

作用,以提高投料的浓度。比如,以 100mmol/L 磷酸钾 (pH6.0) 缓冲液:丁酸乙酯=1:1 为反应体系,可使投料浓度达到 96mmol/L,转化率保持在 90%以上。如果继续采用流加补料的方式,投料浓度估计还将提高,从而较明显地降低实验成本,使这一技术工业化。

作者简介:

李平作,男,1967 年 4 月生,工学博士,副研究员,中国科学院上海生物工程研究中心研发项目组长,主攻微生物代谢产物的研究与开发。1998 年无锡轻工大学发酵工程专业博士毕业后,进入中国科学院上海生物工程研究中心从事博士后研究。2000 年在陈常庆研究员的蛋白质工程课题组从事微生物酶的基因工程克隆表达研究。2001 年入选中国科学院上海生命科学研究院知识创新工程的研发组,任应用生物技术项目组长。目前承担科学院项目、上海市科委项目及企业合作项目,同时参与国家攻关及 863 项目。国内外学术刊物上发表论文 20 多篇,进入实审的中国发明专利 2 项。

近期主要研究课题包括微生物酶法合成手性化合物的研究;药用真菌中幽门螺杆菌抑制剂的研制;结冷胶的发酵生产;灵芝、云芝及猴菇菌多糖、多孔酸等的研究与开发。

通讯联系:中国科学院上海生物工程研究中心,上海市漕宝路 500 号,邮编:200233。

Tel: 021-64700892-312; Fax: 021-64700244; E-mail: pzli@srcb.ac.cn

安全饲料添加剂——动物微生态制剂研发进展

王建华¹ 李桂杰²

(¹ 中国农业科学院饲料研究所,北京 100081;

² 山东宝来利来生物工程股份有限公司,泰安 271000)

从农场(养殖场)到餐桌的食物安全工程是一个面广线长的复杂工程。饲料是动物的食物和人类的间接食物,饲料安全工程无疑是食品安全工程的重要一环,其中,安全饲料添加剂研发大有可为。本文综述了动物微生态制剂研发进展。

饲料抗生素在畜禽幼年阶段预防疾病发生和促生长效果明显,自 1950 年美国食品与药物管理局(FDA)首次批准抗生素用作饲料添加剂后,各国饲料抗生素的使用逐渐成为畜禽生产的常规措施,但滥用抗生素也带来了许多问题,如引起动物内源性感染或二重感染,导致动物体内菌群失调、发病或死亡、耐(抗)药菌株的产生、畜禽细胞免疫、体液免疫机能下降及其在畜禽体内的残留等。另外,饲用抗生素与维生素、矿物质元素其他重要添加剂之间有拮抗作用,严重影响了人们的饮食安全和畜产品出口创汇。据美《新闻周刊》报道,1992 年美国有 13 300 名患者死于抗生素耐药性细菌感染。1999 年 2 月,路透社报道美国科学家在肉鸡饲料中发现超级细菌,这种肠球菌对目前所有抗生素具有耐药性。因此,许多国家纷纷立法禁止或限制使用抗生素,如欧盟立法从 1999 年 7 月 1 日起禁止在饲料中添加杆菌肽、螺旋霉素、维吉尼亚霉素、泰乐菌素 4 种抗生素。1998 年 12 月在哥本哈根召开的“抗生素和生长促进剂”会议上,与会者预计,在未来 10 年里将逐渐淘汰抗生素添加剂,抗生素使用范围将逐步回复到治疗方面。

与此同时,世界各国学者先后开展了无毒副作用、无残留的抗生素替代品研制。其中,动物微生态制剂是应用比较成功的一类。动物微生态制剂是根据微生态平衡理论、微生态营养理论和微生



态防治理论选用动物体内有益的正常微生物成员及其特殊营养物质加工制成。主要包括：益生菌和益生素。后者是前者特异性碳源。益生菌能在数量或种类上补充肠道内减少或缺乏的正常微生物，调整或维持肠道内微生态平衡，增强机体免疫功能，促进营养物质消化吸收，达到防病治病、提高饲料转化率和畜禽生产性能之目的。微生态制剂以其无毒副作用、无耐药性、无残留、成本低、效果显著等特点，逐渐得到认同。它不但可以防病治病、提高饲料转化率和畜禽生产性能，还可降低畜禽产品胆固醇含量，减少养殖环境及粪便中氨气、硫化氢、有机磷等有害物质含量，明显减少畜牧业生产污染，具有显著经济和社会效益。动物微生态制剂克服了抗生素等药物添加剂的毒副作用，具有以下特征：(1) 着眼于动物消化道微生态系统；(2) 能促进畜禽生长，能有效而经济地提高畜禽生产性能，提高饲料利用率和产品品质，养殖效益高；(3) 能增强机体免疫功能，防止动物各种传染性（病毒性、细菌性）疾病和调节机体生理机能；(4) 无残留毒副作用，不影响畜禽产品质量，不影响人类生存环境与健康；(5) 理化性质或生物活性稳定，能有效地进入胃肠道发挥作用，不影响饲料适口性；(6) 细菌对其不易产生抗性；(7) 提高动物抗应激能力；(8) 改善养殖环境等。

目前，美国、日本、法国、德国、瑞士、巴西等 60 多个国家已大批量生产和应用。美国准许直接饲喂的微生物有 40 多种，年使用量约 8 000t，日本达 1 000t 以上，主要用于猪和鸡。近年来，随着动物微生物学研究深入，动物微生态制剂研发应用受到普遍重视，发展迅速，生产厂家多，产品更新快。

一、动物微生态制剂的种类

目前，国内外市场上的动物微生态制剂主要包括益生菌和益生素。益生菌在欧美市场和研究领域局限于乳酸菌和双歧菌 2 类，在亚洲市场和研究领域则还包括有芽孢杆菌和酵母菌。益生素，在欧洲和北美主要包括低聚果糖、菊粉低聚糖和低聚甘露糖，在日本等亚洲国家主要包括低聚木糖、低聚果糖和低聚异麦芽糖等。

(一) 益生菌种类

1. 乳酸菌类制剂 此类菌属是动物肠道中的正常微生物。目前应用的主要有植物乳杆菌、嗜酸乳杆菌、粪链球菌等。

2. 芽孢杆菌类制剂 此类菌属在动物肠道微生物群落中零星存在。芽孢杆菌对干燥、高温、高压、氧化等不良环境抵抗力很强，在肠道发芽生长具多种有效的酶促效应。目前应用的主要以枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌及纳豆芽孢杆菌为主。

3. 酵母制剂 与芽孢杆菌属一样，零星存在于动物肠道微生物群落中。主要以啤酒酵母、产阮假丝酵母等为主。此类制剂也易受干燥、高温、高压、氧化等不良环境的影响，造成活菌数下降，导致产品贮存期短、质量不稳定，进而影响饲喂效果。

4. 复合制剂 由芽孢杆菌、乳酸菌、酵母菌多种菌复合配制而成，具有预防疾病、促进生长、提高饲料转化率等多种功能。如宝来利来公司生产的益生素系列产品。

(二) 益生素种类

国外，低聚糖产品的应用比活菌制剂更普遍，在食品、饮料上的应用比在畜牧业上更普遍。因为低聚糖的生产、产品质量和应用效果更容易控制和保持稳定。

1. 低聚果糖 可以通过由果糖转移酶催化的蔗糖水解与转移合成反应生产，也可以通过内切菊粉酶适度水解菊粉获得。

2. 低聚木糖 主要通过木聚糖酶催化水解木聚糖获得。

3. 低聚甘露糖 来源于酵母细胞分离产物或者魔芋等植物材料。

4. 菊粉低聚糖 来源于菊芋和菊苣等植物材料。

二、动物微生态制剂的理论根据

研制开发动物微生态制剂的理论依据主要包括微生态平衡理论、微生态营养理论以及微生态防治理论等, 详见 Probiotics: A Critical Review. (ed. By Gerald W. Tannock, “Bios. Scientific Publishers”, 2000, Oxford, UK)、 “Probiotics and Prebiotics : Where are we going” (ed. By Gerald W. Tannock, Caister Academic Press, New Zealand) 和《动物微生态学》(何明清, 1994)。真正的技术源头当属人们对发酵乳品的长期使用和其有效性的认同。

(一) 动物微生态平衡理论

指正常微生物群与其宿主动物在不同发育阶段与动物体之间动态的生理性组合。该组合是在长期历史进化过程中形成的, 是正常微生物群与其动物体内、体表相应的生态空间相互作用的生理性统一体。对应地, 正常的动物微生态平衡在外界环境影响下, 由生理性组合转变为病理性组合的状态——动物微生态失调状态。外界环境因素包括: 气候变化、饲养环境变化、抗生素疗法、激素疗法、免疫抑制疗法及同位素照射等。所有这些因素均可导致微生态平衡失调, 其中抗生素影响最为突出。

(二) 动物微生态营养理论

指动物体内正常微生物对其宿主动物的营养作用。当动物体外有益微生物人工的进入体内, 一则参与物质代谢, 提供机体以营养物质和生长刺激因子, 产生各种消化酶, 促进消化吸收, 另则参与微生物拮抗作用以之防病。

(三) 动物微生态防治理论

该理论提倡顺应微生态系统客观规律, 因势利导, 改善微生态环境, 建立生物量更高的微生态平衡。它不同于单纯的抗生素等药物治疗法, 而是综合中西医疗法之优点, 并以微生态制剂来防治疾病, 促进动物生长。

三、益生菌的作用机理

(一) 优势种群说

正常微生物与动物和环境之间所构成的微生态系统中, 优势种群对微生态平衡起决定作用, 一旦失去了优势种群, 则微生态失衡, 优势种群更替。正常情况下, 动物肠道内优势种群为厌氧菌占99%以上, 而需氧菌及兼性厌氧菌只占1%, 主要是拟杆菌、双歧杆菌、乳酸杆菌、消化杆菌、优杆菌等。如该优势种群发生更替, 上述专性厌氧菌显著减少, 而需氧菌、兼性厌氧菌显著增加, 此时使用微生态制剂, 拟杆菌、双歧杆菌等优势种群逐渐增加恢复正常, 而需氧菌、兼性厌氧菌等逐渐降低原有状态。

(二) 生物夺氧说

大量研究表明, 一些需氧菌微生物制剂特别是芽孢杆菌能消耗肠道内的氧气, 造成厌氧环境, 有助于厌氧微生物的生长, 从而使失调的菌群平衡调整恢复到正常状态, 达到治病促生长之目的。

(三) 生物拮抗作用

动物微生态制剂中的有益微生物在体内对病原微生物有生物拮抗作用。这些有益微生物可竞争性抑制病原微生物粘附到肠黏膜上皮细胞上, 同病原微生物争夺有限的营养物质和生态位点, 从而不利于病原微生物的生长繁殖。



(四) 增强机体免疫功能

研究表明,乳酸杆菌以某种免疫调节因子的形式起作用,刺激肠道某种局部型免疫反应,提高机体抗体水平或巨噬细胞的活性,增强机体免疫功能。芽孢杆菌能促进肠道相关淋巴组织,使之处于高度反应的“准备状态”,同时使免疫器官发育增快,免疫系统成熟快,T、B淋巴细胞数量增多,使动物体液和细胞免疫水平提高,增强机体抗病能力。

(五) 产生有益代谢产物

1. 乳酸 有益微生物尤其是乳酸菌进入肠道后产生乳酸,芽孢杆菌进入动物肠道能够产生乙酸、丙酸和丁酸等挥发性脂肪酸,降低肠道 pH 值,抑制致病菌的生长,激活酸性蛋白酶活性,对新生畜禽是有益的。

2. 酶类 有益微生物在体内可产生各种消化酶。芽孢杆菌具有很强的蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活性,可降解饲料中某些抗营养因子,提高饲料转化率 8% 以上。

3. 营养物质 有益微生物在肠道内生长繁殖,能产生各种营养物质如维生素、氨基酸、未知促进生长因子等,参与机体的新陈代谢,促进动物生长。

4. 抗菌物质 某些乳酸杆菌、链球菌、芽孢杆菌等,在代谢过程中,可产生一些抗菌物质如嗜酸菌素、乳糖菌素、杆菌肽、伊短菌素等,可抑制肠道病原菌繁殖。

5. 防止产生有害物质 某些有益微生物(如芽孢杆菌)在肠道内可产生氨基氧化酶及分解硫化物的酶类,从而降低血液及粪便中氨、吲哚等有害气体浓度。

以上 5 个方面都是指益生菌的作用机理。益生菌的作用机理在于:低聚糖类作为乳酸菌和双歧菌的特殊营养能够特异性促进益生菌的大量繁殖,同时不被其他肠道微生物和动物自身酶系所消化。

四、动物微生态制剂菌种的质量及管理

(一) 生产菌种的筛选

筛选生产用菌种应根据生产制品的用途、使用范围、使用方式、生产过程和生产条件等。必须考虑菌种的四个主要质量特征:(1) 安全性,菌种使用必须安全,对动物无毒副作用。(2) 有效性,通过动物试验证实其功能性效果。(3) 稳定性,具稳定的生物学、遗传学特征,在使用贮存期间保持稳定和存活状态。(4) 可接受性,适于规模生产,生产工艺和流程简易,使用方法和价格应可接受。

(二) 菌种的保存与管理

生产用菌种应冷冻干燥后,冷冻保存以备用。菌种传代方法包括斜面、液体和半固体穿刺等,菌种在适宜的培养基和温度等条件下培养,生产用菌种可保存于 4℃ 冰箱,有的细菌在室温下保存更适宜。

生产菌种要求长期延续保持原有特性,除良好的保存方法外,还须科学管理方法:菌种必须专人管理,经常定期检查,并建立菌种档案资料,包括来源历史、筛选、鉴定、冻干保存、数量、启开使用等完整的记录。

无论是活菌制剂、死菌制剂、菌体成分或代谢产物,都离不开菌种,都是由菌种扩大培养而得。因此菌种是微生态活菌制剂生产的重要关键,也是微生态制剂质量的保证。

(三) 生产菌种的质量控制

菌种的来源应清楚,应该经过专门机构鉴定认可后方可用于生产。菌种在投产前必须进行生物学、遗传学特征的检验,以确定其稳定性。检验内容包括:(1) 形态及培养特性的检查。(2) 糖发酵和生化反应检查,应符合伯杰氏细菌分类特性描述。(3) 代谢产物的测定,采用液相、气相色谱

等现代分析测定方法。(4) 安全性试验,用较大浓度菌液饲喂动物,应无不良反应,健康存活体重增加。(5) 必要时应作 G+Cmol%测定和其他遗传学特征鉴定。

五、动物微生态制剂的生产工艺

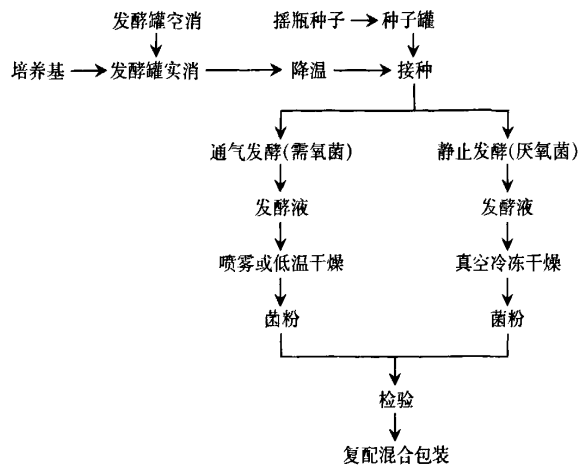
目前,动物微生态活菌制剂的生产工艺主要有两种:固体发酵法和液体发酵法。

(一) 固体发酵法

其是将液体种子与固体培养基(麸皮、玉米面、米糠等)混合均匀,在浅盘或固体发酵罐中进行发酵,然后与适量的载体混合干燥而成。此法操作简单,但产量低,劳动强度大,易受杂菌污染,产品质量不稳定。

(二) 液体发酵法

国内外生产厂家大多采用此法,此法适用于规模化生产,便于无菌操作,但生产成本较高。工艺流程见下图。关键的难题在于:乳酸菌类制剂因为都是厌氧菌,活菌存活率低,由于生产技术、工艺水平所限,在产品贮存、运输和再加工过程中,极易受干燥、高温、高压、氧化等不良环境的影响,造成活菌数下降,导致产品贮存期短、质量不稳定,进而影响了饲喂效果。目前,国内外少数生产厂家研制了乳酸菌的微胶囊包被技术,如瑞士的“赐美健”对粪链球菌进行了四层微胶囊包被;国内宝来利来公司“产酶益生菌”对其中乳酸菌进行了双层微胶囊包被,增强产品耐受干燥、高温、高压、氧化等不良环境影响的能力,延长产品贮存期、确保产品质量和饲喂效果。



注: 1. 芽孢杆菌进行喷雾干燥; 2. 乳酸菌微胶囊包被后进行真空冷冻干燥;

3. 其他菌可选择低温干燥

(三) 低聚糖类的生产

低聚糖类性质和功能相对稳定,机理研究也具有较强的可操作性,因此其生产工艺和产品质量容易控制和保持稳定,因此,其生产相对简便和更符合工业化要求。

1. 合成法 以蔗糖等为原料应用特定的糖基转移酶合成所需要的低聚糖产物;如无锡轻工业大学江波等(“九五”攻关计划)所筛选黑曲霉在生产水平上产果糖转移酶(低聚果糖合成所需)水平达 30U/ml;同期,中国农业科学院饲料研究所筛选的糖转移酶高产专利菌株(CGMCC 0436)出芽短梗霉 FW9901 在摇瓶、3t 罐规模上产酶水平分别达到 440 和 869U/ml 的高水平,使低聚果糖生产成本大大降低(王建华等,1999,2002)。

2. 降解法 以多糖如果聚糖、甘露聚糖、木聚糖、菊糖、壳聚糖等为原料应用糖链内切酶水



解生产所需要的低聚糖产物；中国农业大学李里特小组（2002）、中国农业科学院饲料所石波小组生正从事应用 *Streptomyces olivaceovirdis* E-86 木聚糖酶制备低聚木糖，并取得良好进展；又如中国科学院微生物研究所利用微生物发酵产生的甘露聚糖酶制备甘露聚糖的成果已经在云南产业化（1997）。此外，中国科学院成都生物所、南开大学、华南农业大学、云南大学等近年开展了甘露聚糖酶及其相关内容的研究，取得了不少成果。

3. 提取法 从含有低聚糖产物（如酵母细胞壁分离产物、魔芋、菊芋、菊苣等）的原料中分离纯化提取目标产物；如本文作者王建华小组（2000）已经就酵母细胞分离产物（富含甘露聚糖的细胞壁成分）研制方法申请发明专利（No. 00100411.5），目前该小组正在进行从菊芋、菊苣中提取低聚果糖的研究工作。

六、问题与展望

（一）基础研究方法的问题与解决方案

目前对动物微生态制剂的作用机理了解得还不十分清楚，最大的问题在于研究手段的限制使得微生态制剂的作用机理至今几乎没有得到科学意义上的揭示和认可，因此目前至多停留于饲料用和动物保健用水平上；即使是许多关于动物生产性能的研究结论也不是铁板一块，这并非就一定意味着此类产品效果的不确定性，主要是因为研究手段的限制无法得到准确的研究结果。不建立科学的基础研究方法，动物微生态制剂的作用与机理就难以科学界定，产品研发和应用无法取得突破性进展；国外少数研究机构，已经提出并且建立了如下有前途的基础研究手段：

1. 分子指纹技术、变性梯度凝胶电泳技术（DGGE 技术）和末端限制性片段长度多态性分析技术（T-RELP 技术） 这些技术能够应用于复杂的动物消化道微生物菌群的分类多样性和功能多样性研究。

2. 种属特异性 PCR 引物-PCR 技术 应用该技术通过设计合成一系列特异性引物和相应的 PCR 反应，建立动物消化道微生物菌群的 16SrDNA 分类数据库，能够有效地解决动物消化道微生物菌群和外加益生菌分类上的许多难题和不确定性疑问。

3. 研究用无菌模式动物技术 应用该技术通过严格的纯的微生物接种和无菌模式动物活体培养，能够确认相应的免疫应答响应、作用模式、功能效果，有效地解决动物微生态制剂在动物体内的作用机理方面的许多难题和不确定性疑问。

4. 荧光原位杂交技术（FISH 技术） 应用该技术通过设计合成一系列特异性探针严格度量纯的接种微生物在受体动物消化道的种群动力学特征和消长响应，有效地解决动物微生态制剂各种成员对动物的功能性贡献份额的确认难题和不确定性疑问。

（二）产品应用的问题与解决方案

作用机理处于质疑之中的动物微生态制剂之所以能够在国外作为饲料添加剂广为使用，主要是因为：一是人们遇到了使用抗生素产生的一系列问题；二是人们对发酵乳品的长期使用和其有效性的认同，使得人们对于容易先入为主地接受此类产品；三是国外成熟的发酵乳品生产技术甚至某些产品可以直接廉价借用；在我国，动物微生态制剂处于起步阶段，有些值得注意的问题。①当今微生态制剂产品良莠不齐。许多没有科研实力、没有生产能力的企业基于对益生菌理论的肤浅了解和资金的限制，土法上马生产微生态制剂，无法保证产品质量和使用效果，加大推广难度。②人们对动物微生态制剂的辨别难度大。很多厂家认为活菌数量越多越好，纷纷提高注册数量，误导人们只凭活菌数量评价产品。③片面夸大宣传产品作用导致了人们对此类产品的不信任。④来自药理学领域关于活菌耐药性、动物营养学领域对产品作用机理的质疑，也使人们在使用时投鼠忌器。解决问题

的方案：(1) 通过上节提出的基础性研究方法的建立回答机理疑问。(2) 关于耐药性问题，成都微生物研究所所长陈廷祚教授(1998)认为，如再进行耐药性传递大讨论，势必影响微生态事业发展。日欧美已推广微生态制剂几十年从来没有出现什么问题。建议扎扎实实作耐药性研究，科学地加以利用、推动微生态事业发展。(3) 应用现有各种方法研制性能良好效果稳定的微生态制剂十分重要。(4) 在同样条件下优先选择使用益生菌以避免使用活菌制剂可能产生的疑问。(5) 政府建立有关法规，规范动物微生态产品质量，以保证动物微生态制剂行业健康发展。

(三) 今后主攻方向

1. 大胆创新，研制微生态制剂与中药添加剂复合制剂 动物微生态学应与动物营养学和预防兽医学密切结合，开拓饲料抗生素研制的新思路。动物微生态制剂和中药添加剂在改善机体免疫力、提高抗病能力、促进动物生长等方面的作用都被验证和认可，成为具有发展潜力和竞争力的饲料用替代抗生素。微生态制剂和中药添加剂都是无污染、无残留、效果好的添加剂，两者在原理上具有相似性，包括：天然性、整体调节、扶正祛邪、双向作用、生物偏性等，又都可作为治疗和预防用，同时具备增重、改善生态环境等功效。长期的动物保健和兽医实践证明中药疗法对动物微生态往往具有良好的保护、调节、恢复作用，而有些中药成分必须经过微生物转化后才具有疗效，如果将微生态制剂与中药添加剂联合使用会使效果更显著，已有关于中药微生态复合制剂研制和应用的报道。分子生物学研究表明两者在很大程度上具有相辅相成的作用。

滥用抗生素会破坏动物微生态平衡，造成许多不良反应和耐药性等隐患，而中药一般不会出现这种情况，反而会使因抗生素而导致的微生态失调得到恢复，起到益生菌的作用，其原因就在于中药基源的天然性；微生态是在长期进化中形成的微生物与其宿主之间稳定的相互关系，也具有天然性，因此，中药和微生态制剂替代抗生素作为动物抑菌和促生长剂具有天然、实用、多功能性优势，是解决抗生素破坏生态平衡、抗药性、药残问题的出路。中草药活性成分一般是在经过微生物和机体代谢后才有药效，如糖甙类，甘草被广泛应用于复方制剂，而其有效成分甘草甜素并不是以原形吸收，必须经过肠道菌的作用形成甙元后才被血液利用。同样，大黄和蕃泻叶有效成分番泻叶苷须经微生物代谢才有疗效，因为注射实验和无菌动物实验证明不经过肠道菌的代谢没有效果。

1998年宝来利来公司开始进行动物微生态制剂与中药添加剂联合应用的研究，经三年不懈研究终于在2001年处成功的推出了国内第一个动物微生态制剂与中药添加剂联合应用的复合制剂——肠道卫士。其原理是利用抑菌中药(苦参、板蓝根、黄芩、蒲公英等)抑制或杀灭病原微生物，同时采用不被上述中药抑制的有益菌制成的微生态制剂迅速调整微生态平衡，另外加入能够特异性增殖肠道正常菌群的益生菌可以避免不利因素造成的二次污染，经过山东省兽药监察所新兽药检测中心的临床试验结果证明能够很好的预防和治疗由大肠杆菌和沙门氏菌等引起的肠道疾病。一年来该产品已销售100t，得到用户认可，取得了良好的经济和社会效益。该公司目前正组织专家对动物微生态制剂与中药添加剂的联合应用进行攻关，针对不同用途筛选组方，改进生产工艺，提高产品质量和应用效果。我们坚信动物微生态制剂与中药添加剂的联合应用具有良好发展前景，将为促进我国的食物和饲料安全工程做出贡献。

2. 积极研究性能优越的益生菌产品 为用户在同样条件下能够优先选择使用益生菌提供余地，以避免使用活菌制剂可能产生的问题或疑问。

3. 利用生物技术手段开发出高生产性能的菌种，提高微生态制剂饲喂效果 转基因技术就是利用转基因手段将目的基因(蛋氨酸基因、赖氨酸基因、蛋白酶基因、淀粉酶基因、beta-葡聚糖酶基因、植酸酶基因，甚至是抗原基因等)转到益生菌如芽孢杆菌中，进行高效表达，达到预防疾病、促进生长、促进消化吸收、节省饲料、降低饲料成本之目的。同时也包括各种低聚糖(益生菌)生产相关酶的转基因育种技术。将转基因技术应用到微生态制剂的生产中是该行业未来的发展



方向，其应用的成功与否将决定动物微生态制剂行业在中国还能走多远，左右着该行业的兴亡。

作者简介：

王建华，1961年生，理学博士（食品微生物），博士后（食品安全与生物技术），副研究员，硕士生导师，室主任；主持“十五”、“863”计划（新型安全饲料添加剂研制与开发2001AA246041），“948”计划（2001-244），国家自然科学基金（39970549），农业科技成果转化基金课题（02EFN216900723）等。申请发明专利8项。

地址：北京中关村南大街12号；Tel：010 - 62145735；E - mail：wangjianhua@mail.caas.net.cn

鱼类胚胎干细胞技术研究进展及应用前景展望

陈 松 林

（中国水产科学研究院黄海水产研究所，青岛 266071）

一、前言

胚胎干细胞（ES细胞）是从动物早期发育胚胎内细胞团或原始生殖细胞分离得到的一种未分化的永久性细胞系。这种细胞一方面保留了所有的发育潜力，在适合条件下，能够分化成多种类型的细胞和组织，将ES细胞移植到动物囊胚后，它可以参与宿主胚胎各种组织的构成，形成嵌合体，直至达到种系嵌合，遗传给后代；另一方面，人们可以对ES细胞的基因组进行各种遗传操作，包括随机引入外源基因到ES细胞基因组中，或通过同源重组，定点引入外源基因到ES细胞基因组中或破坏基因组中某一特定的靶基因；通过细胞移植或核移植技术生产嵌合体或转基因动物又可以将细胞水平的定点突变转变为个体水平的定点突变。因而ES细胞成为研究动物早期胚胎发生、细胞组织分化、基因功能和表达调节等发育生物学基础研究的一个非常理想的工具，也是进行动物组织工程、人类疾病防治和制作定点突变转基因动物或缺基因动物的重要手段。鉴于ES细胞的上述特点及其在遗传育种和发育生物学研究中所具有的重要意义，早在20世纪80年代初，ES细胞的研究就引起人们的高度重视。各国学者都相继开展动物ES细胞的分离、培养、克隆及移植的研究。迄今已在小鼠和其他一些动物及人ES细胞研究上取得长足进展。ES细胞分离的最早的成功报道是在小鼠上取得的。Evans和Kaufman（1981）及Martin（1981）分别建立了小鼠ES细胞系，这一开创性成果成为胚胎干细胞研究领域的里程碑。随后，ES细胞培养的研究在哺乳动物上蓬勃开展起来。除小鼠外，迄今已在大鼠、猪、牛、羊、兔等动物上建立了ES样细胞系（Iannaccone et al., 1994; Wheeler, 1994; Gibelliet al., 1998; Meinecke - Tillman et al., 1992; Ravet et al., 1992; Thomson et al., 1995, 1998）。

基因打靶（Gene targeting），也称作同源重组（Homologous recombination），是指细胞内部具有相似核苷酸顺序的DNA片段之间发生的交换。同源重组是自然界中存在的一种罕见现象。同源重组的结果导致生物体发生基因突变。利用这一原理，人们于20世纪80年代中期开始进行基因的

作者：[王建华](#)，[李桂杰](#)

作者单位：[王建华\(中国农业科学院饲料研究所, 北京, 100081\)](#)，[李桂杰\(山东宝来利来生物工程股份有限公司, 泰安, 271000\)](#)

本文读者也读过(5条)

1. [徐亚平](#). [郭鹏](#) [微生态制剂的作用机理及应用](#)[会议论文]-2008
2. [徐亚平](#). [郭鹏](#) [微生物饲料添加剂应用研究\(十四\)微生态制剂的作用机理](#)[期刊论文]-[饲料与畜牧](#)2007(11)
3. [杨长庚](#). [朱馨蕾](#) [动物微生态制剂的研究进展及存在问题](#)[期刊论文]-[山东畜牧兽医](#)2008, 29(8)
4. [金燕飞](#) [以豆粕为原料发酵纳豆菌制取饲料微生态制剂](#)[会议论文]-2005
5. [张华琦](#). [杨正德](#) [安全饲料添加剂研究进展](#)[期刊论文]-[江西饲料](#)2006(1)

本文链接：http://d.g.wanfangdata.com.cn/Conference_6277004.aspx