 是_____；制备融合所需的 B 淋巴细胞时，所用免疫小鼠的血清抗体效价需达到 16 000 以上，则小鼠最少需要经过_____次免疫后才能有符合要求的 B 淋巴细胞。达到要求后的 X、Y、Z 这 3 只免疫小鼠中，最适合用于制备 B 淋巴细胞的小鼠是_____，理由是_____。

第四节　核移植和干细胞技术具有广阔的应用前景

孙悟空神通广大，《西游记》中写道，他“拔一把毫毛，丢在口中嚼碎，望空喷去，叫一声‘变’！即变作三二百个小猴”。孙悟空这样神奇的本领曾令我们无限神往。2017 年，中国的科学家将这一幕变成了现实，他们利用体细胞核移植技术成功克隆出两只猕猴“中中”和“华华”（图 2-26）。克隆猴的过程当然不会像孙悟空吹口气那么简单，最大的困难是如何才能激发动物细胞表达其全能性。克隆动物都需要经过哪些过程？我们能将体细胞核移植技术与干细胞技术结合，克隆人体的器官吗？

图 2-26　克隆猴“中中”“华华”与《西游记》中的孙悟空

一、核移植技术可实现动物体细胞核的全能性

高度分化的植物细胞可直接通过组织培养技术培育出完整的新个体，说明其具全能性，而高度分化的动物细胞不能直接培育出完整的新个体。这是否意味着，随着动物细胞的分化，其全能性逐渐丧失了？

经典再现

动物细胞核移植技术的发展历程

早在 1938 年，德国胚胎学家施佩曼（H. Spemann）就提出了通过细胞核移植技术来克隆动物，从而实现动物细胞全能性的设想。后来很多科学家根据这一设想进行了大量的研究。

［资料 1］ 1952 年，美国学者布里格斯（R. Briggs）和金（T. King）将豹蛙囊胚期细胞的核取出，移植到去核的豹蛙卵细胞中，成功孵育出了豹蛙的幼体。然而，当他们用分化程度更高的细胞进行实验时，没能成功。他们认为，这可能是发育过程中细胞逐渐丢失了部分遗传物质或遗传物质发生畸变所致。

［资料 2］ 1958 年，英国学者戈登（J. Gurdon）等将非洲爪蟾蝌蚪的肠上皮细胞核移入去核的卵母细胞中，成功获得了非洲爪蟾的幼体。这是史上第一例体细胞核移植动物。但是，与早期胚胎细胞的核移植相比，这种体细胞核移植的成功率很低，

只有 2% 左右。

［资料 3］ 1981 年，日内瓦大学的伊尔芒塞（K. Illmensee）和美国杰克逊实验室的霍庇（P. Hoppe）通过注射法将小鼠囊胚细胞核移植入去核的受精卵中，成功克隆出了一只小鼠。1986 年，英国科学家维拉德森（S. Willadsen）又成功利用绵羊胚胎细胞的细胞核与去核的受精卵融合，培育出了克隆羊。后来，科学家先后成功克隆了牛、猪、山羊等哺乳动物。这些哺乳动物克隆所用的细胞核均来自早期的胚胎细胞。

［资料 4］ 1996 年，英国科学家维尔穆特（I. Wilmut）将高度分化的乳腺上皮细胞的细胞核与去核的卵母细胞融合，培育出了克隆羊“多莉”。它是世界第一例体细胞核克隆的哺乳动物。

分析讨论

1. 你认为布里格斯等人对他们实验结果的解释正确吗？说明判断的理由。

2. 为什么用早期胚胎细胞进行核移植的成功率要比用体细胞进行核移植高？

3. 科学家在进行核移植时，大都是将细胞核移植到卵母细胞（或卵细胞）中，而不是直接利用体细胞克隆动物，这是为什么？

4. 克隆动物的实验对象历经从胚胎细胞到体细胞、从低等动物到高等动物的改变，从研究人员的探索历程中你得到了哪些启示？

随着生物学的发展和相关技术的不断完善，动物克隆技术从最初的胚胎细胞克隆发展到了体细胞克隆，其核心都是细胞核移植技术，即将动物的体细胞核移入一个去核的卵母细胞中，并使重组细胞发育成新胚胎，继而发育成动物个体的过程。克隆动物的成功，证明了动物的体细胞核也具有全能性。

利用体细胞核移植技术克隆动物的操作流程一般包括：体细胞核的提取，受体卵母细胞的获取和去核，细胞核的移植，重组细胞的激活（激活的方法主要有电激活法、钙离子激活法、乙醇激活法等），早期胚胎的体外培养和胚胎移植等。

中国科学院神经科学研究所的研究人员就采用体细胞核移植技术成功克隆出了两只猕猴“中中”和“华华”（图 2–27）。这是世界上首例体细胞克隆猴，它们的诞生，标志着我国的动物克隆技术已处于世界领先水平。体细胞克隆猴的成功，将可能改变目前药物研发普遍以小鼠作模型

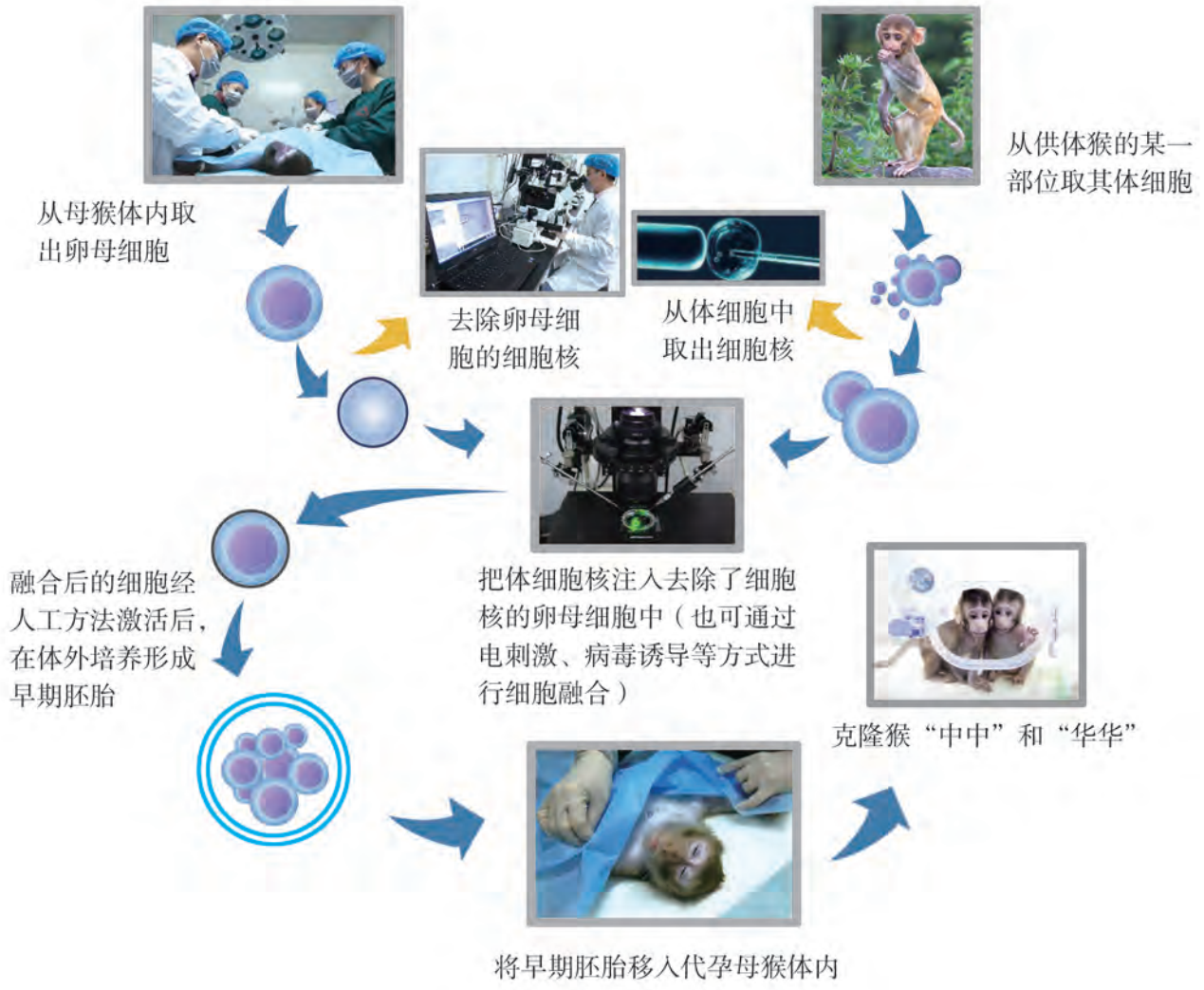


图 2-27　克隆猴“中中”和“华华”诞生过程示意图

动物的现状，促进针对阿尔茨海默病、自闭症等神经系统疾病以及免疫缺陷、肿瘤、代谢性疾病的新药研发进程。

细胞核移植技术在诸多领域正展现出其巨大的应用价值和前景。早在 1997 年，中国科学家就进行了克隆大熊猫的研究。大熊猫的卵细胞不易获取，所以研究者将大熊猫的体细胞核植入去核后的兔卵细胞中，成功地培育出了大熊猫的早期胚胎，为最终克隆大熊猫奠定了基础，为保护和拯救濒危动物开辟了一条新途径。除此之外，该技术还可用于快速培育具有优良品质的家畜、生产各类药物等，对研究胚胎发育过程中的细胞分化、基因调控、核质关系等生物学基础理论问题也有重要价值。

此外，科学家还将细胞核移植技术与干细胞技术相结合，培养所需要的细胞、组织或器官，以解决器官移植中存在的器官来源紧缺和免疫排斥的问题。

二、干细胞技术的发展和应用

在动物生长发育过程中，大多数细胞不断分化，形成各种组织和器官后，这些细胞不再具有分化能力。但机体内仍保留了部分未参与分化或未完全分化的细胞，在一定条件下，这些细胞就可以分裂、分化，产生机体所需的细胞。这类具有自我更新和分化潜能的细胞就是干细胞（stem cell）。

动物体内的干细胞，按照其来源可分为胚胎干细胞和成体干细胞（如造血干细胞、肌肉干细胞等）。胚胎干细胞是从早期胚胎中分离得到的，具有分化形成动物体所有组织、器官的潜能。成体干细胞是存在于机体组织、器官中的未完全分化的细胞，有的分化潜能较高，如造血干细胞具有分化形成循环系统中各种血细胞的能力，但不能分化形成其他系统的细胞；有的分化潜能较低，如肌肉干细胞只能分化形成成肌细胞，不能分化形成其他细胞。

与完全分化的细胞相比，干细胞有两个重要特征：一是可以通过有丝分裂完成自我更新；二是在特定的生理条件或实验条件下，可以分化成其他类型的细胞（图 2–28）。

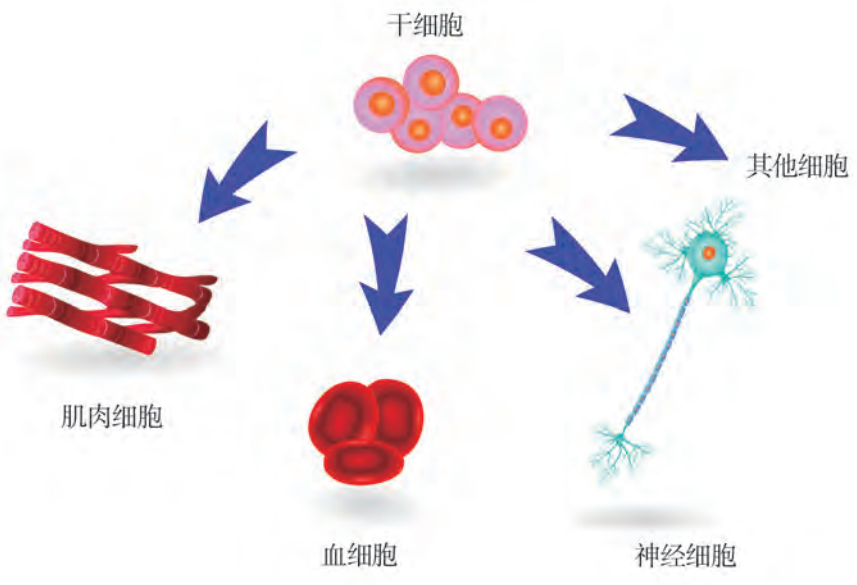


图 2–28　干细胞分化示意图

科学家正致力于研究如何利用干细胞的这些特征，在体外对其进行操作，最终将干细胞培养成所需要的各种细胞、组织和器官，这就是干细胞技术。该技术在治疗疾病

方面正展现着其诱人的前景。

造血干细胞是目前研究最多、最先用于临床治疗的干细胞，它存在于骨髓、外周血（除骨髓之外的血液）和脐带血中，可以分化形成各种血细胞，如红细胞、血小板和各种白细胞，对于维持机体的新陈代谢和免疫应答等功能起着关键的作用。通过造血干细胞移植可以治疗白血病、遗传性血液病（如地中海贫血、再生障碍性贫血、镰状细胞贫血）等疾病。

胚胎干细胞是从哺乳动物的早期胚胎——囊胚中分离培养得到的（图 2–29），它能在体外经诱导分化为特定的细胞，进而培育出人体组织、器官，来替代受损的组织或器官，从而达到治疗的目的，这项技术就是胚胎干细胞移植技术。科学家正在研究用胚胎干细胞治疗神经退行性疾病（帕金森病、阿尔茨海默病等）、糖尿病、心肌坏死等疾病。目前，用于研究的胚胎干细胞来源主要有两种，一是从自然胚胎中获取；二是从通过细胞核移植技术克隆得到的胚胎中获取，这也将是获取胚胎干细胞的主要途径。

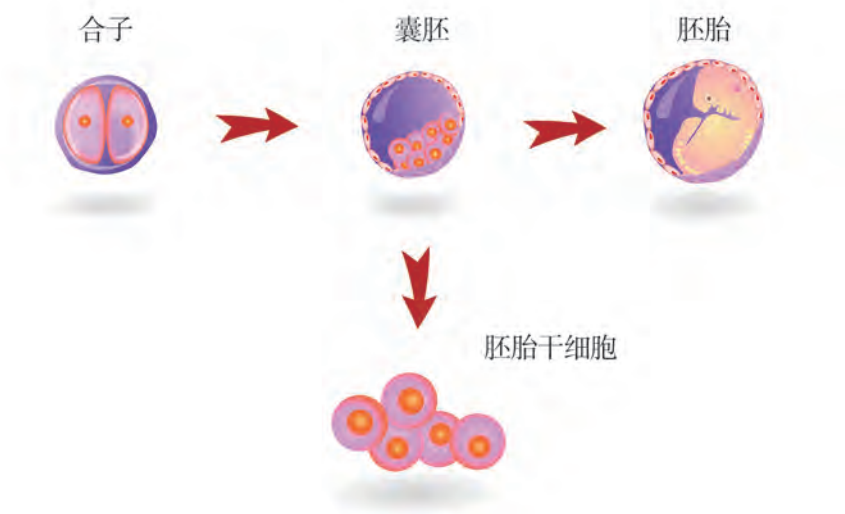


图 2–29　胚胎干细胞的来源示意图

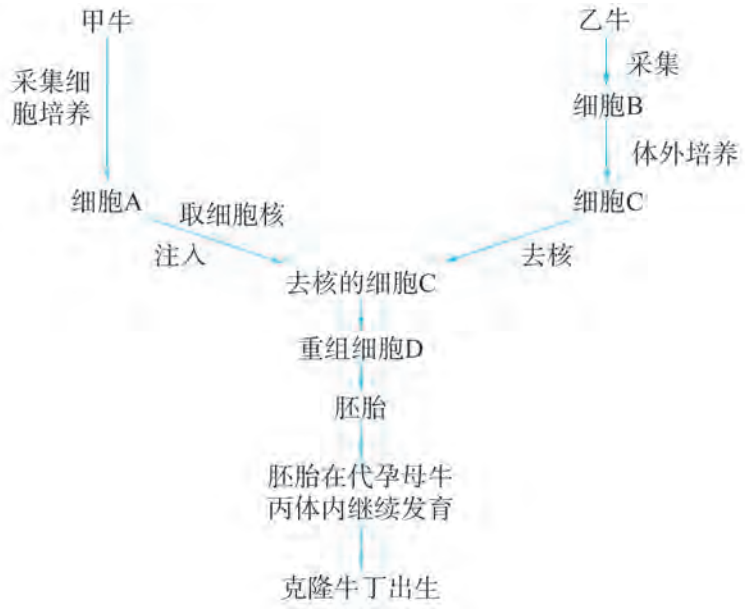
除了机体内存在的这些干细胞外，科学家还可以将已经高度分化的体细胞，经人工诱导形成干细胞，如日本科学家山中伸弥利用小鼠的成纤维细胞在体外经过人工诱导，使其变成类似于胚胎干细胞的人工干细胞，即诱导多能干细胞（induced pluripotent stem cell，iPS）。

动物的细胞培养技术、核移植技术、细胞融合技术和干细胞技术的应用等动物细胞工程技术都是以动物细胞或其组

成成分为研究对象，对细胞或其组分进行操作、加工或改造，使其按照人的意图发生结构或功能等生物学特性的改变，获得人类所需的生物产品甚至创造新的动物品种。随着研究的不断深入，细胞工程技术一定会有更加广阔的应用前景。

学业检测

1. 2006 年，世界上第一头携带了抗疯牛病基因的克隆牛在我国山东淄博诞生，其培育过程如下图所示。请分析回答：



（1）下列关于细胞核移植技术的叙述错误的是（　　）。

A. 利用囊胚细胞克隆动物的成功率明显高于乳腺上皮细胞

B. 细胞核移植可以通过显微操作去除卵母细胞中的细胞核

C. 细胞核移植技术的关键是激发供体细胞核的“全能性”

D. 细胞核移植获得的克隆动物与供核动物的性状完全相同

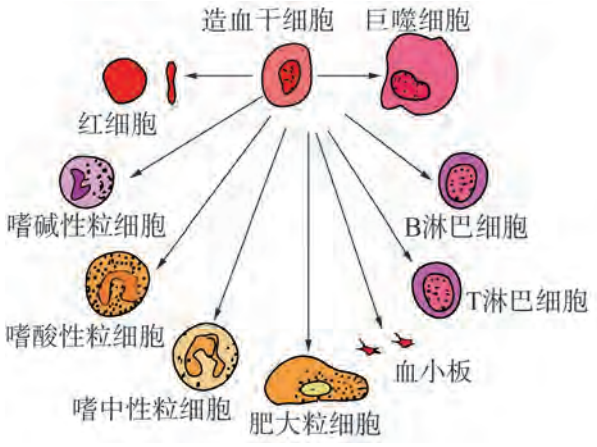
（2）促使重组细胞 D 在体外发育成早期胚胎，需使用的技术手段是_____；重组细胞 D 发育成丁牛的过程中，细胞增殖的方式是_____。

（3）能否直接用细胞 A 体外培养形成胚胎，并将其移植到丙牛子宫内发育成健康小牛？为什么？

（4）上述方法培育出的克隆动物，与植物组织培养技术培育出完整的植株相比，获得的后代在遗传物质方面有什么不同？

2. 脐带血是胎儿娩出后残留在胎盘和脐带中的血液。研究发现，脐带血中含有可以重建人体造血系统和免疫系统的造血干细胞，可用于造血干细胞移植，治疗白血病、地中海贫血、

再生障碍性贫血等疾病。请分析回答：



（1）干细胞是一类未参与分化或未完全分化的细胞，分裂能力强。根据干细胞的来源可将其分为 _____ 两类。

（2）据图分析，脐带血中的造血干细胞能用于移植治疗相关疾病的原因是_____ _____。从免疫学角度分析，脐血自身移植的优点是 _____。

3. 体细胞核移植技术和干细胞移植技术是近年来人类在细胞生物学及发育生物学领域取得的最伟大的成就之一，请查阅相关资料，了解这两项技术的最新研究成果以及在研究和应用上还存在哪些问题，并尝试提出你的解决方案。

第五节　胚胎工程可处理早期胚胎获得目标个体

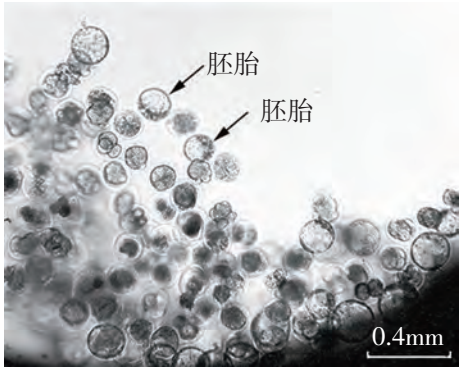


图 2-30　太空中发育的小鼠胚胎

2016 年，我国科学家通过“实践十号”卫星将多枚小鼠早期胚胎带上了太空，利用特殊显微镜成功观测到小鼠受精卵发育成胚胎的过程（图 2-30）。这也是世界上首次证明哺乳动物胚胎细胞可在太空高辐射条件下分裂发育。从两性生殖细胞结合到形成完整的胚胎，生命经过了哪些神秘的历程？人们可否在体外对胚胎进行干预和改造，从而获得所需要的优良个体？

一、胚胎形成经过了受精及早期发育等过程

高等动物普遍的生殖方式是有性生殖，雌、雄生殖细胞结合成为受精卵标志着新生命的开始。鼠、牛和羊等哺乳动物的受精方式是体内受精，但新排出的精子不能立即使卵细胞受精，需要在雌性生殖道中发生一系列生理变化后，才具有受精能力，这一生理现象称为精子获能。获能后的精子耗氧量增加，迅速游向卵细胞并与之结合。精子的头部进入卵细胞后不久，精核就与卵核相遇，使彼此的染色体会合在一起，形成受精卵（图 2-31）。

受精完成后，受精卵开始进行快速而有序的有丝分裂，这个过程叫作卵裂（cleavage）（图 2-32）。由于卵裂期细胞分裂速度快，胚胎细胞来不及长大，下一次分裂就已开始，所以每个细胞越来越小，但胚胎总体积基本不变。当胚胎

图 2-31　受精作用
（放大倍数：4000×）

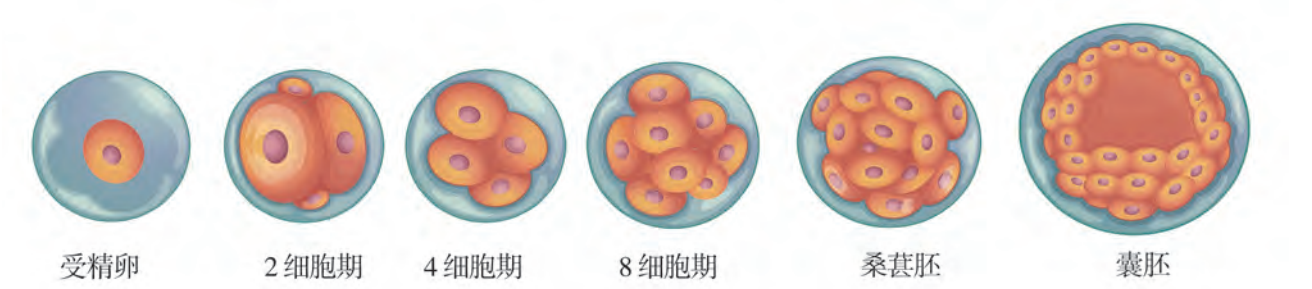


图 2-32　哺乳动物受精卵的发育示意图

细胞达到 16~32 个左右时，形成了致密的细胞团，形似桑葚，叫作桑葚胚。

桑葚胚进一步分裂，胚胎内部形成空隙，逐渐发育成由内细胞团（inner cell mass）、滋养层细胞和囊胚腔构成的囊胚（图 2-33）。囊胚中的内细胞团将发育成胎儿的各种组织，而滋养层细胞将发育成胎盘和胎膜。胚胎通过胎盘从母体中获得正常发育所需的氧气和营养物质等。

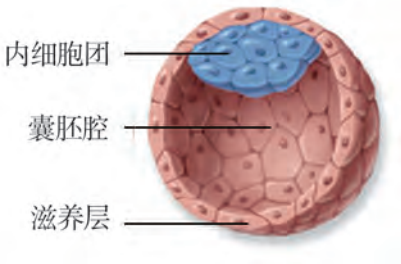


图 2-33　囊胚纵剖示意图

囊胚进一步发育，内细胞团的细胞不断分裂分化为 2 层细胞。靠近囊胚腔的一层细胞称为下胚层，位于下胚层和滋养层之间的细胞称为上胚层。上胚层的细胞继续分裂分化并迁入下胚层，逐渐置换了下胚层细胞，从而形成一层新细胞，称为内胚层。另一部分上胚层细胞继续分裂扩展，在上胚层和内胚层之间逐渐形成一层新细胞，称为中胚层。形成内胚层和中胚层之后，剩余的上胚层改称外胚层，这样就形成了由 3 个胚层构成的原肠胚（图 2-34）。原肠胚的不同胚层之间相互作用，按各自的发育途径分裂和分化为相应的细胞和组织，为形成结构复杂的生命体奠定基础。

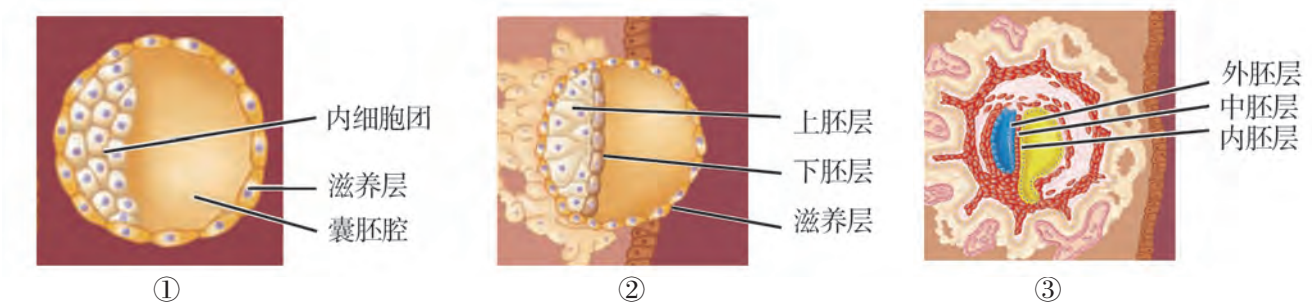


图 2-34　哺乳动物原肠胚形成示意图

哺乳动物从受精卵到幼体的发育过程称为胚胎发育。根据胚胎形态的变化，早期胚胎的发育一般包括三个阶段：桑葚胚、囊胚和原肠胚。这些胚胎细胞还能像受精卵细胞一样发育成完整的个体吗？

资料探究

早期胚胎细胞的发育潜能

早期胚胎发育过程中，是否所有的细胞都具有全能性？随着研究的不断深入，科学家逐渐揭开了个体发育的神秘面纱。

［资料 1］ 1928 年，科学家用较细的婴儿头发将蝾螈的受精卵结扎成 2 个半球，使得细胞核只能保留在受精卵的一端。结果，有细胞核的一端不断进行卵裂，而只有细胞质的一端不分裂。如果这时让一个细胞核进入到只有细胞质的一端，这一端将会恢复卵裂。最终，两端都可以发育成正常胚胎（图 2-35）。

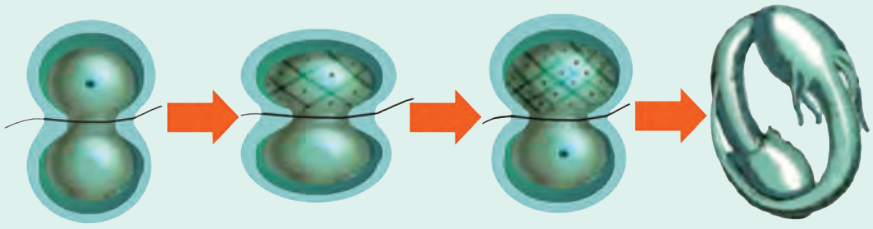


图 2-35　蝾螈受精卵的结扎实验示意图

［资料 2］ 牛的生育率很低，通常情况下，一头牛一胎只能产 1 个幼仔，一生只能产下 4~5 只牛犊。研究发现，在哺乳动物卵裂过程中，某些因素可引起一个胚胎中的细胞相互分离形成 2 个胚胎，从而产生同卵双胞胎。实验证明，这种分离可以是早期卵裂球之间的分离，分离开来的卵裂球各自发育成个体，也可以是囊胚中的内细胞团一分为二，各自发育成新个体。但将原肠胚分成两部分，则两部分均不能发育成完整的胚胎。

分析讨论

1. 资料 1 中接受细胞核的一端重新发育成正常胚胎的原因是什么？
2. 分析资料 2，你认为早期胚胎细胞的发育程度与全能性有什么关系？
3. 如何才能提高牛的生育率呢？请结合上述内容提出你的观点。

大量实验表明，在胚胎形成过程中，细胞的分化程度越高，全能性就越弱。尽管桑葚胚和囊胚的细胞在体积和数目上发生了很大变化，但是细胞的功能和发育潜能基本没有改变，分离开来的细胞团仍然可以独立发育成个体。而原肠胚的细胞由于分化程度较高，分割开的胚胎已经不能各自发育成一个新个体。胚胎形成过程中的这些特征为科学家对早期胚胎进行干预和改造提供了可能性。

二、胚胎工程有广阔的应用前景

1959 年，美籍华人科学家张明觉将兔的卵细胞在体外与精子结合形成受精卵，然后将其植入母兔体内，成功获得了世界上第一只试管兔，拉开了人工制备“试管动物”的序幕。试管动物的研究涉及体外受精和胚胎移植两项技术。

体外受精和胚胎移植是重要的辅助繁殖技术

胚胎工程的体外受精技术（*in vitro* fertilization）是指将哺乳动物的精子和卵细胞在体外人工控制的环境中完成受精过程的技术。

体外受精形成的受精卵经培养发育成的早期胚胎，还需移植到母体的子宫内继续发育为个体。像这种将获得的早期胚胎植入母体，使之受孕并产生后代的技术称为胚胎移植。

一般情况下，许多动物每年只能产 1~2 个幼仔，通过自然繁殖远远不能满足生产需要。因此在畜牧业生产实践中，为提高生产效率，可给雌性动物注射适宜剂量的促性腺激素，如促滤泡素或孕马血清等，使其排出众多的卵细胞。然后，采用人工授精的方式使母畜体内大量的卵细胞受精，并发育到桑葚胚或囊胚阶段，也可通过体外受精技术获得桑葚胚或囊胚。再将这些早期胚胎移植到多个“代孕妈妈”的子宫内。使胚胎继续发育，最后分娩出良种个体（图 2-36）。该过程中提供胚胎的个体称为供体，接受胚胎的个体称为受体。

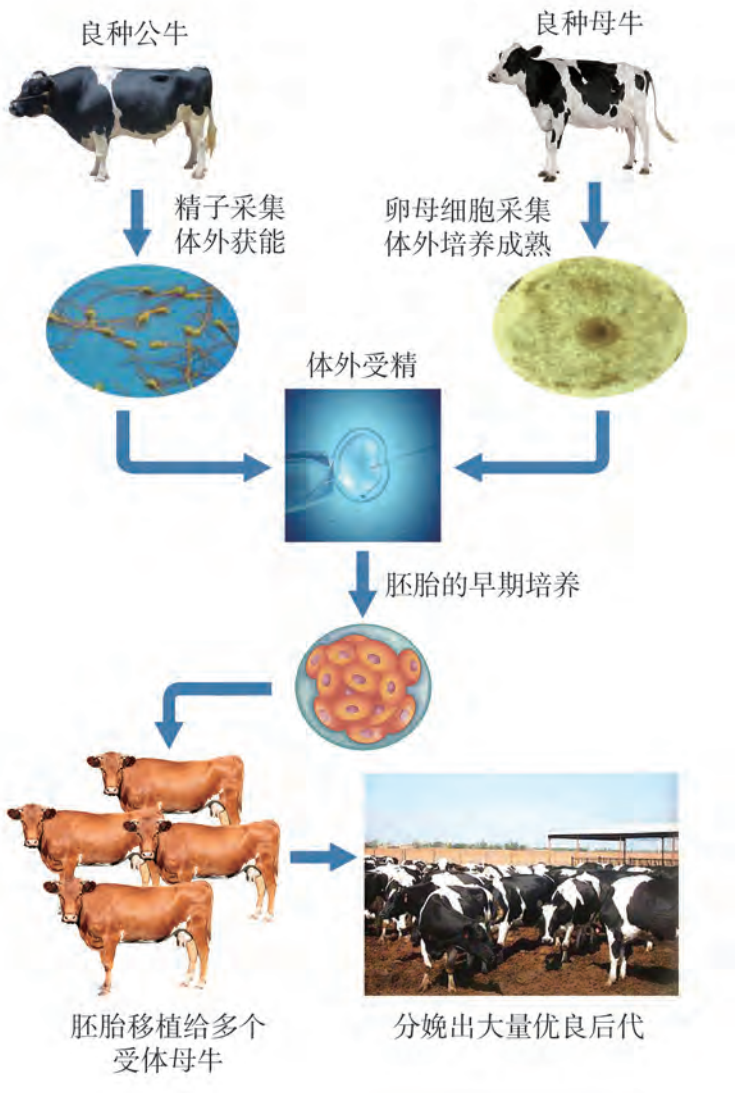


图 2-36　体外受精与胚胎移植示意图

胚胎分割移植可快速繁殖良种动物

大多数哺乳动物的早期胚胎都具有发育为完整个体的潜能，即使去掉早期胚胎的一半，剩余的部分仍可以继续发育为一个完整的胚胎。1979 年，科学家利用绵羊的早期胚胎进行分割移植实验，他们把绵羊的 8 细胞胚胎分成 4 份，每份 2 个细胞，然后将分割后的 2 细胞胚胎重新植入母羊子宫里孕育，母羊产下了 4 头健康的小羊羔。这种胚胎分

割移植技术可显著增加胚胎数量，是一种快速繁殖良种动物的方法。

进行胚胎分割时，应选择发育良好、形态正常的桑葚胚或囊胚，将其移入盛有培养液的培养皿中，用分割针或分割刀将胚胎切开（图 2–37），然后将切割后的胚胎移植到母体内，使其着床发育。在对囊胚阶段的胚胎进行分割时，要注意将内细胞团均等分割，否则会影响分割后胚胎的恢复和进一步发育。

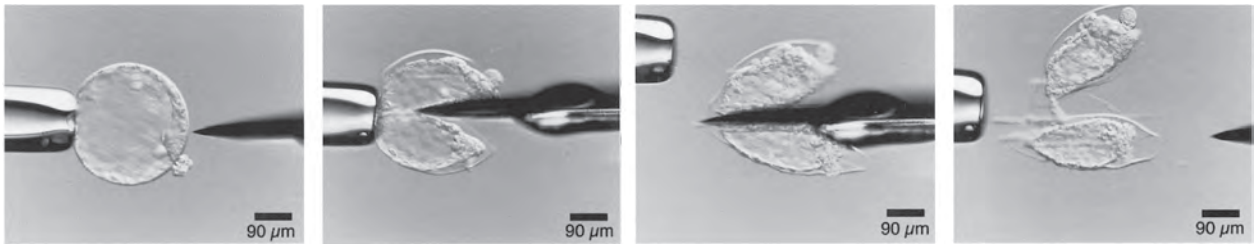


图 2–37　胚胎分割

阅读空间

嵌　合　体

利用胚胎工程的方法，科学家可以将不同品种甚至不同种的受精卵或早期胚胎镶嵌在一起，体外培养至囊胚，再将其移植到一个“代孕妈妈”体内，最终培育出具有不同遗传性状的完整个体，这种个体称为嵌合体（chimera）。

例如，科学家将一只黑毛小鼠囊胚的内细胞团嵌入到一只白毛小鼠的囊胚腔中。在发育的过程中，这两只老鼠的内细胞团融合到了一起，最后形成了一只黑白相间的嵌合体小鼠（图 2–38）。

图 2–38　黑白相间的嵌合体小鼠

最初，科学家利用该技术主要是为了研究动物胚胎发育过程中的一系列现象和问题，如早期胚胎的全能性、细胞分化的机制、性别是怎样决定的、在胚胎发育过程中基因的表达和调控等。如今，可以借助该技术建立实验动物遗传病的模型、研究治疗方案和筛选药物。在家畜改良方面，由于嵌合体动物可集不同品种动物的基因于一体，这就有可能把亲代动物的优良遗传性状集中地表现出来，从而形成具有高度杂种优势的杂合个体，这样不仅能大大缩短家畜改良时间，也为创造新型的家畜品种提供了新的技术手段。

根据动物胚胎发育的过程和特征，人们采用工程技术手段，对动物早期胚胎或配子进行显微操作和处理以获得目标个体，这种技术就是胚胎工程。胚胎工程包括体外受精、胚胎移植和胚胎分割等技术，这些技术的研究和应用不仅推动了制药、器官移植等领域的变革，还加快了畜牧业的发展，使得畜牧产品成本降低，生产效率更高。目前，我国利用胚胎移植改良牛、羊品种的技术已经进入国际先进行列。我们相信，随着科学研究的不断进展，我国将有更多的胚胎工程技术走出实验室，进入生产应用领域。

学业检测

1.“稻花香里说丰年，听取蛙声一片。”每到夏季的夜晚，我们常会听见青蛙的叫声，那是雄蛙正在求偶。青蛙在繁殖时，雌蛙排出卵细胞，同时雄蛙排出精子，在水中完成受精作用，请回答下列问题：

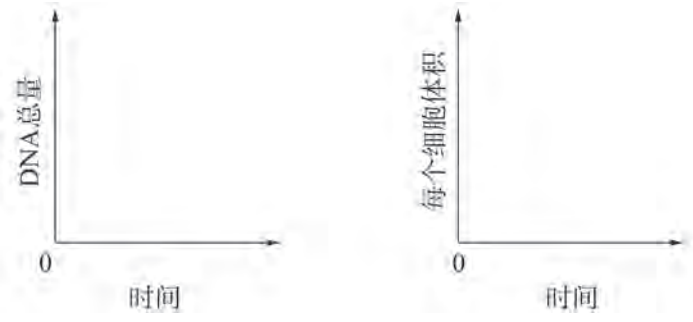
（1）在受精作用过程中，体现受精实质的是（　　）。

A. 同类生物的精、卵互相识别　　B. 精子的头部进入卵细胞

C. 卵细胞膜与精子细胞膜融合　　D. 精子和卵细胞的细胞核互相融合

（2）当早期胚胎的细胞数目达到 16~32 个时，叫作_____。该胚胎继续发育，胚胎内初次出现空腔，此时胚胎称为_____。

（3）蛙的受精卵发育至囊胚过程中，胚胎会发生许多变化。请在下图画出 DNA 总量、每个细胞体积的变化趋势。



（4）与哺乳动物不同，蛙的受精方式为体外受精。请结合所学知识，探讨体外受精与体内受精这两种受精方式的利弊。

2. 2016 年，世界首个细胞核移植“三父母”婴儿诞生，引起全球广泛关注。婴儿母亲的线粒体携带亚急性坏死性脑病基因，导致多次流产。医生首先从母亲的卵细胞取出细胞核，并将其注入已去掉细胞核的捐赠者的卵细胞内，重组细胞就拥有了母亲的核 DNA 以及捐赠者的线粒体 DNA，最后利用父亲的精子进行体外受精。请回答：

（1）医生用这一方法同时培育了 5 个胚胎，因此母亲的卵巢事先需经_____处理以获得更多的卵细胞；体外受精前，精子需经培养达到_____状态。

（2）下列关于胚胎发育和胚胎工程的叙述，错误的是（　　）。

A. 精子和卵细胞表面有能相互识别的特异性蛋白

B. 桑葚胚的卵裂球每一个细胞都具有全能性

C. 胚胎工程包括体外受精、胚胎移植和胚胎分割等技术

D. 胚胎分割时，应选择发育良好的原肠胚进行分割

（3）受精卵在体外需经培养，并发育到_____阶段后，才植入受体体内。胚胎发育到一定阶段，会形成滋养层细胞，这部分细胞将发育成_____。

（4）“三父母”婴儿会同时拥有两个母亲的遗传性状吗？请谈谈你的看法。

学业要求

重要概念	节次	学科素养
植物细胞工程包括组织培养和体细胞杂交等技术。	第一节	◆阐明植物组织培养是在一定条件下，将离体植物器官、组织和细胞在适宜的培养条件下诱导形成愈伤组织，并重新分化，最终形成完整植株的过程。 ◆概述植物体细胞杂交是将不同植物体细胞在一定条件下融合成杂合细胞，继而培育成新植物体的技术。 ◆举例说明植物细胞工程利用快速繁殖、脱毒、次生代谢产物生产、育种等方式有效提高了生产效率。
动物细胞工程包括细胞培养、核移植、细胞融合和干细胞的应用等技术。	第二节	◆阐明动物细胞培养是从动物体获得相关组织，分散成单个细胞后，在适宜的培养条件下让细胞生长和增殖的过程。 ◆建立动物细胞培养是动物细胞工程的基础的生命观念。 ◆运用结构与功能观、稳态与平衡观等生命观念分析、明确动物细胞培养的条件，同时发展基于生物学事实和证据进行归纳和概括的科学思维方法。
	第三节	◆阐明动物细胞融合的一般过程，运用结构与功能观等生命观念尝试提出细胞融合的工程学构想。 ◆概述细胞融合技术是单克隆抗体制备的重要技术，运用生物学基本概念和原理解释生产生活中细胞融合技术的相关话题。
	第四节	◆阐明动物细胞核移植一般是将体细胞核移入一个去核的卵母细胞中，并使重组细胞发育成新胚胎，继而发育成动物个体的过程。 ◆简述干细胞在生物医学工程中有广泛的应用价值。运用结构与功能观等生命观念尝试提出干细胞技术的工程学构想。
胚胎工程可对动物早期胚胎或配子进行显微操作和处理以获得目标个体。	第五节	◆简述胚胎形成经过了受精及早期发育等过程。 ◆简述胚胎工程包括体外受精、胚胎移植和胚胎分割等技术。尝试运用归纳与概括等科学思维去阐释生产生活中胚胎工程技术的相关应用。

时代亮点

诱导多能干细胞

长期以来，科学家希望利用干细胞体外培养得到组织或器官，并通过器官移植实现对相关疾病的治疗。但由于胚胎干细胞的获取涉及胚胎损毁等伦理学争论，且器官移植后可能会产生免疫排异反应等问题，胚胎干细胞的相关研究在各国都受到严格监管。在这样的背景下，一些科学家另辟蹊径，尝试能否将体细胞转化为干细胞。

2006 年，日本科学家山中伸弥用病毒载体将 4 个转录因子的基因（*Oct4*、*Sox2*、*Klf4* 和 *c-Myc*）转入体外培养的小鼠成纤维细胞中表达。数周之后，成纤维细胞的形态和特征发生改变，变成类似胚胎干细胞的多能干细胞（图 2–39），科学家将其命名为诱导多能干细胞（iPS）。科学家将这些细胞嵌入正常的小鼠胚胎后移植到代孕母鼠体内继续生长，发现诱导多能干细胞可被进一步诱导分化成为心肌细胞、视网膜细胞等各种体细胞。

与胚胎干细胞相比，iPS 技术操作简单，不涉及对人类胚胎的破坏，巧妙地避开了胚胎干细胞研究所面临的伦理和法律等诸多问题，还能降低机体产生免疫排斥的风险。山中伸弥因此成为 2012 年诺贝尔生理学或医学奖得主之一，全世界也掀起了 iPS 研究的热潮。

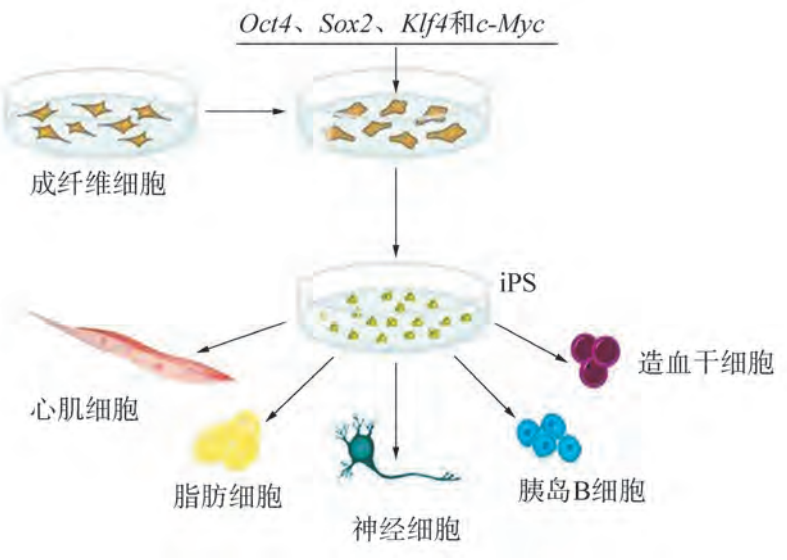


图 2–39　诱导多能干细胞技术示意图

2014 年，科学家首次利用 iPS 成功进行了组织修复术。接受移植手术的病人之前不幸罹患渗出型老年性黄斑病变，发病后将逐渐出现视网膜中央部位的退化，最终丧失视力。科学家将该患者自身皮肤细胞制成为 iPS，再将上述 iPS 培养成视网膜细胞后实施植入手术，患者术后视力逐渐恢复正常。

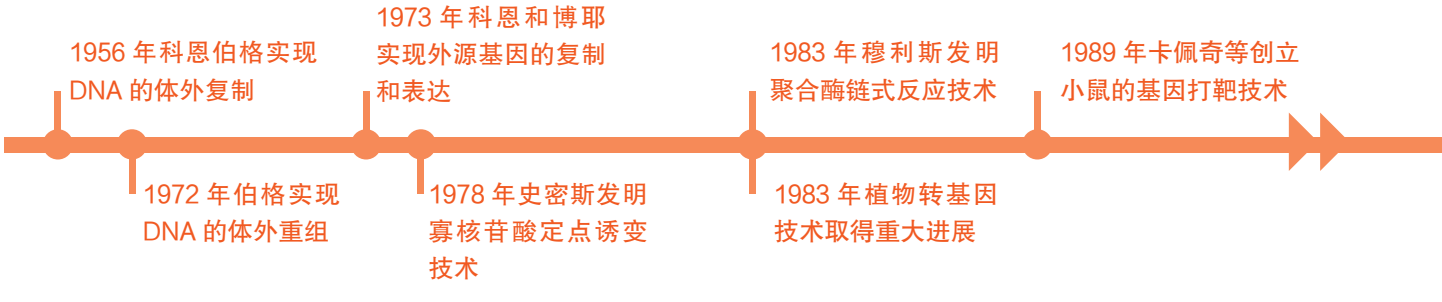
据报道，iPS 被诱导分化为内皮前体细胞后移植到患血友病小鼠的肝脏中，可使出血症状显著改善。将 iPS 诱导分化形成的多巴胺能神经元移植进帕金森病大鼠模型脑内，一段时间后可有效缓解大鼠疾病症状。至今为止，iPS 已成功分化为心肌细胞、血细胞、神经细胞、大脑皮层细胞及牙釉质细胞等多种细胞。已有多家实验室使用 iPS 培养出肝、肾、脑、心脏等类器官，并培养出完整的小鼠皮肤。

诱导多能干细胞在生物和医学领域具有广阔的应用前景，有望成为实施再生医学和细胞治疗的重要支柱。尽管 iPS 还存在着转化率低和具有致癌性风险等技术弊端，科学家还是在这项技术上寄予厚望，尝试将 iPS 技术应用于人类的疾病治疗中。但生命科学如此复杂和不可预测，要把这些愿景变成现实，让 iPS 真正造福人类，还需要经历漫长的努力和奋斗。

第三章　基因工程赋予生物新的遗传特性

《百鸟朝凤图卷》局部图（清　沈铨）

“炎黄子孙”是海内外华人引以为荣的自我称谓，炎帝和黄帝并称中华始祖，关于他们的神话传说很多。相传黄帝统一天下后，他看见一只带有五彩翎毛的大鸟在天空翱翔，数不清的奇珍异鸟围着它翩翩起舞，这就是我国家喻户晓的古代传说“百鸟朝凤”。据《尔雅·释鸟》所记载，凤凰形体为“鸡头、蛇颈、燕颔、龟背、鱼尾、五彩色，高六尺许”。凤凰是祥瑞、和谐的象征，是华夏民族的精神图腾。虽然具有多种动物特征的凤凰只存在于传说之中，但是现在科学家运用基因工程技术，确实能将一种生物的基因转入另一种生物体内，并使后者表现出原本不具有的特殊性状。怎样才能实现基因在不同物种之间转移和表达？这种新技术将对生命世界带来哪些奇妙的变化？



课题研究

模拟 DNA 分子的剪切和拼接

随着生物科学和技术的发展，研究人员已经能够从某种生物细胞中提取所需要的基因，然后将其转入另一种生物体内并让其表达。比如，科学家将人的胰岛素基因转入大肠杆菌，让大肠杆菌可以生产人的胰岛素。在提取和转移基因的过程中，需要对相关 DNA 分子进行剪切和拼接。

提出问题

怎样利用简易的物理模型模拟 DNA 分子的剪切和拼接？

制订并实施研究计划

1. 做哪些准备？

- 回顾 DNA 分子的基本结构。
- 查阅资料了解 DNA 分子剪切和拼接所需要的工具。
- 拟定制作模型的基本步骤。
- 选购制作简易模型的材料。

2. 怎样制作模型、模拟过程？

- 画图表示 DNA 分子剪切和拼接的大致过程。
- 制作 DNA 分子结构的简易物理模型。
- 制作 DNA 分子剪切和拼接工具的简易物理模型。
- 利用简易模型模拟 DNA 分子的剪切和拼接的过程。

成果交流

1. 展示各组制作的简易物理模型。
2. 演示 DNA 分子剪切和拼接的过程。
3. 简述 DNA 分子剪切后切口处末端的类型。
4. 分析剪切得到的 DNA 分子片段能重新拼接的原因。

图 3-1　DNA 模型剪切拼装

第一节　基因工程是一种重组 DNA 技术

图 3-2　白色普通大米和金黄色的含有胡萝卜素的大米

科学家利用基因工程技术，将有关酶的基因转入水稻中，并诱导它们在水稻细胞中表达，使水稻体内能够合成 β－胡萝卜素（图 3-2）。如果人每天食用的大米含 β－胡萝卜素，就能满足人体对维生素 A 的需求，解决了某些地区或特殊环境下维生素 A 缺乏导致的生存和健康问题。人们是怎样将胡萝卜体内的基因转移到水稻体内的？这个过程中需要哪些技术和操作工具？

一、生物科学与技术的发展催生了基因工程

基因工程（gene engineering）是现代生物技术的核心，它是在遗传学、微生物学、生物化学和分子生物学等学科的基础上发展而来的。

1944 年，埃弗里（O. Avery）等人证明了 DNA 是遗传物质；1953 年，沃森（J. Watson）和克里克（F. Crick）建立了 DNA 双螺旋结构模型；1963 年，尼伦伯格（M. Nirenberg）和马特伊（H. Matthaei）破译了遗传密码。这些基础理论的重大突破，为基因工程的诞生奠定了基础。

基因工程中要实现不同物种之间基因的转移，需要先解决“切割基因”和“转移基因”等技术问题。1970 年，史密斯（H. Smith）等人在细菌中第一次发现能够“切割”DNA 分子的限制性内切核酸酶（restriction endonuclease），随后科学家又发现了多种限制性内切核酸酶和 DNA 连接酶。1972 年，伯格（P. Berg）利用这些酶在体外成功构建了第一个重组 DNA 分子。1973 年，科恩（S. Cohen）等人将两种来源不同的 DNA 分子进行体外重组，然后借助一种“运载工具”将重组 DNA 分子导入大肠杆菌，并在大肠杆菌中成功表达。至此，一种能够定向改造生物遗传特性的新技术——基因工程诞生了。

基因工程是一种重组 DNA 技术（recombinant DNA technique），即按照人们预先设计的蓝图，通过基因操作，将目的基因或 DNA 片段与合适的载体结合，然后转入受体细胞，通过复制、转录、翻译，使转基因生物获得新的遗传性状。基因工程可以打破物种之间的生殖隔离，使基因在不同生物之间进行交流，从而赋予生物新的遗传特性。

二、重组 DNA 技术需要三种基本工具

重组 DNA 过程中需要三种基本的工具，即切割 DNA 分子的“基因剪刀”、将 DNA 分子片段连接起来的“基因针线”、将体外基因导入受体细胞的“运载工具”。

“基因剪刀”——限制性内切核酸酶

限制性内切核酸酶（restriction endonuclease），又称限制酶（restriction enzyme）。迄今为止，科学家已从微生物体内分离出了几千种不同的限制酶，每一种限制酶能够识别 DNA 分子中特定的脱氧核苷酸序列，并在特定位置将 DNA 分子“切割”开。大部分 DNA 分子被切割后，切口两端会分别留下一段单链末端，叫作黏性末端（图 3-3）。有些限制酶切开 DNA 时，双链末端平齐而无突出单链，叫作平端。

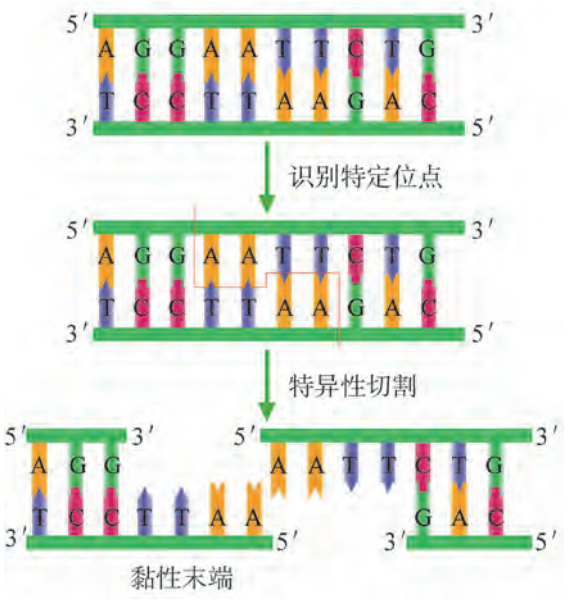


图 3-3　限制酶切割 DNA 分子示意图

“基因针线”——DNA 连接酶

将切割下来的 DNA 片段拼接成新的 DNA 分子，要靠 DNA 连接酶（DNA ligase）来实现。当两个 DNA 片段的黏性末端彼此靠拢，相互识别，它们的碱基完成互补配对后，DNA 连接酶就把它们之间的缝隙“缝合”起来（图 3-4）。有些连接酶可以连接 DNA 片段的平端。

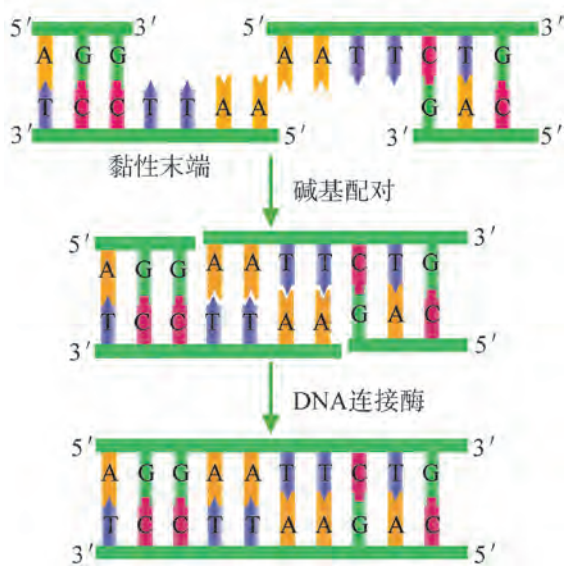


图 3-4　DNA 连接酶的连接过程示意图

“运载工具”——载体

将外源基因送入受体细胞，需要运载工具，这种运载工具称为载体（vector）。常用的载体有质粒、噬菌体、动植物病毒等。其中，质粒是一种较为理想的载体，它是一种很小的环状 DNA 分子，具有自我复制能力。质粒 DNA 分子上有

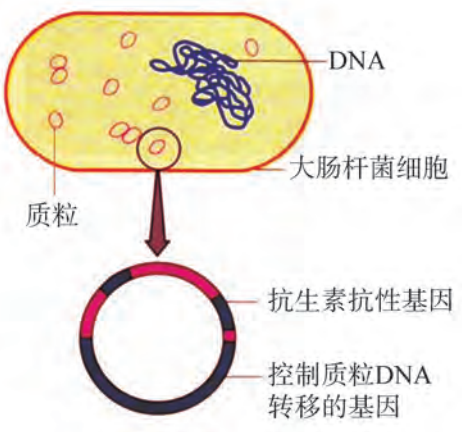


图 3-5　大肠杆菌及质粒结构示意图

一个至多个限制酶切割位点，并含有一些抗生素抗性基因（图 3-5），如四环素抗性基因、氨苄青霉素抗性基因等，这些基因可以作为鉴定和筛选重组 DNA 的标记基因。

三、基因工程的基本操作程序

基因工程的一般操作程序主要包括 4 个步骤：目的基因的获取、重组载体的构建、重组载体的导入和筛选、目的基因的表达与鉴定（图 3-6）。

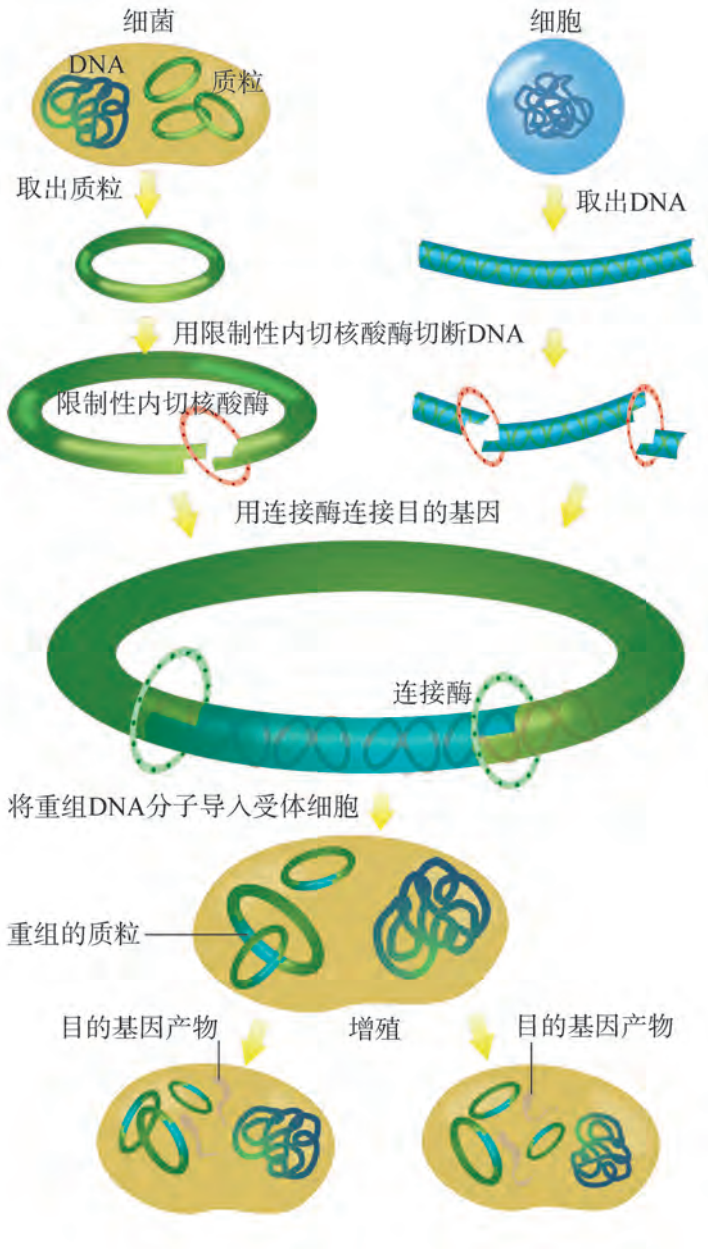


图 3-6　基因工程的一般程序示意图

目的基因的获取

目的基因（target gene）是指转入受体细胞中进行表达的外源基因，如抗虫基因、抗病基因、胰岛素基因等都可以作为目的基因。目的基因可以从 DNA 文库（DNA library）中获取，也可以用化学方法人工合成。

从 DNA 文库中获取目的基因是现代基因工程常用的方法。DNA 文库是指某一生物体全部或部分基因的集合，按照外源 DNA 片段的来源，可将 DNA 文库分为基因组文库（genomic library）和 cDNA 文库（complementary DNA library）。将某生物体的全部 DNA，切割成一定长度的 DNA 片段，与载体重组后，导入受体菌中储存，各个受体菌就分别含有这种生物的不同 DNA 片段，这些受体菌的集合称为基因组文库，它就像一座大型图书馆，包含这种生物体的全部基因组信息。cDNA 文库，是利用某一生物体特定器官或特定发育时期细胞内的 mRNA，经反转录制备成 DNA 文库，它就像一座小型图书馆，只包含这种生物体的部分基因。

从 DNA 文库中获取并扩增目的基因通常采用聚合酶链式反应（PCR），该方法的基本原理是利用目的基因两端的已知序列，设计出能与目的基因两条模板链特异性结合的两种引物，然后利用 PCR 仪直接扩增（具体方法将在本章第二节中详细介绍）。

构建某种生物的基因组文库时，需要先从该生物的组织细胞中提取出完整的基因组 DNA。

实验探究

DNA 的粗提取与鉴定

DNA 在不同浓度的 NaCl 溶液中溶解度不同，在 0.14mol/L 的 NaCl 溶液中溶解度最低，而在 0.015mol/L 的 NaCl 溶液中溶解度较高。DNA 不溶于酒精，而细胞中的许多其他物质可溶于酒精溶液。利用这些特性，可以提取出含杂质较少的 DNA。DNA 遇二苯胺（沸水浴）会染成蓝色，因此，二苯胺可以作为鉴定 DNA 的试剂。

目的要求

1. 尝试从生物材料中进行 DNA 的粗提取。

2. 利用二苯胺试剂鉴定 DNA。

材料器具

新鲜花椰菜，研磨液[含能裂解细胞膜并使蛋白质变性的 SDS(十二烷基硫酸钠)、DNA 酶抑制剂 EDTA（乙二胺四乙酸）、适量的 NaCl]、体积分数为 95% 的酒精溶液、0.015mol/L 的 NaCl 溶液、二苯胺试剂、蒸馏水，塑料烧杯、量筒、研钵、漏斗、烧杯、试管、玻璃棒、尼龙纱布、离心机、塑料离心管、移液器、酒精灯、石棉网、火柴、刀片、天平等。

活动程序

1. DNA 的粗提取

（1）材料准备：将新鲜花椰菜和体积分数为 95%的酒精溶液放入冰箱冷冻室，冷冻至少 24h。

（2）研磨：称取冷冻后的新鲜花椰菜 30g，切碎后置于研钵中，加入 10mL 研磨液，迅速研磨成糊状。

（3）过滤：在漏斗中垫上尼龙纱布，将研磨液过滤，滤液收集在塑料烧杯中。

（4）离心：将滤液倒入 5mL 塑料离心管中，以 1000r/min 的速度离心 10min 。

（5）加冷酒精：从离心管中取出上清液，倒入 50mL 塑料烧杯中，同时加入 2 倍体积的体积分数为 95% 的冷酒精。用玻璃棒沿一个方向缓缓地搅拌溶液，溶液中会出现白色丝状物。用玻璃棒将丝状物卷起，并用滤纸吸去上面的水分。这种丝状物的主要成分就是 DNA（图 3-7）。

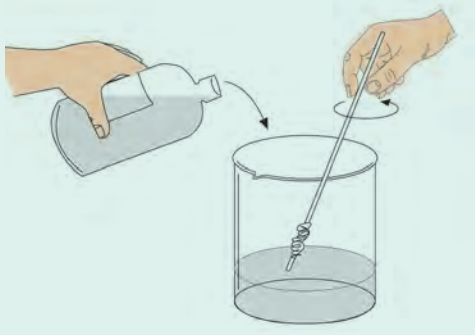


图 3-7　加冷酒精

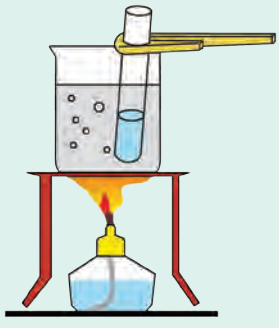


图 3-8　DNA 的鉴定

2. DNA 的鉴定

取一支 20mL 的试管，加入 0.015mol/L 的 NaCl 溶液 5mL。将得到的丝状物放入试管中，用玻璃棒搅拌，使丝状物溶解。然后，向试管中加入 4mL 二苯胺试剂，混匀后用沸水浴（100℃）加热 10min （图 3-8）。在加热过程中，随时注意试管中溶液颜色的变化。

分析讨论

1. 在准备材料时，为什么要将花椰菜和酒精溶液进行冷处理？

2. 研磨液中含有哪些成分？它们分别起什么作用？

3. 从上清液中析出的丝状物能否代表 DNA 分子的大小？

重组载体的构建

重组载体的构建是基因工程的核心，其目的是把目的基因和载体组合成一个新的 DNA 分子，以便将目的基因送进受体细胞。

思维训练

重组载体的构建过程

将某外源基因与质粒结合形成重组质粒的过程可以用图 3–9 来表示（说明：*Bam*H Ⅰ是一种限制酶）。

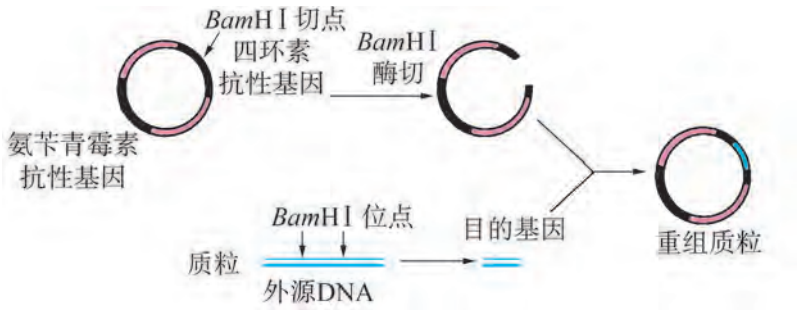


图 3–9　重组质粒构建示意图

请仔细看图后分析讨论下列问题：

1. 质粒有哪些特点适合作为基因工程中的载体？
2. 图中切割目的基因和质粒时，用的是同一种限制酶，这样做的目的是什么？
3. 上图中重组质粒构建过程中，除了需要 *Bam*H Ⅰ酶外，还需要什么酶？
4. 为什么目的基因和载体能够组合成一个 DNA 分子？

重组载体的导入和筛选

根据宿主的不同，将重组 DNA 或其他外源 DNA 导入宿主细胞的方法不同。例如，将目的基因导入植物细胞最常用的方法是农杆菌转化法。利用农杆菌对植物进行转化，首先将目的基因插入到农杆菌 Ti 质粒上，形成重组 DNA，然后将重组 DNA 转入农杆菌中，再通过农杆菌侵染植物使目的基因进入植物细胞，并将含有外源目的基因的重组 DNA 整合到植物细胞基因组中，使目的基因的遗传特性得以稳定维持和表达。

阅读空间

导入基因的其他方法

基因枪法　将目的基因吸附在微小的金粒或钨粒表面，然后将微粒用基因枪高速射入受体细胞或组织（图 3–10）。该法已广泛应用于被子植物的基因导入。

花粉管通道法　主要有两种做法：一是先将目的基因导入花粉，再通过受精获得导入基因的植株。二是在植物自花授粉后，将目的基因滴在剪开的柱头上，使其沿着花粉管进入胚囊，完成基因导入。目前，后一种方法已在水稻、棉花等农作物上获得了成功。

显微注射法　借助光学显微镜的放大作用，利用一种极细的注射器直接将目的基因注射到细胞中。利用这种方法已生产出了鼠、兔、羊、猪、牛等转基因动物。

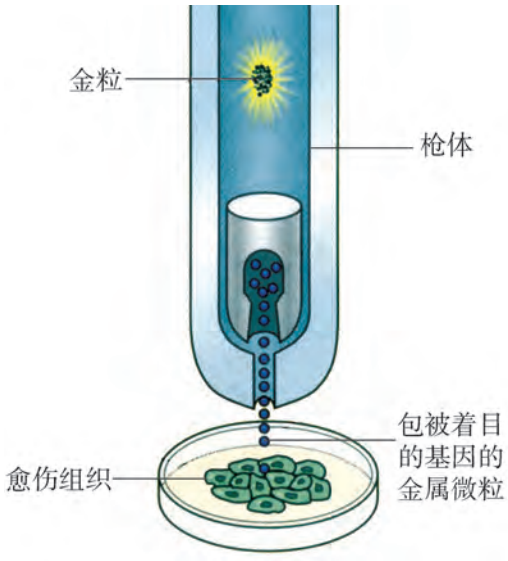


图 3–10　基因枪法示意图

经过操作，有的细胞可能导入了重组载体，利用选择培养基就可以把它们筛选出来。如大肠杆菌的某种质粒具有青霉素抗性基因，用它作载体时，可以将细胞放在含有青霉素的培养基上培养，不含重组质粒的细胞会死亡，活下来的细胞则含有重组质粒。

目的基因的表达和鉴定

为检测目的基因在受体细胞中是否表达，需要进行生物学功能鉴定，即检测导入基因的生物有没有显示出目的基因控制的性状。例如，获得抗白粉病基因的小麦植株后，可以用白粉病病原菌使其感染，若其具有抗感染能力，则说明目的基因已经在植株中表达；若仍患病，则说明目的基因没有表达。若一次基因工程的操作没有成功，必须再对目的基因进行改造和修饰，重新进行基因工程的操作。

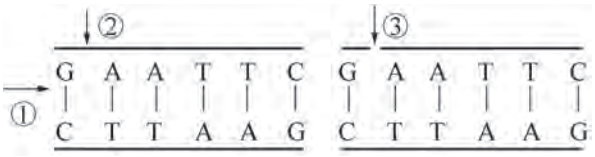
基因工程技术可以打破物种界限，实现跨物种的基因转移，在分子水平上对生物的遗传特性进行设计和定向改造，从而产生出人类需要的基因产物，甚至创造出自然界原本没有的生物类型。基因工程的诞生是分子生物学直接转化为社会生产力的重要标志。

学业检测

1. 1972 年，伯格成功构建了第一个体外重组 DNA 分子，从而掀开了重组 DNA 技术的新纪元。重组 DNA 技术的创立把人们带进了一个不可思议的科学世界，使人类获得了打开生命奥秘的金钥匙。请回答：

（1）剪切 DNA、装配新的 DNA 分子和将重组 DNA 分子转入细胞需要哪些基本工具？这些工具有什么作用？

（2）下图为 DNA 分子的某一片段，其中①②③分别表示某种酶的作用部位，则相应的酶依次是（　　）。



A. DNA 连接酶、限制酶、解旋酶　　B. 限制酶、解旋酶、DNA 连接酶

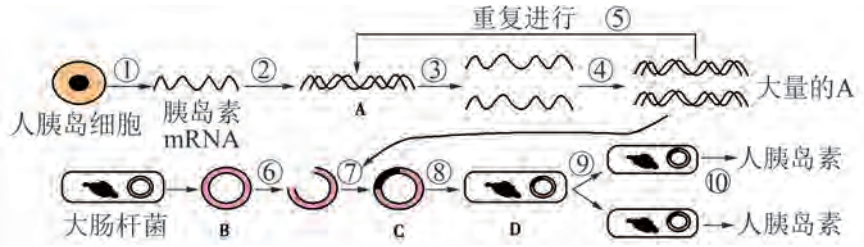
C. 解旋酶、限制酶、DNA 连接酶　　D. 限制酶、DNA 连接酶、解旋酶

（3）如图所示，若用 2 种识别切割序列完全不同的限制酶 E 和 F 从基因组 DNA 上切下目的基因，并将之取代质粒 pZHZ1（该质粒上有 4 种限制酶的切割位点 G、E、F、H）上限制酶 E、F 切割位点之间的区段，那么所形成的重组质粒 pZHZ2（　　）。

A. 既能被 E 也能被 F 切开　　B. 能被 E 但不能被 F 切开

C. 既不能被 E 也不能被 F 切开　　D. 能被 F 但不能被 E 切开

2. 利用生物工程技术获得高纯度的生物合成人胰岛素，其氨基酸排列顺序及生物活性与人体自身分泌的胰岛素完全相同。下图是利用基因工程技术生产人胰岛素的操作过程示意图，请据图回答：



（1）利用基因工程技术生产人胰岛素的基本操作程序主要包括哪几个步骤？

（2）如何将人胰岛素基因与大肠杆菌质粒相结合形成重组质粒？

（3）完成过程⑧后的大肠杆菌只有少数含有重组质粒。怎样才能鉴别出大肠杆菌是否含有重组质粒？

（4）导入大肠杆菌中的人胰岛素基因成功表达的标志是什么？

第二节　基因工程的广泛应用改善了人类的生活品质

图 3–11　遭虫害后转基因抗虫稻（绿色）与普通水稻（黄色）的生长情况对比

我国转基因水稻的研究处于国际领先水平。除了转基因抗虫水稻（图 3–11），我国科学家还自主研发出能生产“人血清白蛋白”的转基因水稻、可造福于高血压患者的“血管紧张素转化酶抑制剂”转基因水稻、有利于减肥的“高抗性淀粉”转基因水稻等新品种，都是我国在国际生物育种领域有重要影响的创新性成果。进入 21 世纪后，转基因技术已经得到广泛应用，你知道基因工程在农业、食品工业、医药等领域有哪些重要成果吗？基因工程对改善人类生活品质作出了哪些贡献？

一、基因工程赋予农作物新的优良性状

基因工程技术为作物育种开辟了崭新的途径，使人们能够大幅度改良作物性状，获得大量优质高产的作物品种。目前，国际上获得转基因植株的植物种类很多，其中包括水稻、玉米、棉花、甜菜、油菜等作物，番茄、黄瓜、胡萝卜等蔬菜，苜蓿、白三叶草等牧草，番木瓜、苹果、甜瓜、草莓等瓜果，矮牵牛、菊花、香石竹等花卉。这些转基因植物已有许多品种进入商品化生产阶段，取得了丰厚的经济效益。

我国是世界上最大的棉花生产国和消费国。20 世纪 90 年代以来，由于棉铃虫在大部分产棉区持续爆发，给棉花生产带来了巨大威胁。棉农在防治棉铃虫时，每年需要喷洒农药 15 次以上。我国科学家在全球最先研究培育出抗虫棉，为基因工程领域作出了巨大的贡献。

思维训练

设计培育抗虫棉的方案

科学家在苏云金杆菌中发现了一种 Bt 毒蛋白，其对棉铃虫有特异性的毒杀作用。请利用基因工程的原理，设计一个培育抗虫棉的方案。设计提示如下：

1. Bt 毒蛋白是由苏云金杆菌中的 Bt 毒蛋白基因控制合成的。
2. 将 Bt 毒蛋白基因导入棉花体内可以使其具备杀虫功能。
3. 写出比较详尽的步骤和一些关键步骤的原理。

苏云金杆菌的 Bt 毒蛋白被发现以后，科学家利用基因工程的方法，合成了这种 Bt 毒蛋白的目的基因。

目的基因获得后，可以用 PCR 技术等方法将它进一步扩增。PCR 是聚合酶链式反应（polymerase chain reaction）的缩写，其实质就是在体外进行 DNA 的大量复制。利用 PCR 扩增目的基因时，需要先设计两段 DNA 单链作为引物（通常为 20~30 个核苷酸）。当目的基因受热变性后解旋为单链，引物与单链相应互补序列结合，然后在 DNA 聚合酶的作用下进行延伸，如此循环多次，目的基因的数量就呈指数式增长。DNA 体外扩增过程可以在 PCR 仪（图 3-12）中自动完成。

图 3-12　PCR 仪

实验探究

利用 PCR 仪进行 DNA 体外扩增

PCR 仪通过控制反应温度来实现 DNA 的解旋与恢复。在 95℃的高温中，DNA 碱基对之间的氢键断裂，双链解旋成单链，此过程称为高温变性。在 55℃的环境中，引物结合到模板链上，此过程称为低温复性。在 72℃的环境中，游离的脱氧核苷三磷酸在酶的作用下形成新的子链，此过程称为中温延伸。经过高温变性、低温复性和中温延伸三个步骤，PCR 就完成一个循环，DNA 分子复制一次。

在电场的作用下，带负电的 DNA 要向正极移动，迁移率与碱基对数目在一定范围内成反比。将 PCR 扩增产物和 DNA 标记（DNA Marker，由含若干组已知碱基对数目的 DNA 片段构成，不同组 DNA 片段之间其碱基对数目呈一定梯度变化）同时进行凝胶电泳，对比两者的迁移率，可粗略估计 PCR 扩增产物的碱基对数。若与目的基因的碱基对数相近，则可以认为扩增成功。

目的要求

1. 熟练操作 PCR 仪。
2. 完成 DNA 的体外扩增。
3. 对 PCR 的结果进行初步鉴定。

材料器具

模板 DNA、*Taq* DNA 聚合酶、脱氧核苷三磷酸贮备液、10 倍浓缩的 PCR 缓冲液、引物、琼脂粉、GoldView 核酸染料、上样缓冲液、DNA 标记、冰块，电泳缓冲液、PCR 仪、微量离心管、各种量程的移液器及枪头、微波炉、电泳槽、凝胶成像仪、制胶板及梳子、锥形瓶、量筒、电子天平等。

活动程序

1. PCR 扩增前的准备

将所需试剂在冰块上熔化后，用微量移液器按下页表的配方在微量离心管中配制

PCR 反应体系。

试剂	体积（μL）
10 倍浓缩的 PCR 缓冲液	1
模板 DNA	2
脱氧核苷三磷酸贮备液	2
上游引物	0.1
下游引物	0.1
Taq DNA 聚合酶	0.2
双蒸水加至	10

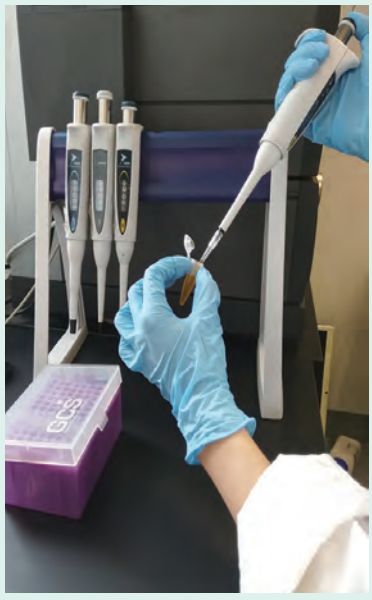


图 3-13　加液

加液（图 3-13）完成后，盖严离心管口的盖子，用手指轻弹管壁使反应液混合均匀，再将离心管放入离心机内离心约 10s，使反应液集中在离心管底部。

为避免外源 DNA 等因素的污染，PCR 实验中使用的微量离心管、枪头、缓冲液以及蒸馏水等在使用前必须进行高压蒸汽灭菌。在微量离心管中添加反应成分时，每吸取一种试剂后，移液器上的枪头必须更换。

2. PCR 扩增循环

参考下表，在 PCR 仪上设置好 PCR 热循环程序。

	变性	复性	延伸
第 1 次循环	95℃，5min	55℃，1min	72℃，1min
重复 30 次循环	95℃，30s	55℃，30s	72℃，1min
最后 1 次循环	95℃，1min	55℃，30s	72℃，1min

将加有反应液并经过离心处理的微量离心管放入 PCR 仪中进行反应。反应产物在 4℃的冰箱中保存。

3. 检测 PCR 扩增结果

（1）称量 0.15g 琼脂粉置于锥形瓶中，加入电泳缓冲液 15mL，在微波炉中加热溶解后，再加入 0.2μL 的 GoldView 核酸染料，轻轻摇匀后倒入制胶板，插上梳子，在室温下冷却。

（2）待凝胶冷却后，拔出梳子。将凝胶置于电泳槽内，倒入电泳缓冲液没过凝胶。将 PCR 扩增产物与适量上样缓冲液混匀后用移液器加入一个加样孔中，同时向另一加样孔中加入 DNA 标记。

（3）盖上电泳槽盖，接通电源，将电压调整至 80~120V，开始电泳。待上样缓冲液中显色指示剂到达凝胶内的合适位置后，将凝胶置于凝胶成像仪中，观察电泳结果（图 3-14）。图示中左边为 DNA 标记分散成的条带，右边为 PCR 产物的条带。

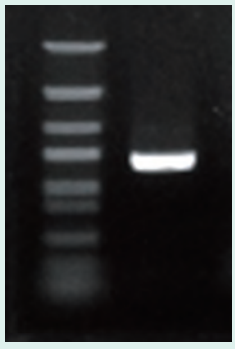


图 3-14　凝胶上的 DNA 条带

分析讨论

1. PCR 过程与细胞内的 DNA 复制过程相比，有哪些不同？
2. PCR 技术为什么可以实现 DNA 分子的快速扩增？
3. 如果没有 PCR 仪，利用恒温水浴锅可以完成 DNA 体外扩增吗？应该怎么做？

当人们获得大量的苏云金杆菌毒蛋白基因后，就把这种基因导入棉花细胞内，再通过组织培养将转基因细胞培养成棉花植株，这种植株的细胞可以合成毒蛋白，从而达到灭虫的效果（图 3–15）。种植转基因棉花与种植普通棉花相比，可以减少农药的使用和节约劳动力，降低生产成本，提高产量，从而提高经济效益和改善农田生态。

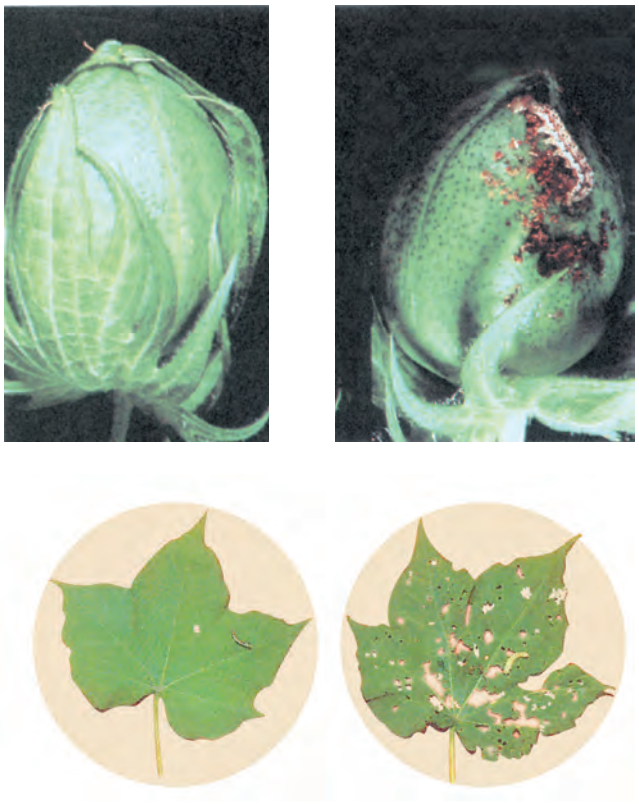


图 3–15　抗虫棉（左）和普通棉（右）对照图

当前，我国转基因植物研发的整体实力已进入全球领先行列，拥有抗病、抗虫、抗除草剂、抗旱、耐盐、耐高温、营养品质改良等自主知识产权的重要基因与核心技术，在棉花、水稻、玉米等作物的转基因品种的基础和应用研究方面也形成了自己的特色。

利用转基因农作物生产的产品已经融入民众的日常生活，我们都在享受着转基因产品带来的好处。目前，我国国内市场上 90% 以上的棉花是转基因抗虫棉，绝大多数番木瓜是转基因抗病毒品种。全世界种植面积最大的转基因作物是转基因大豆，这些大豆主要用来加工成食用油和动物饲料；在已经商业化种植的转基因作物中，种植国家最多的是转基因抗虫玉米，它可食用，又可做牲畜饲料，还可用于工业加工；此外，转基因油菜、转基因甜菜在一些国家也已获准规模化生产。基因工程在农业生产中的合理应用正在改善人类的生活品质。

二、基因工程在畜牧业、渔业上应用前景广阔

1981 年，人类第一次成功地将外源基因导入动物胚胎。1982 年，科学家将大鼠的生长激素基因成功转入小鼠体内，获得体重为非转基因小鼠 2~3 倍的“超级小鼠”。此后基

图 3-16　8 月龄黄河鲤（上）与冠鲤（下）对照

因工程在动物的应用中得到了长足发展，相继成功培育出兔、绵羊、猪、鱼、牛、鸡等动物的转基因品种。

中国科学家朱作言将草鱼生长因子的基因转入黄河鲤，选育出生长速度快一倍的鲤鱼，这种转基因鲤鱼命名为冠鲤（图 3-16）。与养殖普通鲤鱼相比，养殖冠鲤不仅可降低时间成本、饲料成本和劳动强度，还能降低养殖过程中可能因缺氧、疾病等导致的风险。

我国在利用基因工程改良动物遗传性状方面的研究也取得了显著成效。如在国际上首次获得的靶向口蹄疫病毒（FMDV）的 siRNA 转基因克隆猪，具有抑制口蹄疫病毒复制的能力；双基因抗流感转基因猪具有显著的抗病毒、抑制病毒传播的能力；转入小鼠 SP110 基因的转基因牛对牛结核分枝杆菌感染的抗性增强；转 CuZn-SOD 基因猪的肌肉抗氧化性能显著提高；导入 fat1 和 fat2 基因的转基因鱼获得了从头合成 ω-3 多不饱和脂肪酸的能力。

利用转基因技术可以改良动物的遗传性状，如提高畜禽产品的产量、改善畜禽产品品质、增强动物的抗病性或抗逆性等。2015 年 11 月，美国食品药品监督管理局批准了转基因三文鱼的上市申请，这也是第一种获准可食用的转基因动物。由于转基因三文鱼是三倍体，不能繁殖，即使逃逸到自然环境中，也不会因转基因鱼较野生型更强的生命力而影响生态。转基因动物在未来的畜牧业、渔业生产中，必将发挥更大的作用。

三、基因工程在医学领域贡献巨大

1982 年，科学家实现利用大肠杆菌生产重组胰岛素，标志着世界第一个基因工程药物的诞生。与传统药物生产方法相比，利用基因工程技术生产多肽和蛋白质类药物能降低成本、提高产量，增强疗效、减少污染。现在，已有很多利用基因工程技术研制的医用多肽和蛋白质类产品应用于临床治疗，为成千上万患者带来福音（表 3-1）。

基因工程疫苗的研究和临床应用也是基因工程技术对医药领域的重大贡献。我们每个人都接种过各种预防病毒和有害细菌感染的疫苗。传统的疫苗一般为减毒或灭活的病毒、细菌等，减毒疫苗本身是活病毒，虽然毒性已减弱，对正常人无害，但仍有极低的概率对免疫力低下的人造成

表 3-1　部分利用基因工程技术生产的医用多肽和蛋白质类产品

产品名称	受体细胞	临床应用
重组人胰岛素	大肠杆菌	治疗糖尿病
重组人红细胞生成素	哺乳动物细胞	治疗贫血
重组人生长激素	大肠杆菌	治疗生长缺陷
重组人表皮生长因子	大肠杆菌	治疗烫伤、溃疡等
重组人肿瘤坏死因子	大肠杆菌	治疗肿瘤
重组人干扰素（多种）	酵母菌等	治疗病毒感染、肿瘤等
重组人白细胞介素（多种）	大肠杆菌	治疗肿瘤
重组尿激酶原	大肠杆菌	治疗心脏病等
重组人集落刺激因子	哺乳动物细胞	辅助治疗血友病、艾滋病等
重组人抗血友病因子	哺乳动物细胞	治疗血友病
重组人组织型纤溶酶原激活物	哺乳动物细胞	溶解血栓

伤害，或发生突变使毒性增加。此外，并非所有病原体都能制成灭活疫苗（例如病原体无法培养，毒性因子无法去除，或在灭活过程中丧失其免疫原性等）。基因工程疫苗（表3-2）可以避免这些问题。科学家们能够找到病毒或细菌中起关键作用的蛋白质和编码它们的基因，利用基因工程的方法，由受体细胞来生产这些蛋白质。这些蛋白质经纯化后可以作为疫苗使用，其中不含有病毒或有害细菌及它们的遗传物质，因此安全性更高。

表 3-2　部分可利用基因工程技术生产的疫苗

疫苗类型	受体细胞	应用
重组乙型肝炎疫苗	酵母菌	预防乙型肝炎
重组 HPV 疫苗	酵母菌、昆虫细胞	预防人乳头瘤病毒（HPV）感染引起的宫颈癌等疾病
口蹄疫疫苗	大肠杆菌、酵母菌、病毒系统等	预防口蹄疫病毒引起的动物口蹄疫

我国在利用转基因生物生产药物方面成效显著，比如利用水稻、玉米、番茄、马铃薯、烟草生产乙肝疫苗、狂犬病毒疫苗、人凝血因子Ⅸ、降钙素等。其中，利用水稻生产的人血白蛋白已注册并在国内及欧美地区销售；高抗性淀粉转基因水稻有望成为糖尿病患者和减肥人士的福音；转 ACEⅠ基因水稻能够让“血管紧张素转化酶抑制剂”在稻

米中高效表达，从而起到促进血管扩张、抑制血压上升的作用。利用家蚕生物反应器生产针对猪圆环病毒、猪戊型肝炎病毒、人乳头瘤病毒、禽流感病毒等的疫苗，以及鸡、猪、犬的 α 、γ 、ω 和复合干扰素取得重要进展，其中鸡 α 干扰素的生产已获得农业部转基因生物安全证书。

人类的基因异常将导致各种遗传疾病的发生，这类疾病用普通医疗手段往往无法治疗或很难治愈。若利用基因工程技术将正常基因引入患者细胞内，就可能纠正致病基因的缺陷，从而根治遗传病。将正常基因或有治疗作用的基因通过一定方式导入靶细胞，可以纠正基因缺陷而达到治疗疾病的目的，这种生物医学技术被称为基因治疗（gene therapy）。基因治疗的策略主要有基因置换、基因修复、基因增补、基因失活等。

思维训练

镰状细胞贫血的治疗方案

镰状细胞贫血是一种严重的遗传病，患者的红细胞在缺氧时变为镰刀状，容易堵塞血管，导致内脏及组织缺氧。科学家利用基因工程原理，设计了一种治疗方案，请仔细阅读图 3-17 中的有关信息，了解基因治疗的过程。

1. 镰状细胞贫血患者的红细胞产生异常的根本原因是什么？

2. 将正常基因导入患者体内为什么可以弥补异常基因的不足？

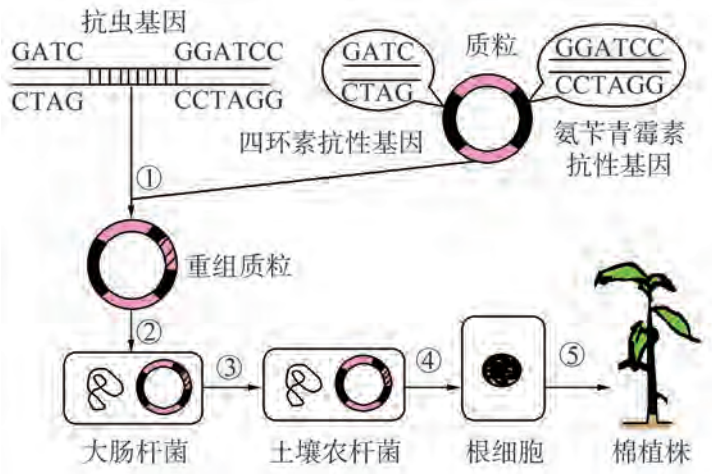
3. 你认为该治疗方案的可行性如何？

图 3-17　基因治疗过程示意图

基因工程自诞生以来，已经创造出巨大的经济效益。随着基因工程技术的日趋完善，其应用领域将会进一步拓宽，基因工程在农牧、食品及医药等行业的广泛应用，将会为改善人类的生活品质作出更大的贡献。

学业检测

1. 我国具有自主知识产权的抗虫棉核心技术是将抗虫基因转入棉花用于生产。下图表示利用基因工程培育抗虫棉的过程，请据图回答下列有关问题：



（1）与种植普通棉花相比，棉农种植转基因抗虫棉有哪些好处？

（2）若限制性内切核酸酶Ⅰ的识别序列和切点是—GATC—，限制性内切核酸酶Ⅱ的识别序列和切割位点是—GGATCC—，那么在①过程中，应分别选用哪种限制性内切核酸酶切割质粒和抗虫基因？为什么？

（3）②过程将重组质粒导入大肠杆菌的目的是什么？怎样判断大肠杆菌中已导入了普通质粒或重组质粒？

（4）土壤农杆菌在该基因工程中的作用是什么？

（5）⑤过程将植物根细胞培养成完整植株的原理是什么？

2. 动物乳腺生物反应器是基于转基因技术平台，使外源基因导入动物基因组中并定位表达于动物乳腺，利用动物乳腺天然、高效合成并分泌蛋白的能力，在动物的乳汁中生产一些具有重要价值产品的转基因动物的总称。请回答：

（1）人类为什么要将目的基因定位表达于动物乳腺？这有什么好处？

（2）转基因动物乳腺生物反应器包括哪些主要环节？你能用流程图将这个过程表示出来吗？

（3）我国和其他国家在动物乳腺生物反应器方面有哪些主要研究成果？

第三节　蛋白质工程是基因工程的延伸

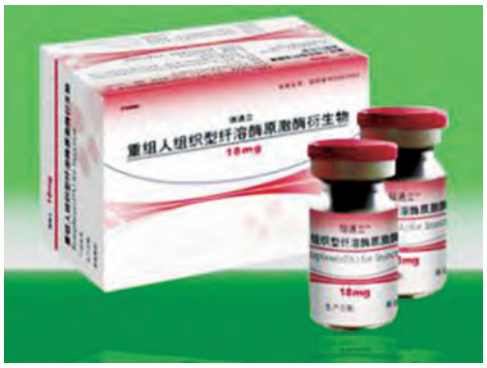


图 3-18　重组人组织型纤溶酶原激活剂

由血栓引起的心脑血管疾病给人类健康造成极大危害，溶栓疗法是治疗血栓的重要措施。组织型纤溶酶原激活物（t-PA）能激活纤溶酶原转化为纤溶酶，将沉积在血管内外的纤维蛋白溶解，从而保持血管畅通。但 t-PA 用于溶栓治疗时具有一定的局限性，它进入血浆后大部分与纤溶酶原激活剂抑制物形成复合物，并迅速失去活性。利用蛋白质工程技术对 t-PA 进行改造，就可以消除上述缺点，增加溶栓效能、减少药用剂量和降低副作用等（图 3-18）。人类是怎样实现对蛋白质的定点改造的？这种改造对蛋白质的结构和功能有什么影响？

一、根据基因工程原理设计和改造蛋白质

蛋白质工程（protein engineering）就是根据蛋白质的结构和生物活性之间的关系，按照人类自身的需要，利用生物技术手段对蛋白质的 DNA 编码序列进行有目的的改造，从而创造出自然界原本不存在的、具有优良特性的蛋白质分子。

思维训练

分析 T_4 溶菌酶的改造过程

T_4 溶菌酶具有较强的溶菌活性，但其热稳定性较差。研究人员对编码 T_4 溶菌酶的基因进行了改造，将 T_4 溶菌酶第 3 位上的异亮氨酸（Ile）改成半胱氨酸（Cys）。改造后的 T_4 溶菌酶，可在第 3 位（半胱氨酸）与第 97 位（半胱氨酸）之间形成一个新的二硫键，使 T_4 溶菌酶获得了较强的耐热特征（图 3-19）。请分析下页图并回答问题：

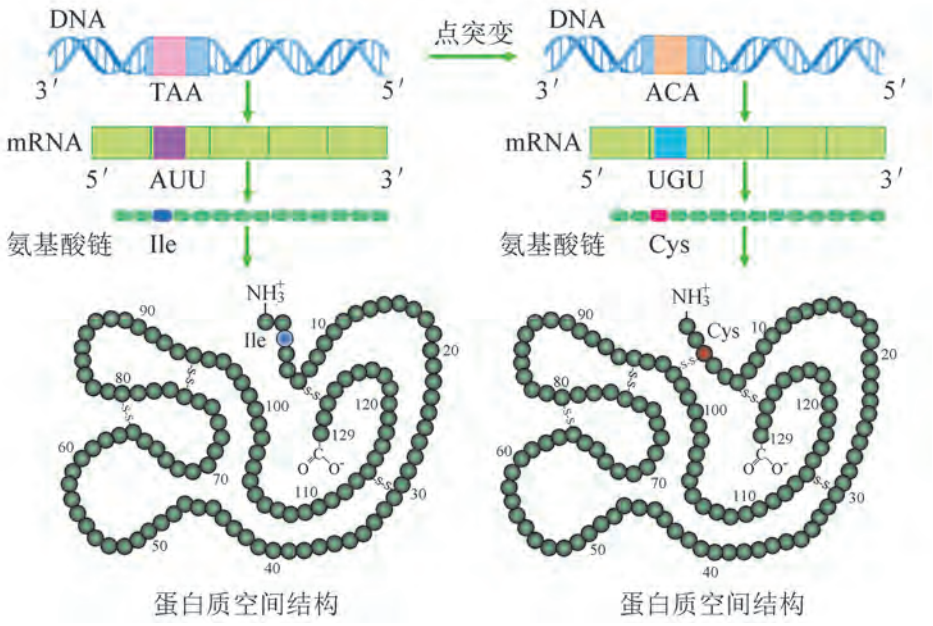


图 3-19　T_4 溶菌酶的改造过程示意图

1. 改造 T_4 溶菌酶的关键步骤是什么？
2. 改造后的 T_4 溶菌酶为什么具有更高的热稳定性？
3. 对编码某种蛋白质的基因进行改造前，需要做哪些准备？

由于蛋白质的结构是由基因决定的，因此，对蛋白质的结构进行设计和改造，最终是通过改造基因来实现的。蛋白质工程是在基因工程的基础上发展起来的，在技术方面有许多同基因工程相似的地方，因此，蛋白质工程也被称为第二代基因工程。利用基因工程技术可以实现对基因的改造，改造后的基因表达成功就可以获得人们需要的特殊的蛋白质。定点突变、基因融合和基因剪接等技术使改造基因的方法逐渐趋于成熟。

编码基因的特异性定点突变

定点突变技术（site-directed mutagenesis）是一种在体外特异性地替换、插入或缺失 DNA 序列中任何一个特定碱基的技术。定点突变技术的基本操作是先合成一段含有突变碱基的 DNA 引物，并将这段引物杂交到含有目的基因的单链 DNA 上，然后用 DNA 聚合酶将剩余片段进行延伸，得到的双链 DNA 分子转入宿主细胞并被克隆，最后用特定

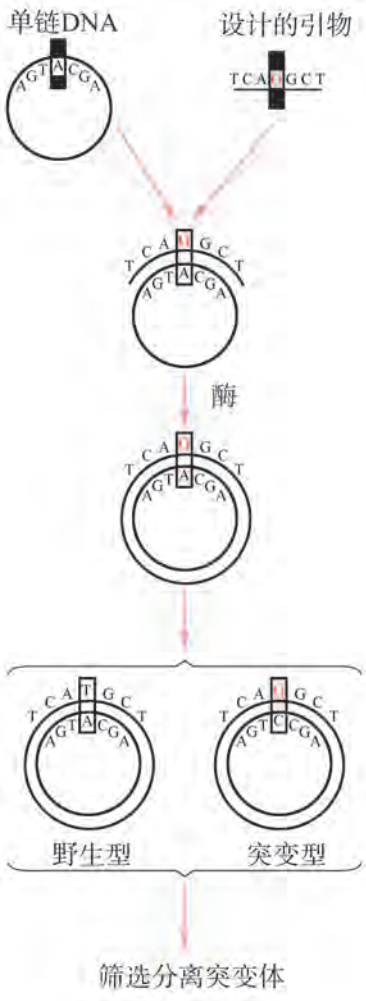


图 3-20　基因定点突变示意图

的筛选方法将突变分子筛选出来（图 3-20）。

要精确设计 DNA 引物，达到实现基因定点突变以及改变蛋白质氨基酸序列的目的，就需要知道特定蛋白质的氨基酸序列或编码基因的碱基序列。现在的科学技术已经能够实现准确测定蛋白质的氨基酸序列和基因的碱基序列。

基因融合和基因剪接

基因融合技术能够将不同的基因进行组合，构成融合基因，表达出具有复合功能的融合蛋白。基因剪接技术可将编码一种蛋白质的部分基因剪切下来，移植到另一种蛋白基因上，这样就可以将不同蛋白质的特性集中到一种蛋白质上。基因融合和基因剪接技术可以显著地改变蛋白质的特性。

小鼠单克隆抗体的制备比较简单，但这种鼠源性的单克隆抗体会被人的免疫系统排斥，不能直接用于人体。嵌合抗体（chimeric antibody）分子的可变区是由鼠抗体的可变区基因所编码，恒定区则由人抗体的恒定区基因编码，这种嵌合抗体的抗原性显著下降，而抗体的特异识别功能没有丧失（图 3-21）。目前，已有多种嵌合抗体用于临床治疗。

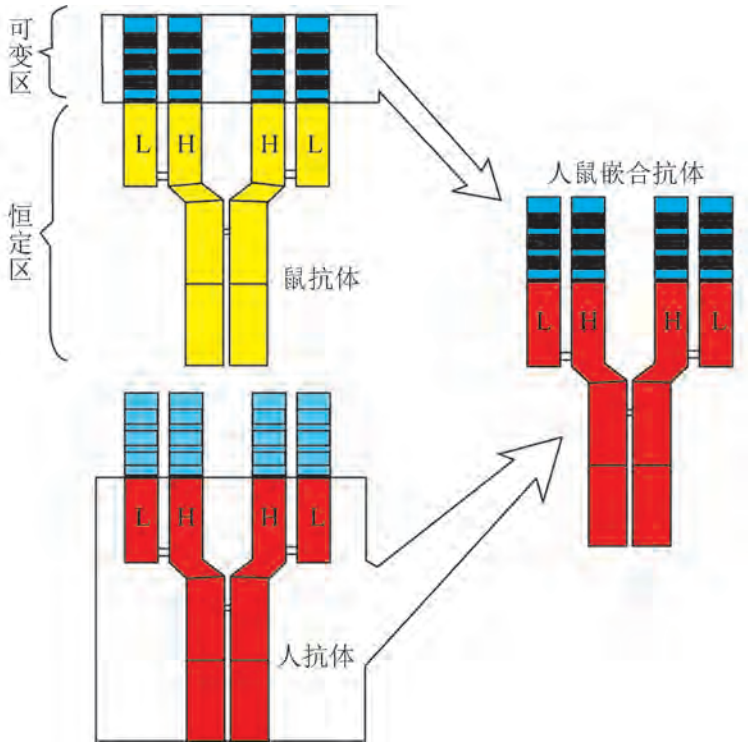


图 3-21　嵌合抗体的合成示意图

阅读空间

其他改造蛋白质编码基因的技术

传统的定点突变方法需要根据蛋白质的结构和基因编码序列来设计突变位点，具有一定的局限性。随着技术的发展，科学家找到了很多改造蛋白质编码基因的新方法。

1989 年，莱昂（D. Leung）提出一种能够简便快速地在 DNA 序列中随机制造突变的方法——易错 PCR 技术，基本原理是通过改变传统 PCR 反应体系中某些组分的浓度，或使用低保真度（复制出错率较高）DNA 聚合酶，使碱基在一定程度上随机引入错误配对的碱基，获得突变基因。

1998 年，阿诺德（F. Arnold）提出了一种有效体外重组 DNA 新方法——随机引导重组技术，其基本原理是用随机的引物序列产生大量互补于模板序列的 DNA 小片段，由于碱基的错误掺入和错误引导，这些 DNA 小片段就会产生少量的点突变。

2002 年，科科（W. Coco）等创造出一种过渡模板随机嵌合生长技术，其特异之处是将原始基因的一条单链随机切成小片段，然后将这些小片段杂交到一个临时的 DNA 模板上进行排序、修剪、空隙填补和连接，明显提高重组的频率。

二、蛋白质工程可改变蛋白质的性状和功能

蛋白质是生命活动的主要承担者，蛋白质结构改变会直接影响其功能活性。蛋白质工程技术已经能够对蛋白质稳定性、最适 pH 范围、酶的活性以及底物特异性等进行预期的设计和改造。

提高胰蛋白酶的活性与稳定性

胰蛋白酶在医药、轻工业、科学研究等方面有广泛的应用价值，但天然胰蛋白酶活性低，稳定性差。科学家通过选择胰蛋白酶第 216 位和第 226 位的甘氨酸进行定点突变，获得了催化活性更高的胰蛋白酶；通过对第 117 位的精氨酸进行定点突变，获得了稳定性更高的胰蛋白酶。并以此为手段，进一步研究了胰蛋白酶底物专一性和胰蛋白酶结构与功能的关系。

改变金属硫蛋白对重金属的亲和力

金属硫蛋白（MT）中丰富的巯基对金属离子有很高的亲和性，对于抵抗重金属中毒及维持某些必需元素在体内的代谢平衡具有重要意义。MT 一般由 α 和 β 两个功能区域组成。科学家将 α 和 β 两个功能区域拆分后，用 α 功能区域代替 β 功能区域，构建出含两个 α 功能区域的 MT

突变体 α－α，然后将 MT 突变体 α－α 转入烟草体内，使烟草具有较高的重金属抗性。

延长白细胞介素 -2 的作用时间

白细胞介素－2（IL–2）是一种细胞因子，能够促进 T 淋巴细胞增殖以及增强某些免疫细胞的活性，已被广泛运用于各种肿瘤和病毒感染疾病的治疗。IL–2 作为临床药物在血浆中的作用时间较短，治疗期间需要频繁给药。科学家通过蛋白质工程，将长效人血清白蛋白（HSA）与 IL–2 重组，获得了一种新的融合蛋白（HSA/IL–2），这种融合蛋白既具有普通 IL–2 的生物活性，作用时间又有所延长，可明显提高 IL–2 的疗效。

阅读空间

蛋白质工程药物

相对小分子药物而言，蛋白质药物具有活性高、特异性强、毒性低、生物功能明确、有利于临床应用等特点。

目前上市的蛋白质工程药物常见种类有：基因工程抗体药物，多肽类激素药（包括人胰岛素、人生长激素、卵泡刺激激素等），人造血因子（包括重组人促红细胞生成素、粒细胞 / 单核细胞集落刺激因子等），人细胞因子（包括 α 干扰素、β 干扰素等），人血浆蛋白因子（包括重组人凝血因子、t–PA 等），人骨形成蛋白，融合蛋白，外源重组蛋白等。

蛋白质工程汇集了当代分子生物学等学科的一些前沿领域的最新成就，将蛋白质的研究推进到崭新的时代，为蛋白质在工业、农业和医药方面的应用开拓了诱人的前景。蛋白质工程开创了按照人类意愿改造、创造符合人类需要的蛋白质的新时期。

学业检测

1. 研究发现，将天冬氨酸激酶的第 352 位的苏氨酸变成异亮氨酸，将二氢吡啶二羧酸合成酶中第 104 位的天冬酰胺变成异亮氨酸，就可以使玉米叶片和种子中的游离赖氨酸含量分别提高 5 倍和 2 倍。请回答：

（1）将有关蛋白质中的氨基酸进行替换的生物技术是（　　）。

A. 基因工程　　B. 蛋白质工程　　C. 发酵工程　　D. 细胞工程

（2）欲使玉米叶片和种子中赖氨酸含量都提高，下列操作能达到目的的是（　　）。

A. 直接改造蛋白质分子　　B. 直接改造相应的 mRNA

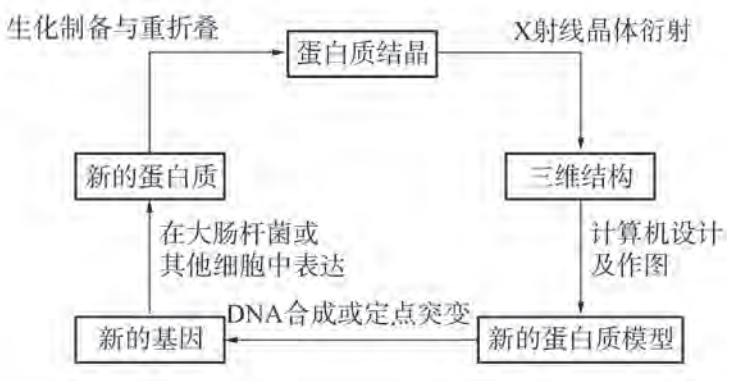
C. 对相应的基因进行定点改造　　D. 改造运输相关氨基酸的 tRNA

（3）在提高玉米体内赖氨酸含量的过程中，会经历下列环节：① 设计蛋白质分子结构；② DNA 合成；③ 预期蛋白质功能；④ 据氨基酸序列推出脱氧核苷酸序列。这些环节的正确顺序是：

A. ①→②→③→④　　B. ④→②→①→③

C. ③→④→①→②　　D. ③→①→④→②

2. 蛋白质的分子设计可以用于研究蛋白质的结构和功能的关系，还可以用于获得满足人们生活生产需求的蛋白质，其基本流程可以用下图来表示。



（1）构建新的蛋白质模型是分子设计的关键环节，你认为构建蛋白质模型的依据是什么？

（2）通过 DNA 合成或定点突变形成的新基因怎样才能得到准确的表达？

（3）有的学者认为，蛋白质工程是研究蛋白质结构和功能的一种有力工具。对此，你有何看法？

学业要求

重要概念	节次	学科素养
基因工程赋予生物新的遗传特性。	第一节	◆概述基因工程是在遗传学、微生物学、生物化学和分子生物学等学科基础上发展而来的。 ◆阐明重组 DNA 技术的实现需要利用限制性内切核酸酶、DNA 连接酶和载体三种基本工具。 ◆阐明基因工程的基本操作程序主要包括目的基因的获取、基因表达载体的构建、目的基因导入受体细胞和目的基因及其表达产物的检测鉴定等步骤。 ◆概述基因工程是一种重组 DNA 技术，基因工程能在分子水平上定向改变生物的遗传特性。
	第二节	◆举例说明基因工程能大幅改良动物、植物的遗传性状，提高产品质量。 ◆举例说明基因工程在生产药品和疫苗、进行基因治疗方面前景广阔。 ◆举例说明基因工程在农牧、食品及医药等行业的广泛应用改善了人类的生活品质。
	第三节	◆概述人们根据基因工程原理，进行蛋白质设计和改造，可以获得性状和功能更符合人类需求的蛋白质。 ◆举例说明依据人类需要对原有蛋白质结构进行基因改造、生产目标蛋白的过程。 ◆概述改造基因的技术，包括定点突变、基因融合和基因剪接等。 ◆举例说明蛋白质工程能对蛋白质的催化活性、稳定性、最适 pH 范围以及底物特异性等进行设计和改造。

时代亮点

“CRISPR/Cas9”基因组编辑技术

基因组编辑是近年来发展起来的可以对基因组完成精确修饰的一种技术，可完成基因定点突变、敲入、多位点同时突变和小片段的删除缺失等。长期以来，科学家只能通过物理和化学诱变、同源重组等方式来对基因组 DNA 进行编辑。但这些方法要么编辑位置随机，要么需要花费大量人力和物力进行操作。因此，能够方便而精确地对 DNA 序列进行编辑，一直是

科研工作者的梦想。

2013 年，一种名为“CRISPR/Cas9”的 DNA 剪切技术，让科学家看到了希望。它利用靶点特异性的 RNA 将核酸酶 Cas9 带到基因组上的具体靶点，从而对特定基因位点进行切割导致突变。

CRISPR 是 clustered regularly interspaced short palindromic repeats（成簇规律间隔短回文重复序列）的缩写，是在一些细菌基因组内存在的一系列成簇排列的 DNA 序列，是源于细菌及古菌中的一种后天免疫系统。科学家发现，这些重复序列与很多能够侵入细菌的噬菌体的 DNA 序列相同。进一步研究发现，这些序列在被转录成为 RNA 后，能够和细菌产生的一类称为 CRISPR 关联蛋白（Cas9）的蛋白质形成复合体，对 Cas9 起到导向作用，因此这段 RNA 也被称为向导 RNA（gRNA）。当复合体检测到入侵的 DNA 和向导 RNA 序列一致时，Cas9 就能够切割入侵的 DNA，达到防御的目的。

研究人员发现，它似乎是一种万能“基因武器”，可以用来删除、添加、激活或抑制其他生物体的目标基因。其原理是由一条经基因工程人为构建的单链向导 RNA 引导核酸内切酶 Cas9 到一个特定的基因位点进行切割。通过设计向导 RNA 中 20 个碱基的识别序列，可人为选择 DNA 上的目标位点进行切割。

与以前效率低下的 DNA 编辑方法相比，CRISPR/Cas9 就像一个 DNA 剪刀手，Cas9 内切酶在向导 RNA 的指引下能够对各种入侵的外源 DNA 分子进行定点切割，由于 Cas9 系统优异的高效性和简易性，其一问世就获得了科学家们的青睐。目前该技术已经成功应用于细菌及真核生物的基因组精确修饰（图 3–22）。

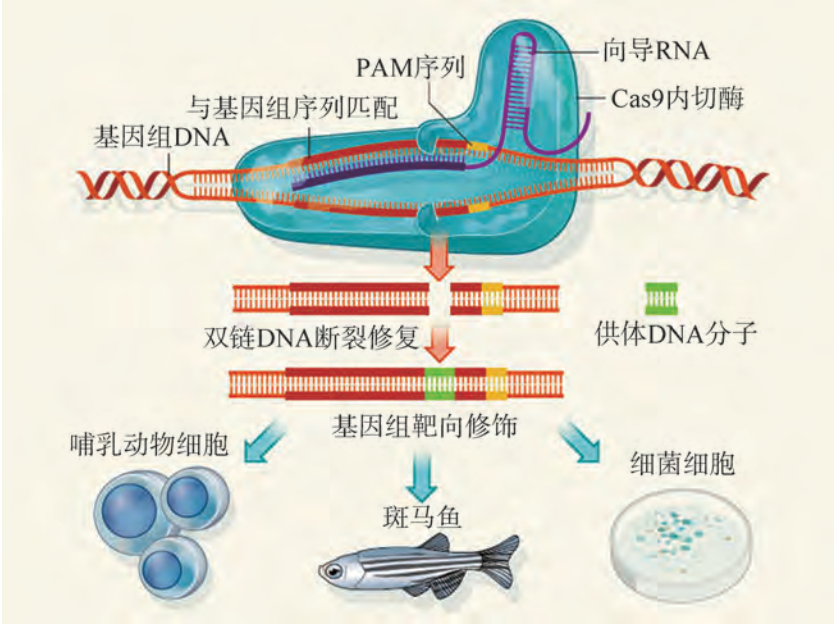


图 3–22　“CRISPR/Cas9”基因组编辑技术的工作原理示意图

近几年基因组编辑技术飞速发展，推广应用到了生物、医学、农业以及环境等多个领域，造就了一批批科研奇迹，尤其是在遗传病治疗、肿瘤治疗以及动植物改造、病原微生物防治等领域有着巨大的潜力。但是，由于目前尚存在对基因组非目标位点进行编辑的问题（称为“脱靶”），基因组编辑的安全性还需要更多的研究和改进。

第四章　现代生物技术引发的安全与伦理思考

在科技发展的漫漫长河中，生命科学研究以其磅礴气势和巨大能量，创造了历史，开启着未来。发酵工程、细胞工程、胚胎工程、基因工程，当人们尝试着利用这些生物技术改变世界时，新世界的大门也随之打开。如今，以基因工程为代表的生物技术革命的浪潮席卷全球，不仅给人类带来巨大的收益和无限的愿景，也对传统观念产生一次又一次强烈冲击，生物技术的安全和伦理问题已经成为广受关注的社会热点。现代生物技术的运用可能引发哪些安全争议和伦理冲突？面对转基因产品、生物武器和生殖性克隆我们应该持有怎样的态度？

1972 年联合国公开签署《禁止生物武器公约》

1992 年国际经济与合作组织签署《21 世纪议程》和《生物多样性公约》

1993 年世界上第一种转基因食品——转基因晚熟番茄正式投放美国市场

2003 年国际食品法典委员会发布标准《重组 DNA 微生物生产食品安全性评估导则》

2004 年联合国粮农组织公布《植物生物风险防范纲要》

2005 年联合国大会法律委员会通过《联合国关于人的克隆宣言》

课题研究

调查消费者对转基因产品的了解和接受程度

进入 21 世纪，基因工程技术日新月异，在推动现代工农业高质量快速发展的同时，也正在悄悄改写我们的未来。利用转基因技术生产的疫苗、药品等已经大量用于疾病的防治，越来越多的转基因农产品也争相问世，并逐渐进入市场走向餐桌，转基因产品已与人们的生活息息相关（图 4–1）。

提出问题

目前有哪些转基因产品在市场销售？消费者对这些产品的了解和接受程度如何？

制订并实施研究计划

1. 做哪些准备？

◆ 拟定调查目的和方式，选择调查时间和地点，设计调查表格的形式和内容。

◆ 与相关调查单位进行沟通和协调。

◆ 制订保障人身安全和财产安全的措施。

2. 通过哪些渠道达成调查目标？

◆ 收集整理媒体、网络上引发广泛关注的转基因产品安全性的相关报道。

◆ 实地调查商场、超市、医院、药店等销售的转基因商品种类和销量。

◆ 通过问卷调查，了解消费者对转基因产品的认识和使用情况。

3. 怎样处理调查结果？

◆ 根据调查结果对转基因产品进行归类。

◆ 统计各类转基因产品销售和使用情况。

◆ 分析人们对转基因产品产生认识误区的类型和原因。

成果交流

1. 以表格、照片、视频等方式展示调查过程。

2. 请教老师或走访专业人士，并根据调查结果和走访情况形成调查报告，在全班交流。

3. 制作介绍转基因产品及其安全性的科普小报，在学校、社区宣传展示，让前沿科学以正确的方式走进公众视野。

图 4–1　转基因食品进入超市

第一节　转基因产品的安全性引发广泛关注

图 4-2　转基因木瓜

世界上首例转基因植物——转基因烟草诞生时，人们惊呼：“人类有了一双创造新生物的上帝之手。”从此，科学家便开始挥舞着“上帝之手”，创造出一个又一个神奇的转基因生物。伴随着转基因产业的蓬勃发展，有关转基因产品的安全争议也一直此起彼伏。面对逐渐出现在田间、超市、餐桌上的转基因产品（图 4-2），有人欣然接受，有人断然拒绝，更多的人则是困惑迟疑。为什么人们对转基因产品存在争议？这些争议的焦点在哪里？如何正确地认识转基因产品呢？

一、转基因产品引发安全争议

随着基因工程技术的发展，越来越多转基因产品进入我们的生活，但其可能存在的潜在风险引发了较多争论。

观点碰撞

关于转基因产品的重重纷争

转基因产品自问世之日，就一直饱受争议，存在着毁誉参半的评判。下面列出了媒体、网络上公众关于转基因生物或转基因产品安全性的一些观点。

［观点 1］　在转基因生物体内，外源基因的存在可能会干扰受体生物基因的表达，影响受体生物的正常生命活动，对受体生物造成伤害。释放到环境中的抗虫和抗病类转基因植物，除对害虫和病菌致毒外，对环境中的有益生物或将产生不利影响甚至致其死亡，从而破坏生物的多样性。转基因植物可能因抗性增强而成为入侵性杂草，或者可能造成基因污染（转入的目的基因通过杂交转移到近缘野生种），导致超级杂草的产生。这些都可能对本地物种产生竞争排斥，造成本地物种种群数量下降甚至灭绝，从而使生物多样性下降。

［观点 2］　转基因生物对生态系统可能存在着长期而复杂的影响。例如超级杂草产生后，对当地生态系统的物质循环、能量流动、信息传递等过程与功能执行，可能会有一个长期效应，需要一定时间后才能观察到其影响。大面积

种植转基因作物，可能对生态环境中非转基因植物的生存构成威胁，从而破坏生态平衡。

［观点 3］ 转基因食品可能损害人体健康。转基因技术在大大提高食品产量和质量的同时，也可能引起食品成分非预期的改变，对人们的健康产生潜在危害。外源基因的转入可能使生物体原有的“沉默基因”开启，导致生物体内产生有毒物质或过敏原。有人怀疑，首例上市的转基因动物三文鱼（图 4-3）转入的生长激素基因有可能对青少年的生长发育产生不利影响。转基因食品从出现至今仅 20 多年，不少人担心其安全隐患可能会在若干年后出现。

图 4-3　普通三文鱼（小）和转基因三文鱼（大）

［观点 4］ 在转基因植物体内转入的仅是一种或几种基因，对受体生物本身造成的影响极其有限。转基因产品从研究到获准上市，需要经过一系列严苛的评估，以确保其安全性。植物花粉的生命力短暂，传播距离有限，只要将不同作物的生育期错开，或者较远距离种植，就可避免花粉在近缘物种间扩散；技术上，可采取“细胞质转基因技术”“负压”（低于外界大气压）实验室操作（图 4-4）等多种方法，有效控制转基因生物的潜在风险。同时，转基因生物的生命力远不如人们想象的那么强，多数转基因生物在自然界无法长期生存，并不具备造成基因污染的条件。

图 4-4　在负压实验室中进行实验操作

［观点 5］ 由 50 位科学家历时 2 年撰写的报告《转基因作物——经验与展望》（2016 年）中指出：没有可靠证据表明转基因作物与环境问题之间存在因果关系。转基因可能产生的“超级杂草”，以及对生态系统可能的长期影响，与外来物种入侵所导致的对生物多样性和生态系统的影响是类似的。在正确管控下，转基因产品的潜在风险，在目前知识体系范围内都是可控的。

［观点 6］ 转基因食品中无论是转入的外源基因还是外源基因控制合成的产物，其成分都是核酸、蛋白质、糖类和脂肪等物质，进入人体消化道后会被分解成小分子物质，不会影响人类自身的组成成分。其实，进化史上有大量“天然转基因”现象，比如早在百万年前，红薯就被农杆菌转入了外源基因成为了“转基因食品”。2016 年 6 月，108 位诺贝尔奖获得者联名签署公开信，强调通过

动物实验与转基因食品化学成分的研究显示，转基因农作物和食品与其他方式生产的农作物和食品同等安全（实质等同原则），迄今为止未有任何一起因消费转基因产品而引发不良反应的案例发生。

活动建议：课堂辩论会

辩题：我们是否应该支持转基因产品

题解：关于转基因产品的纷争由来已久，根据以上材料，结合课题研究时收集整理的资料，请思考：你是否支持转基因生物的研发和转基因食品的上市？对于解决转基因产品的安全性争议，你有什么建议？根据不同主张组成辩论正反方，陈述各自的观点和理由。

生物安全一般是指由于现代生物技术的开发和应用，对生态环境和人体健康产生的潜在威胁，及对其所采取的一系列有效预防和控制措施。转基因产品安全性的争论主要集中在三个方面：一是导入外源基因是否对受体生物和生物多样性产生影响；二是转基因生物是否给生态系统带来威胁；三是转基因食品对人类健康是否造成影响。

目前在全球范围内，转基因产品的安全性结论仍未达成一致。拥护者极力促进转基因产业快速发展，反对者则以激烈的方式进行抵制。在转基因技术不断发展的过程中，我们需要用科学、理性的眼光看待转基因产品，做好转基因产品的安全保障。

二、努力保障转基因产品的安全

对转基因技术的潜在风险，人们只是进行了某种程度的预测，现在还很难给出一个确切的结论。但是，人们对转基因生物的认识正在逐步深入，从一开始的恐惧和极其严格的限制，到逐渐认识到可以通过完善技术、加强安全检测和健全安全评价体系等，来控制转基因技术可能带来的潜在风险。

20 世纪 80 年代，联合国环境项目署（UNEP）、世界卫生组织（WHO）、联合国工业发展组织（UNIDO）及联合国粮农组织（FAO）联合组成特设工作小组，开始关注生物安全问题。1992 年，国际经济与合作组织签署了《21 世纪议程》和《生物多样性公约》两个涉及生物技术安全问

题的纲领性文件，2000 年又签署了《卡塔赫纳生物安全议定书》，作为《生物多样性公约》的增补（图 4–5）。2003 年，国际食品法典委员会发布了标准《重组 DNA 微生物生产食品安全性评估导则》，作为各国实施转基因微生物风险评估的参考。2004 年，联合国粮农组织公布了《植物生物风险防范纲要》，目前约 130 个国家采纳了这个转基因生物风险评估标准。

图 4–5　国际组织制定的有关生物安全的部分文件

我国是较早实施转基因生物安全管理的国家之一。出于应对粮食危机、保护环境和人类健康的考虑，我国政府一方面积极探索转基因粮食作物的研发和产业化，另一方面针对转基因技术可能存在的风险，制定了一系列法律法规、技术规则和管理体系（图 4–6），从而将转基因作物对环境和对人类健康的风险置于可控的范围。同时我国要求，食品产品中含有转基因成分的，必须在包装上标明“转基因标识”，以保障公民的知情权和选择权。

目前我国转基因农作物在研究、农田试种、大面积种植和商品化等阶段都要进行严格的安全性评价，在各个阶段都需要核发批准证书后才允许进入下一阶段。2009 年 6 月 1 日，我国开始实施《中华人民共和国食品安全法》，对食品安全的风险监测与评估、跟踪、召回制度和法律责任等都进行了规定，进一步为我国转基因食品的安全性提供了法律保障。

图 4–6　我国实施的有关转基因安全保障的部分法律法规

阅读空间

全球首例转基因鲤鱼的上市之路

美国食品药品监督管理局（FDA）于 2015 年正式批准转基因三文鱼上市，这是世界首例获准上市供食用的转基因动物。其实很多人并不知道，在转基因鱼的研究之路上，美国只是后来者。1990 年的《纽约时报》曾刊登一则关于世界首条转基因鱼诞生的报道，这条鱼的“主人”是我国科学家、中国科学院院士朱作言。当时，该技术领先美国同行 3 年时间。

朱作言教授的研究团队早在1983年就开始了转基因鱼的研究，并成功培育出生长速度加倍的冠鲤（图4–7）。冠鲤肉质细嫩，味道鲜美，且养殖成本较低。按照国家Ⅰ类新药的毒理学实验规范和实质等同原则，相关部门对冠鲤进行了营养学、毒理学和致敏性研究，系统评价证实冠鲤与对照鲤具有同样的食用安全性。有人认为，转基因冠鲤可能与野生近缘种杂交导致“基因逃逸”，带来潜在的生态安全问题。2002年，朱教授的研究团队将转基因二倍体鲤鱼与异源四倍体鲫鲤杂交，成功培育出三倍体转基因鲤鱼“吉鲤”，从根本上规避了转基因鲤鱼潜在的生态风险。

图4–7　朱作言教授和转基因鲤鱼

然而时至今日，市场上仍未见到吉鲤的身影，这是为什么呢？转基因产品在获准上市之前，需要进行长时间的安全评估。在美国，转基因三文鱼从申请出售许可到正式获得审批，整整花了25年的时间。中国转基因产品的安全性评价体系，不管在技术标准上还是在程序上，都是世界上最严格的。在中国，转基因安全评价需经过实验研究、中间试验、环境释放、生产性试验和获取安全证书等5个阶段。目前，中国科学院正在对吉鲤进行环境释放实验和生产安全实验，所以吉鲤要想游上餐桌，还需要等待时日。

转基因技术一方面在解决人类社会所面临的人口、环境、能源和资源等问题上发挥了积极作用，另一方面，转基因技术应用的安全性问题亦不容忽视。面对转基因技术的不断发展，我国不失时机地把握机遇，采取“大胆研究，自主创新，慎重推广，确保安全”的转基因技术研究战略，结合实际国情，通过有效的安全监管，使我国转基因技术紧跟世界前沿水平，以造福于中国人民和世界人民。

学业检测

1. 20世纪70年代基因工程技术刚兴起的时候，都以微生物作为实验材料，且必须在“负压”实验室里操作。这里“负压”的作用主要是（　　）。

A. 防止重组基因的生物逃逸　　B. 提高微生物的基因突变频率

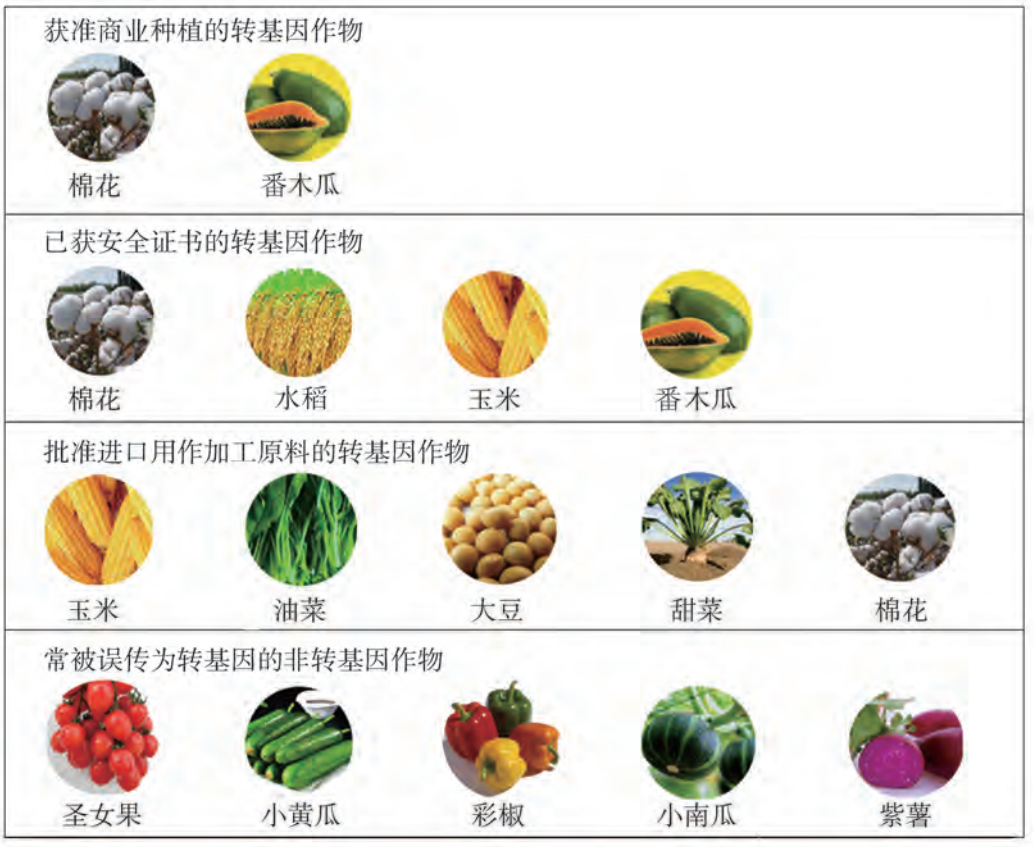
C. 加快微生物的繁殖速度　　D. 避免其他微生物对实验材料造成污染

2. 害虫损伤番茄叶片后，叶片细胞的细胞壁能释放出一种类激素物质，这种物质可诱导番茄其他部位的细胞合成蛋白酶抑制剂，导致害虫食用后因不能消化食物而死亡。科学家将番茄的蛋白酶抑制剂基因转移到玉米中，使玉米获得与番茄相似的抗虫性状，有效抵御了玉米螟的危害。

（1）抗玉米螟玉米具有显著的生态效应，该项科技成果在环境保护上的重要作用是_____。种植该玉米的农田还需要进行防虫管理吗？_____，原因是_____。

（2）有人对这种抗虫玉米的食用安全和生态安全表示担忧，请说说你的观点，并列举出支持你观点的 3 个理由。

3. 截至 2018 年，我国转基因农作物的安全证书发放、种植和进口情况，以及部分的非转基因农作物如下图所示：



（1）你知道目前市场上有哪些食品的原料可能来源于转基因作物吗？转基因作物能否通过物种或是外观加以区别？结合图示了解国内已有的转基因农作物，校正你既有的认识，并将学到的知识与家人和朋友分享。

（2）转基因产品具有广阔的发展前景，而其安全性问题一直存在争议。在发展转基因农作物的过程中，你认为我国应该采取怎样的态度？

第二节　世界范围内应全面禁止生物武器

图 4-8　侵华日军第七三一部队遗址

第二次世界大战期间，侵华日军第七三一部队（图 4-8）在中国多地投放生物武器，给人民带来深重灾难。日本侵略者用飞机播撒携带鼠疫杆菌的跳蚤使其在人群中传播，喷洒霍乱弧菌直接污染水源，这些烈性致病微生物所到之处，水源、食物被污染，疫病爆发，造成大量中国人无辜伤亡。自然界存在着许多像鼠疫杆菌一样的烈性致病微生物，如果这些微生物被别有用心的人制成生物武器，将会给人类带来怎样的危害？我们应如何预防生物武器可能造成的伤害？

一、生物武器对人类造成威胁与伤害

人类对生物武器的研究和使用已有数百年的历史，生物武器曾被多次用于战争，造成过很大的伤亡。在军事行动中用以杀死人、牲畜及破坏农作物的致病微生物、毒素和其他生物活性物质统称为生物战剂。生物武器（biological weapon）是生物战剂及其施放装置的总称。

资料探究

生物武器与战争

回顾人类历史上的各种战争，国家或军队使用生物武器来达到军事目的的历史相当久远。

［资料 1］　有文献记载，最早使用生物武器的实例发生在 1364 年，鞑靼人进攻克里米亚半岛时，把鼠疫患者的尸体投掷到热那亚人坚守的卡法城内，致使全城感染鼠疫，热那亚人大量死亡，最终丢失了城池。疯狂的鼠疫随着热那亚人的逃亡蔓延至整个欧洲，肆虐达 8 年之久，致 2000 多万人死于非命。

［资料 2］　1763 年夏，当时正在俄亥俄 – 宾夕法尼亚地区进攻印第安部落的英国人布凯（H. Bouquet）上校，从医院拿来天花病人用过的地毯和手帕，作为礼物送给当地的原住民部落首领。几个月后，烈性传染病天花在印第安部落中蔓延，给当

地原住民造成了毁灭性打击。

［资料 3］　朝鲜战争中，美国在朝鲜北部和中国东北地区使用生物武器多达上千次。除了用飞机播撒带菌的昆虫、鼠及杂物外，还公然多次使用生物气溶胶（将生物战剂制成干粉或液体，喷洒在空气中所形成的有害的气雾云团），致使大量中国人民志愿军战士和朝鲜民众染病死亡。

分析讨论

1. 生物战剂可以通过哪些途径进行施用和传播？
2. 生物武器对人类造成的主要威胁是什么？
3. 为什么要在全世界范围内禁止使用生物武器？

第一次世界大战结束之前，生物战剂仅有几种人畜共患病的致病细菌，如炭疽杆菌、鼠疫杆菌等。20 世纪 30 ~ 70 年代，生物战剂种类逐渐增多、生产规模扩大，这是历史上使用生物武器最多的年代。随着生物技术迅速发展，利用重组 DNA 技术对天然病原体进行基因改造，可能生产出具超强毒性的新型致病微生物，使生物武器发展到基因武器阶段。

二、生物武器比常规武器更具危害性

生物武器虽然不会严重损毁建筑或公共设施，但它可以在短时间内将一座生机勃勃的城市变成一座死城。与常规武器相比，生物武器具有致病性强、传染性大、危害时间长、防治困难等特点，对人类更具危害性。

致病性强、传染性大　生物战剂多为烈性传染性致病微生物及其毒素，只要使用极少量就可使人患病。如人感染炭疽杆菌后（图 4-9）死亡率可达 90% 以上；1g 纯化的肉毒杆菌毒素可致上千万人死亡。生物战剂的高传染性可通过多种途径使人感染发病，在缺乏防护、人员密集、卫生条件差的地区极易传播蔓延，引起传染病流行。

污染面积大、危害时间长　直接喷洒的生物气溶胶可随风飘到较远的地区，杀伤范围可达数百至数千平方千米。在适当的条件下，有些生物战剂存活时间长，不易被侦查发现。例如，炭疽杆菌的芽孢具有很强的生命力，在土壤

图 4-9　下颌溃烂的炭疽患者

中可存活40年之久，即使死亡多年的朽尸，也可成为传染源。

施用简单、防治困难　生物战剂不需要太多、太复杂的施放装备和手段，可以通过空气、牲畜、植物、昆虫、信件等多种途径传播，也可以在任意地点、任意时间施放，具有突发性、隐蔽性和欺骗性。由于人们很难在第一时间识别生物武器并作出反应，使得事件发生后往往会错过有效的干预期和控制期，进而导致传染病蔓延。

阅读空间

生物战剂的分类

联合国《禁止发展、生产、储存细菌（生物）及毒素武器和销毁这类武器的公约》（即《禁止生物武器公约》）显示，目前常规生物战剂已达六类：

1. 细菌类生物战剂，主要包括炭疽杆菌、鼠疫杆菌、霍乱弧菌、马鼻疽杆菌、野兔热杆菌、布鲁氏杆菌、军团杆菌等。

2. 病毒类生物战剂，主要包括黄热病毒、委内瑞拉马脑炎病毒、天花病毒、森林脑炎病毒、登革热病毒、拉沙热病毒、裂谷热病毒等。

3. 立克次体类生物战剂，主要包括斑疹伤寒立克次体、Q 热立克次体等。

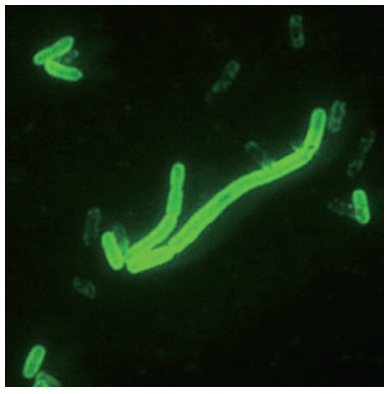
4. 衣原体类生物战剂，主要包括鸟疫（鹦鹉热）衣原体等。

5. 真菌类生物战剂，主要包括孢子菌、组织胞浆菌等。

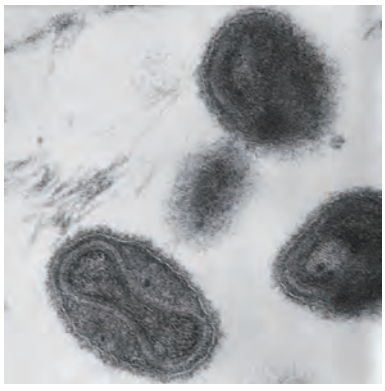
6. 毒素类生物战剂，主要包括肉毒杆菌毒素、葡萄球菌肠毒素等。

其中，炭疽杆菌、鼠疫杆菌、天花病毒、登革热病毒、肉毒杆菌毒素等是对国家及公众安全可能造成严重威胁的烈性生物战剂（图 4–10）。

油镜下的炭疽杆菌
（放大倍数：1000×）



荧光显微镜下的鼠疫杆菌
（放大倍数：200×）



电子显微镜下的天花病毒
（放大倍数：370 000×）

图 4–10　三种烈性生物战剂

三、针对生物武器的特点进行防护

虽然生物武器具有极大的杀伤力，但如能及时采取有效的防范措施，则可降低其危害。绝大多数生物战剂都是利用有传染性的微生物制成的，所以主要的防护策略是控制传染源并切断传播途径。

由于很多生物战剂是通过呼吸道黏膜或皮肤进入人体的，所以保护好呼吸道和皮肤最为重要，可用防护口罩、防毒面具、隔绝式防毒衣（图 4–11）或扎“三口”（领口、袖口、裤腿口）等方法进行防护。对带菌昆虫的防护，主要是保护暴露的皮肤不让昆虫叮咬，同时采取打、捕、烧、熏或喷洒药物等方法尽可能杀灭带菌昆虫。在生物战剂污染区行动时，可根据生物战剂的类型提前进行免疫接种和个人防护。发现病人，要立即报告并及时隔离。对生物武器所造成的污染区应及时封锁、隔离，并进行彻底消毒灭菌。

图 4–11　隔绝式防毒衣

科学实践

针对生物武器袭击的应急演练

20 世纪 70 年代以来，发生了上百起与生物武器有关的恐怖活动事件。在美国，从 2001 年 9 月 18 日开始的数周时间内，陆续有人把含有炭疽杆菌的信件寄给数十个新闻媒体办公室以及 2 名民主党参议员。整个事件导致 5 人死亡、17 人被感染，引发了美国民众的恐慌。如果你所在学校受到恐怖分子的生物武器袭击，你应该怎样进行防护？

1. 请以小组为单位，根据生物战剂的传播特点和途径，讨论如何利用身边的物品（毛巾、口罩、头盔、衣物等）进行应急防护？如何安全撤离？

2. 各小组在老师的指导下交流防护措施，并最终形成应急预案。

3. 全班同学根据应急预案进行应急演练。

四、我国反对生物武器及其技术和设备的扩散

为维护和促进世界的和平与发展，彻底排除使用生物战剂作为武器的可能性，1972 年 4 月 10 日，联合国公布《禁止生物武器公约》供各国签署，并于 1975 年 3 月生效。公约规定，缔约国不得生产、储存生物武器，也不得协助他国取得这类武器，同时缔约国可向联合国安理会控诉其他国家违反公约的行为等。

中国坚决支持禁止生物武器的主张，于 1984 年 11 月 15 日加入《禁止生物武器公约》。自加入以来，中国一直认真、全面地履行自己所承担的义务，严格奉行在任何情况下不发展、不生产、不储存生物武器的规定，并反对扩散生物武器。2017 年，联合国召开《禁止生物武器公约》缔约国会议（图 4–12），中国提出的“制定生物科学家行为准则范本”倡议被正式列入会议工作计划。截至 2017 年，已经有接近 180 个国家加入了该公约。相信在全世界各国人民的努力之下，定能将笼罩在人类头上的生物武器的阴霾驱散。

图 4–12　2017 年联合国《禁止生物武器公约》缔约国会议现场

阅读空间

现代口岸核生化有害因子防控

核生化有害因子包括核放射性物质、生物战剂和化学毒剂，这些物质均可用于制造大规模杀伤性武器。为有效防控和减少核生化有害因子对口岸出入境人员生命健康以及国家财产造成的危害，国家质量监督检验检疫总局于 2010 年 8 月发布了《口岸核生化有害因子监测技术方案》。

《口岸核生化有害因子监测技术方案》要求口岸检验检疫人员秉承“预防为主、常备不懈；统一领导、分级负责；反应及时、措施果断；依法科学、加强监测”的工作原则，对可能携带或含有核生化有害因子的入境人员、货物、交通工具、集装箱、行李、邮包等，进行严格的监测、检测、排查和处置工作，及时发现、控制和消除口岸核生化恐怖事件。该方案的实施能够最大限度地将核生化有害因子拒之于国门之外，保障我国口岸的公共安全。

学业检测

1. 当今世界，仍然有少数不法分子在恐怖活动中使用生物武器。1984 年 9 月，2 名美国宗教极端分子在俄勒冈州一座小镇的餐厅里施用沙门氏伤寒杆菌，造成 751 人患急性肠炎；1993 年 6 月，日本邪教组织奥姆真理教企图在皇太子婚礼游行时散播炭疽杆菌，幸而没有成功。这些恐怖活动都给当地民众带来了伤害，引发了恐慌。请回答下列相关问题：

（1）上述沙门氏伤寒杆菌、炭疽杆菌等致病微生物均属于生物战剂，下列有关生物战剂的类型和特点的说法，错误的是（　　）。

A. 生物战剂多为烈性致病微生物，致病性强

B. 生物战剂多为高传染性微生物，易大面积传播

C. 生物战剂存活时间久，给人类带来长期的威胁

D. 为降低生物战剂的危害，国际社会只允许小规模使用

（2）常用作生物武器的炭疽杆菌、沙门氏伤寒杆菌等都是人畜共患病的烈性致病微生物，人类感染这些微生物的主要途径为皮肤渗透、呼吸和摄入。请判断下列针对这类生物武器的防护措施正确与否：

① 戴上防毒面具，穿上防护服　　（　　）

② 将可疑昆虫置于强光下暴晒　　（　　）

③ 将已感染的家禽、家畜彻底清除　　（　　）

④ 未采取任何防护措施进入污染区救援　　（　　）

⑤ 对已污染的区域进行封锁、隔离　　（　　）

（3）在战争中，为降低敌方使用上述类型的生物武器带来的伤害，你认为参战部队可采取的最有效的措施是_____。采用这一措施的原理是_____。

2. 人们通常将大规模的烈性传染病流行称为“瘟疫”。如果这些烈性传染病被好战分子或恐怖组织所利用，将会使人类面临极大的威胁。假设你是一名该领域专家，在联合国安全理事会召开的有关禁止生物武器使用的会议上，请你代表中国阐述观点。

第三节　关注生物技术带来的伦理问题

图 4-13　《我是克隆人》德文版（2003 年）封面

“才貌双全的女作曲家伊丽斯身患绝症，为使自己的天赋延续，在科学家帮助下她克隆出一个与自己一模一样的‘女儿’斯丽伊。斯丽伊作为伊丽斯的克隆体，人生轨迹出生之前就被制定好，唯一的使命便是让‘母亲’的才华永生。由此，她与‘母亲’产生了极大的矛盾冲突和心理差异，导致悲剧一个接着一个发生……”这是德国科幻小说《我是克隆人》（图 4-13）讲述的故事。2018 年 1 月，《细胞》杂志发表中国科学家成功培育出克隆猴的研究文章。在欢呼我国率先攻克灵长类动物克隆难题的同时，也有人忧心忡忡：同为灵长类，克隆猴已来，克隆人还会远吗？斯丽伊的悲剧会不会在现实中上演？

一、生殖性克隆人引发伦理风波

从一个细菌的克隆，到 DNA 基因水平的克隆，再到高等动物个体的克隆，克隆技术在不断发展，人们对克隆技术应用前景的分析也在不断发展变化。按照目的不同，针对人的克隆技术包括治疗性克隆和生殖性克隆两类。治疗性克隆是指在实验室培养出早期胚胎，取其中的胚胎干细胞，将其诱导分化形成所需要的细胞、组织和器官，从而达到治疗疾病的目的。生殖性克隆则是以生产完整的克隆人为目的，将实验室培养的早期胚胎移植入人类的子宫中，发育为完整胎儿的过程。

观点碰撞

有关克隆人的伦理追问

克隆羊“多莉”一问世，就引发了全世界的强烈关注。人们开始思考克隆人出现的可能性，并引发了一系列关于克隆人伦理问题的长久、激烈的讨论。

［观点 1］　生命伦理学的最高目标是维系人的尊严及其自然地位，而克隆人的

出现将挑战人的尊严和地位。传统有性生殖方式产生的人是独一无二的，每个人独特的“基因身份证”已成为具有高度排他性的个人权利。克隆人的产生，实质是对自然人的基因复制，他的出现必将损害自然人的基因独有权，破坏生命的独特性。生殖性克隆违背自然的本质，使人成为可以在流水线上大量复制的产品，势必导致人类最为深刻的敬畏感——对生命的敬畏荡然无存。

［观点 2］　由于克隆人产生的特殊背景，其基本人权很难得到保障。克隆人是在自然人强烈目的的驱使下产生的，他究竟是全新的“人”，还是仅仅是用于科学实验的实验品？即便具有了生理层面上“人”的属性，他能否像自然人一样，拥有同等的社会权利和义务？他能否像自然人一样享有法律的保护？此外，克隆技术的不完善性或将导致大量严重缺陷的克隆人出现，他们将承受身体和心理的巨大痛苦，而人类该怎样对待这些被克隆出来的“残次品”？

［观点 3］　克隆人的身份难以认定，这将挑战家庭的伦理定位，造成人伦秩序的混乱甚至颠倒。家庭讲究的是人伦秩序，有权利，有义务，至亲至爱。克隆人的产生一般需要体细胞核提供者、去核卵细胞提供者、孕育者，克隆人与这三种角色之间是何种关系？家庭的构建是以婚姻和两性生殖为基础，如果人类不通过精卵结合就可以进行无性生殖，那么两性概念必将模糊，婚姻家庭关系面临解体，社会结构将受到巨大冲击。

［观点 4］　克隆人在社会中的法律关系无法确认，将带来诸多社会问题。克隆人的家庭伦理关系的混乱，必定会冲击传统的家庭权利和义务观，破坏家庭的财产继承、赡养义务等法律关系；克隆人生活在别人的目的和价值之下，容易因其特殊身份而产生心理缺陷，带来严重的社会问题；最为可怕的是，一旦克隆人通过批量复制而产生，成为恐怖分子的工具，那还能不能受到有效的约束和控制？人类社会现有的法律和制度是否会因此被完全颠覆？

分析讨论

1. 如果出现了生殖性克隆人，将会带来哪些方面的伦理冲击？
2. 你赞成禁止生殖性克隆人研究吗？说说你的理由。

克隆技术的诞生，是人类智慧的体现。虽然克隆技术飞速发展，但生殖性克隆违反了人类繁衍的自然法则，损害人类作为自然人的尊严，必将严重冲击人类的伦理，进而导致在家庭、社会、道德和法律等方面出现诸多问题，甚至将会危及人类的生存和发展。

二、我国禁止任何生殖性克隆人实验

中国政府明确反对克隆人的研究，在多项法律法规中明文禁止。2003 年，科技部和卫生部在《人胚胎干细胞研究伦理指导原则》中规定，“禁止进行生殖性克隆人的任何研究”；同年，卫生部在《人类辅助生殖技术规范》中要求技术人员禁止克隆人；2009 年，卫生部颁布的《医疗技术临床应用管理办法》规定，“异种干细胞治疗技术、异种基因治疗技术、人类体细胞克隆技术等医疗技术暂不得应用于临床”。在克隆人问题上，我国一贯主张“四不”原则：不赞成、不允许、不支持、不接受任何生殖性克隆人的实验。

阅读空间

各国有关生殖性克隆人的立法

由于生殖性克隆引发关于伦理道德等相关问题，国际社会要求禁止克隆人的呼声此起彼伏，各国也纷纷采取措施限制克隆人的相关研究，但是由于历史、文化、哲学和宗教背景等方面的差异，各国的立法不尽相同（表 4–1）。

表 4–1　部分国家和国际组织有关克隆人的立法

1997 年	联合国教科文组织通过《世界人类基因组与人权宣言》，明确反对用克隆技术繁殖人
1998 年	欧盟的 19 个国家和组织共同签署了禁止人体克隆的《欧洲理事协议》
2001 年	美国众议院通过了禁止包括科学研究在内的任何形式的克隆人行为议案
2001 年	日本开始实施克隆技术限制法
2004 年	新加坡国会通过一项法律禁止克隆人，但允许治疗性克隆研究
2005 年	联合国大会法律委员会通过了《联合国关于人的克隆宣言》

2005 年 2 月 18 日，第 59 届联合国大会法律委员会投票通过了一项不具法律约束力的政治宣言，敦促各国禁止有违人类尊严的任何形式的克隆人活动。赞成宣言的有 71 个国家，包括美国、德国、荷兰、巴西等。由于宣言的表述非常含混不清，宣言所提到的禁止可能被误解为涵盖治疗性克隆研究，中国、比利时、英国、瑞典、新加坡、日本等 35

个国家投了反对票。我国代表称，我国政府已通过法律手段明令禁止人的生殖性克隆。治疗性克隆与生殖性克隆有着本质的不同。治疗性克隆不会像生殖性克隆那样产生严重的道德、伦理、社会或法律问题。在严格的监管下进行的治疗性克隆研究，不仅不会损害人类尊严，相反，对挽救人类生命和增进人类健康有着广阔的前景和巨大的潜力。因此，我国允许开展治疗性克隆的研究。

三、其他生物技术也面临诸多伦理问题

从未有哪个领域像生物技术领域一样，其变革对伦理和法律产生如此巨大的影响。人工生殖、设计试管婴儿、基因组编辑、遗传预测、器官移植、治疗性克隆等技术的发展，使人类不断拥有了控制自身、改变自身的广阔空间。这些技术若使用不当，就会出现诸多伦理问题，如基因歧视、隐私权破坏、新的人种论和种族歧视等。那么，人类到底该不该擅自改变生命的轨迹？即使要改变，又可以在多大程度上改变呢？这些都是值得探讨的问题。

思维训练

你是否支持设计试管婴儿

基于细胞工程技术和胚胎工程技术产生的“试管婴儿”，最初的主要目的是通过体外受精解决不能自然生育的问题。随着对人类基因组、基因功能的了解不断深入，人们开始设想通过“设计试管婴儿”来设计自己的后代，甚至通过这种手段来决定后代的性别、外貌、智力、性格等。“设计试管婴儿”是指将体外受精形成的胚胎植入母体孕育之前，对胚胎进行遗传学诊断和改造，筛选出符合特殊要求的胚胎，再把胚胎植入母体孕育，进而生出特定类型的婴儿。这无疑会打破自然规律下的性别比例，造成基因歧视等，这些问题都可能给人类的伦理观念带来巨大的冲击。

请查阅相关资料，就此问题在全班开展一场讨论。

现代生物技术的研究成果解决了人类生产、生活中的许多问题，但也可能出现一些负面影响。生命科学的发展必须接受生物伦理的规范和制约，人类不仅要懂得应用科学，更应确保生物技术成果最大限度地造福于人类。

学业检测

1. 2017 年，我国科学家成功培育出了克隆犬“龙龙”。随着各类克隆动物的不断出现，克隆人似乎离我们越来越近了。但生殖性克隆会给人类社会带来诸多伦理问题。下列关于生殖性克隆的叙述，错误的是（　　）。

A. 生殖性克隆有可能破坏人类的基因多样性，不利于人类的进化

B. 生殖性克隆可以加强“自然人”的危机意识，促进人类社会的发展

C. 生殖性克隆有可能破坏现有的家庭和社会结构，不利于社会的和谐和稳定

D. 生殖性克隆有可能使出现的“克隆人”找不到自我，给社会带来潜在的危害

2. 人体器官移植面临的主要问题有免疫排斥和供体器官不足等，目前在临床上通过使用免疫抑制剂抑制 T 细胞的增殖，此法虽然能提高器官移植的成活率，但又会降低人体的免疫力。有没有新的生物科学技术能解决这些问题？这项技术会给人类社会带来哪些影响？

3. 科学技术在实际应用的过程中，给人类社会带来了前所未有的繁荣，但也可能会产生负面效应。如果你将来成为一名科学家，你该如何处理自己的研究成果和社会道德与法制法规之间的关系？

学业要求

重要概念	节次	学科素养
生物技术在造福人类社会的同时也可能会带来安全与伦理问题。	第一节	◆举例说出日常生活中的转基因产品。 ◆探讨转基因技术在应用过程中带来的影响。 ◆分析转基因产品的安全之争的相关资料，培养基于事实和证据进行演绎推理的科学思维。
	第二节	◆举例说明历史上生物武器对人类造成了严重的威胁与伤害。 ◆认同我国反对生物武器及其技术和设备扩散的立场。 ◆分析资料，树立生物武器会给全人类带来严重灾难的科学观念，形成坚决拥护我国反对生物武器主张的社会责任。
	第三节	◆举例说出生殖性克隆人面临的伦理问题。 ◆分析说明我国为什么不赞成、不允许、不支持、不接受任何生殖性克隆人实验。 ◆运用生物学基本概念和原理对生物技术和工程带来的伦理问题进行科学分析，认同生物技术的发展必须接受生物伦理的规范和制约的观点。

榜样人物

为了生命科学的“真”与“善”

科学认识世界，技术改变生活。生物技术在促进人类文明发展、社会经济繁荣的同时，也不可避免地会带来一些负面效应，面临伦理、法律和社会等方面的问题。一段时期以来，围绕转基因、“克隆人”以及干细胞的临床转化等话题的讨论，说明生物技术的发展离不开“为善”还是“为害”的伦理之争。科学家一旦创造出科研成果，这个成果就是人类科技文化的组成部分，其创造者理应承担起相应的社会责任。科学家的科研工作不仅属于个人，更是属于全社会、全人类的。

美国著名的分子生物学家伯格（图 4–14）就是科学家的典范。当他在实验中将不同物种来源的 DNA 片段连接，成功产生了一种 DNA 杂种分子时，他意识到，这种遗传工程技术虽然能极大推动生物科技的进步，可一旦被用于制造生物武器或遗传武器，将对人类产生致命危害。伯格果断地中止了这项研究，并建议政府制定相关的管理规范和伦理规范，体现出一名科学家良好的科技道德，为人们所敬仰。英国著名科学家维尔穆特（图 4–15）首次成功实现了体细胞克隆，培育出克隆羊“多莉”。当有记者询问他对克隆人的看法时，他回答：“当我开始动物克隆实验时，从未想过要进行人体克隆。对我来说，所有涉及伦理的问题最终都会归结到一个核心问题，那就是，如果你认为你是在做一件会对其他人或者对社会人文环境产生影响的事情，你就必须思考，如果这个影响是负面的，这项工作就该终止。”他还表示，虽然自己的研究使克隆人成为可能，但他明确反对人类自身的克隆。

图 4–14　伯格

图 4–15　维尔穆特

中国科学院于 2007 年 2 月 26 日发表了《关于科学理念的宣言》，该宣言强调，“当代科学技术渗透并影响人类社会生活的方方面面。当人们对科学寄以更大期望时，也意味着科学家承担着更大的社会责任”。中国科协前主席、中国科学院前院长周光召（图 4–16）院士在题为“科学家的责任”的讲演中认为，科学家的责任由三部分组成：“第一，对科学自身健康发展的责任；第二，保护自然环境、生态系统，维护人与自然和谐的责任；第三，确保全人类的长远利益，促进社会进步，维护世界和平、繁荣和稳定的责任。”

图 4–16　周光召

在生命科学大发展的过程中，有大批的科学家正如普罗米修斯盗取天火一般，孜孜不倦地为人类争取对命运认知和选择的权利。他们用追求真知的科学精神、精益求精的技术态度和造福社会的人文关怀，取得了一个又一个科研成果，对生物技术的发展方向产生着深远的影响。让我们和科学家一起，牢记社会责任，追求生命科学的“真”与“善”，站上新的台阶，一起看向未来！

附录一　实验室规则

1. 自觉遵守实验室纪律，维护实验秩序，不迟到，不早退，保持室内安静。

2. 在实验过程中要听从教师的指导，严肃认真地按操作规程进行实验，并准确地将实验结果和数据记录在实验记录本上。

3. 注意安全。强化用水、用电、用火的安全意识，慎用易燃、易爆、强酸、强碱和有毒化学药品。熟悉危险化学药品的警示标志，保持实验室的通风换气，防止化学药品对人体的损害。使用玻璃器皿时，应小心谨慎，避免因仪器破损造成人体伤害。处理微生物材料时，要严格遵守无菌操作规程。丢弃微生物实验材料时一定要进行灭菌处理，以免造成环境污染和生物感染。实验结束后，应洗净双手。

4. 环境和仪器的清洁、整齐是做好实验的重要条件。实验台、试剂药品架必须保持整洁，仪器药品摆放井然有序。勿将试剂、药品洒在实验台面或地面上。实验完毕，须将药品、试剂排列整齐，仪器洗净放好，实验台面抹拭干净。

5. 使用仪器、药品、试剂和各种物品必须注意节约，不要过量使用药品和试剂。应特别注意保持药品和试剂纯净，严防混杂污染。使用和洗涤仪器时，应小心谨慎，防止损坏仪器。使用精密仪器时，应严格遵守操作规程，发现故障立即报告教师。

6. 废弃液体应倒入废液缸内。废纸等固体废弃物和带有渣滓沉淀的废弃物都应倒入废纸篓内，不能倒入水槽或随处乱扔。

7. 仪器损坏时，应如实向教师报告，认真填写损坏仪器登记表。

8. 实验室内一切物品，未经本室负责教师批准，严禁携出室外，借物必须办理登记手续。

9. 每次实验课，值日生要负责安排当天实验室的卫生、安全等工作。

10. 对实验内容和安排不合理的地方可提出改进意见。对实验中出现的一切反常现象应进行讨论，并大胆提出自己的看法，做到主动学习。

附录二　部分培养基配方

1. PDA 培养基配方

去皮马铃薯 200g、葡萄糖 20g、琼脂 15~20g、蒸馏水 1000mL，自然 pH。

配制步骤：（1）制备马铃薯汁。去皮马铃薯切片，称 200g 并加蒸馏水 1000mL，煮沸半小时，用纱布过滤。（2）加热溶解。在马铃薯汁中加入葡萄糖 20g、琼脂 15~20g。加热并搅拌，待琼脂溶解，稍冷却后定容至 1000mL。

2. 分解尿素细菌培养基配方

KH_2PO_4 1.4g、Na_2HPO_4 2.1g、$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2g、葡萄糖 10.0g、尿素 1.0g、琼脂 15g，加蒸馏水至 1000mL。

3. MS(Murashige and Skoog) 培养基母液的配方

种类	成分	规定量 (mg)	扩大倍数	称取量 (mg)	母液体积 (mL)	配制 1000mL 培养基吸取量 (mL)
大量元素母液	NH_4NO_3	1650	10	16 500	1000	100
	KNO_3	1900	10	19 000		
	$CaCl_2 \cdot H_2O$	440	10	4400		
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370	10	3700		
	KH_2PO_4	170	10	1700		
微量元素母液	KI	0.83	100	83	1000	10
	H_3BO_3	6.2	100	620		
	$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	22.3	100	2230		
	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.6	100	860		
	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25	100	25		
	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025	100	2.5		
	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025	100	2.5		

（续表）

种类	成分	规定量 (mg)	扩大倍数	称取量 (mg)	母液体积 (mL)	配制 1000mL 培养基吸取量 (mL)
铁盐母液	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.8	100	2780	1000	10
	二水合乙二胺四乙酸二钠	37.3	100	3730		
维生素以及氨基酸母液	肌醇	100	50	5000	500	10
	烟酸	0.5	50	25		
	盐酸吡哆醇（维生素 B_6）	0.5	50	25		
	盐酸硫胺素（维生素 B_1）	0.4	50	20		
	甘氨酸	2.0	50	100		

附录三　现场救护的基本原则

1. 先抢后救：如伤病员处于危险境地，应尽快将其转移至安全地带再进行救治。

2. 先救后送：先对伤病员进行现场急救处理再转送至医院。

3. 先重后轻：优先抢救大出血、呼吸异常、脉搏细弱或心跳停止、神志不清的伤病员。严密观察并稳定好患者的生命体征，如伤病员呼吸、心跳停止，应借助自动体外除颤器（AED）或徒手进行心肺复苏。

4. 先复后固：遇到兼有心跳、呼吸骤停与骨折者，首先进行心肺复苏，直到心跳、呼吸恢复后再进行骨折固定。

5. 先止后包：遇到大出血且有创口者，应立即用指压、止血带或药物等方法止血，然后再消毒创口，进行包扎。

6. 急救与呼救并重：遇到伤病员较多且有其他人在现场的情况，应同时进行急救与呼救，以便较快争取到援助。正确拨打120急救电话，讲清病情与病人信息、等候救护车的确切地点与附近的明显标志物、现场联系电话号码、其他特殊情况等，要让120先挂线，确保对方已完整了解所需信息。

后　　记

本套教科书是根据教育部制定的《普通高中课程方案（2017年版）》和《普通高中生物学课程标准（2017年版）》编写的。教科书突出对学科核心素养的培养，通过创设学习情境实施双重驱动——任务驱动和问题驱动，以每章的研究课题和每节的问题串分级驱动项目式学习和探究式学习，调动学生的学习积极性，引导学生主动学习，主动建构新知。

本套教科书共5册，其中必修教科书2册，选择性必修教科书3册。必修教科书包括《分子与细胞》和《遗传与进化》，选择性必修教科书包括《稳态与调节》《生物与环境》及《生物技术与工程》。

本套教科书是集众人智慧的成果。本书编写过程中，得到了诸多教育界前辈和专家学者的热情帮助和大力支持。在教科书出版之际，我们特别感谢郑光美、刘植义、杨帆、冯永康、李德成、林宏辉、刘霞、张可炜、夏茂林、王平、邓晓鸿、徐杰、杨长奎、张昊星、马沁沁、黎云祥、杨军等专家、学者、教师与社会各界人士。

声明　按照《中华人民共和国著作权法》第二十三条，关于“为实施九年义务教育和国家教育规划而编写出版教科书，除作者事先声明不许使用的外，可以不经著作权人许可，在教科书中汇编已经发表的作品片段或者短小的文字作品、音乐作品或单幅的美术作品、摄影作品，但应当按照规定支付报酬，指明作者姓名、作品名称”的有关规定，我们已尽量寻找原作者支付报酬。原作者如有关于支付报酬事宜可及时与出版社联系。

由于水平有限，书中难免有疏漏之处，希望使用本套教科书的师生们能够及时把意见和建议反馈给我们，对此我们将不胜感谢。我们的联系方式如下：

电话：021-64702058

E-mail：office@sste.com

高中生物学教科书编写组

2019年3月

PUTONG GAOZHONG JIAOKESHU
SHENGWUXUE

普通高中教科书
生物学　选择性必修3
生物技术与工程
上海科技教育出版社有限公司出版
（上海市柳州路218号　邮政编码200235）
各地新华书店发行　上海昌鑫龙印务有限公司印刷
开本890×1240　1/16　印张8
2019年7月第1版　2019年7月第1次印刷
ISBN 978-7-5428-7031-5/G·4072
定价：9.23元