بسم الله الرحمن الرحيم

١٤٠٨

دانشگاه پیام نور — کتابخانه مرکزی
بخش فنی و پردازش
QH
۱۰۷
۸۴۶۱۹

دانشگاه پیام نور

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در

رشته زیست شناسی علوم گیاهی

عنوان پایان نامه

جداسازی، کلونینگ و بیان ژن اکسیدوردوکتازدر یک سویه از باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس E.Coli در میزبان

۱۳۸۷ /۲/ ۱۱۱۱

نام مولف

الهام آقائی مقدم

اساتید راهنما

دکتر جمشید راهب دکتر غلامرضا بخشی خانیکی

استاد مشاور

دکتر مه لقا قربانلی

۱۳۸۷ /۲/ ۱۱۱۱

ماه و سال انتشار

اردیبهشت 1384

۱۰۷۰۱۵

تصویب نامه

پایان نامه تحت عنوان:

کلونینگ و تاثیر بیان انبوه اکسید وردوکتاز در فرآیند سولفورزدایی بیولوژیک

تاریخ دفاع: ۸٤/۲/۱۱ **نمره:** ۱۹/۶۵ **درجه ارزشیابی:**

اعضای هیات داوران:

نام ونام خانوادگی هیات داوران	مرتبه علمی	امضا
آقای دکتر جمشید راهب	استاد راهنما	
آقای دکتر بخشی خانیکی	استاد راهنمای همکار	
خانم دکتر قربانلی	استاد مشاور	
آقای دکترمیرجلیلی	داور خارجی	
آقای دکتر حاجی حسینی	داور داخلی	
آقای دکتر محسنی	نماینده محترم گروه	

تشکر و قدردانی

با حمد و سپاس به درگاه قادر متعال، که توان انجام این پژوهش را از الطاف بیکران او می دانم، وظیفه خود می دانم تا از استادان بزرگوار، جناب آقای دکتر جمشید راهب (استاد راهنمای اول) و جناب آقای دکتر غلامرضا بخشی خانیکی (استاد راهنمای همکار) و سرکار خانم دکتر مه لقا قربانلی (استاد مشاور) که با محبت و صمیمیت بسیار مرا پذیرفتند و در تمام طول پژوهش، از راهنمایی های بی دریغ و ارزنده خود بهره مند ساختند، صمیمانه تشکروسپاسگزاری کنم.

از همکاران و دوستان آزمایشگاهی خود در پژوهشگاه مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی، جناب آقای دکتر علی اصغر کارخانه، سرکارخانم دکتر سودابه اکبرزاده، سرکار خانم شمیم نقدی، سرکار خانم ساحل محقق، سرکار خانم فهیمه قاسمی، سرکار خانم احترام السادات میرقاسمی و دیگر دوستانی که با قبول زحمت بسیار، همواره مشگل گشای من بوده اند بسیار متشکرم و هیچگاه الطاف آنها را فراموش نخواهم کرد.

تقدیم به پدر و مادرمهربانم
که در لحظه های سخت زندگی
آبشار پرمحبت نگاهشان و دستان
سبز دعایشان، دریچه ای به سوی
نور به روی من گشوده است.

تقدیم به یگانه برادر عزیزم

دکتر احسان آقائی مقدم

با آرزوی موفقیت روز افزونش به

سوی قله های تابناک علم و سعادت.

فهرست **صفحات**

چکیده فارسی ۱

چکیده انگلیسی ۲

فصل اول (مقدمه)

۱-۱- مقدمه ۴

۱-۲- مقدمه ای بر بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک ۵

۱-۳- اصول بیوتکنولوژی مولکولی ۶

۱-۴- توسعه و تکامل بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک ۸

۱-۵-۱- کلون سازی ۸

۱-۵-۲- تکنولوژی DNA نوترکیب ۸

۱-۵-۳- حامل کلون سازی ۸

۱-۵-۴- حامل های بیان کننده ۹

۱-۵-۵- اتصالات ژنی و اتصالات پروتئینی ۱۰

۱-۵-۶- جداسازی آسانتر محصولات ژنهای خاص ۱۰

۱-۵-۷- تولید و هدایت یک پروتئین به بخش خاصی از سلول ۱۱

۱-۵-۸- کاربرد درمانی پروتئین های متصل شده ۱۱

۱-۶- نفت خام استخراج شده ۱۱

۱-۷- مقدار گوگرد موجود در ترکیبات نفتی ۱۱

۱-۸- مشکلاتی که ترکیبات گوگردی در مواد نفتی ایجاد می کند ۱۲

۱-۹- ترکیبات گوگردی که در نفت خام موجود است ۱۲

۱-۱۰- مدیریت صنایع گوگرد ۱۳

۱-۱۱-راه حل های متداول ۱۳

۱-۱۲-پالایش مشتقات نفت توسط میکروارگانیسم ۱۴

۱-۱۳- ابزارهای جدید تکنولوژی ۱۵

۱-۱۴- روش هایی که جهت حذف ترکیبات گوگردی از نفت خام به کار می رود ۱۵

۱-۱۵- هیدرودسولفوریزاسیون (HDS) ۱۵

ابزارهای جدید تکنولوژی ۱۵

روش هایی که جهت حذف ترکیبات گوگردی از نفت خام به کار می رود ۱۵

هیدرودسولفوریزاسیون (HDS) ۱۵

۱-۱۶- بیوتکنولوژی راهی در جهت گوگردزدایی از نفت خام ۱۶

۱-۱۷- بیودسولفوریزاسیون (BDS) ۱۶

۱-۱۸- تکنولوژی جدید DNA ۱۷

۱-۱۹- باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 ۲۰

۱-۲۰- ژنهای اولیه موثر در متابولیسم DBT ۲۳

۱-۲۱- مسیر 4S ۲۳

۱-۲۲- پروتئین DszC ۲۵

۱-۲۳- پروتئین های DszA , DszB ۲۵

۱-۲۴-پروتئین DszD ۲۷

۱-۲۵- جهت کارهای تجارتی آنزیم های بهتری مورد نیاز می باشند ۲۸

۱-۲۶- بیوکاتالیست های اصلاح شده ژنتیکی ۲۸

۱-۲۷- مزیت سویه های رودوکوکوس که مهندسی شده اند ۳۰

۱-۲۸- توسعه پروسس ها ۳۰

۱-۲۹- طرحهای ذهنی (B.D.S) ۳۲

۱-۳۰-شرایط شیمیایی برای طراحی راکتور ۳۳

۱-۳۱- شرایط بیولوژیک برای طراحی راکتور ۳۳

۱-۳۲-باکتریهای رودوکوکوس مولکولهای آب دوست را متابولیزه ۳۴
می کنند

۱-۳۳- آنزیم ها ۳۶

۱-۳۴- آنزیمها را بر اساس نوع و مکانیسم واکنش طبقه بندی ۳۶
می کنند

۱-۳۵- نام گذاری و طبقه بندی آنزیم ها ۳۶

۱-۳۶- بسیاری از آنزیم ها به کوآنزیم نیاز دارند ۳۷

۱-۳۷-کوآنزیم ها را می توان بر اساس گروهی که انتقالش را تسهیل می کنند طبقه بندی کرد ۳۷

۱-۳۸- بسیاری از کوآنزیم ها از مشتقات ویتامین های B و آدنوزین منوفسفات هستند ۳۸

۱-۳۹- آنزیم ها یک واکنش یا نوع خاصی از واکنش را کاتالیز می کنند ۳۹

۱-۴۰-فعالیت کاتالیزوری هر آنزیم، شناسایی آن را تسهیل می کند ۴۰

۱-۴۱- دهیدروژنازهای وابسته به NAD^+ را در نور طول موج ۳۴۰ nm می سنجند ۴۰

۱-۴۲- اکسیداسیون- احیاء ۴۱

۱-۴۳-اکسیدازها از اکسیژن به عنوان پذیرنده اکسیژن استفاده می کنند ۴۱

۱-۴۴- دهیدروژنازها نمی توانند از اکسیژن به عنوان پذیرنده هیدروژن استفاده کنند ۴۲

فصل دوم (مواد و روشها)

۲-۱- مواد ۴۵
۲-۱-۱- مواد شیمیایی ۴۵
۲-۱-۲- آنتی بیوتیکها ۴۵
۲-۱-۳- باکتری ها ۴۶
۲-۱-۴- پلاسمیدها ۴۶
۲-۱-۵- آنزیم ها ۴۷
۲-۱-۶- مارکرها ۴۷
۲-۱-۷- کیت های آزمایشگاهی ۴۷
۲-۱-۸- آغازگرها (پرایمرها) ۴۷
۲-۱-۹- محلول ها ۴۸
۲-۱-۹-۲- محلول TAE 1X ۴۸
۲-۱-۹-۳- محلول اتیدیومربروماید ۴۸
۲-۱-۹-۴- بافر لودینگ ۴۸
۲-۱-۹-۵- بافر PCR ۴۸
۲-۱-۹-۶- محیط (BSM) ۴۹

۲-۱-۹-۷- محلولهای لازم جهت استخراج DNA ژنومی ۴۹
۲-۱-۹-۷-۱- بافر لیز کننده ۴۹
۲-۱-۹-۷-۲-٪ SDS ۵۰
۲-۱-۹-۷-۳- فنل اشباع ۵۰
۲-۱-۹-۷-۴- فنل / کلروفرم ۵۰
۲-۱-۹-۷-۵- فنل / کلروفرم / ایزوآمیل الکل ۵۰
۲-۱-۹-۷-۶- استات سدیم 3M , pH=406 ۵۰
۲-۱-۹-۷-۷- Tris-EDTA (TE) ۵۱
۲-۱-۹-۸- محلولهای لازم جهت استخراج پلاسمید به روش Large Scale ۵۱
۲-۱-۹-۹- محلولهای لازم جهت استخراج پلاسمید به روش (مقیاس کوچک) ۵۲
۲-۱-۹-۱۰- محلولهای لازم جهت تست گیبس ساده و استاندارد ۵۳
۲-۱-۹-۱۰-۱- محلول ۱۰٪ DBT ۵۳
۲-۱-۹-۱۰-۲- محلول 2HBP 10mM ۵۳
۲-۱-۹-۱۰-۴- معرف گیبس ۵۳
۲-۱-۹-۱۱- محلولهای لازم جهت انجام کلونینگ ۵۳
۲-۱-۹-۱۱-۱- IPTG و 0/1 M ۵۳

۲-۱-۹-۱۱-۲- 20mg/ml , XGal ۵۳

۲-۱-۹-۱۱-۳- تهیه پلیت جامد حاوی LB-Amp ۵۴

۲-۱-۹-۱۱-۴- تهیه پلیت X-Gal و LB, Amp, IpTG ۵۴

۲-۱-۹-۱۲- محیط های کشت باکتری ۵۴

۲-۱-۹-۱۲-۱- محیط کشت مایع LB ۵۴

۲-۱-۹-۱۲-۲- محیط کشت جامد LB Agar ۵۵

۲-۱-۹-۱۲-۳- نگهداری باکتریها ۵۵

۲-۲- روش ها ۵۵

۲-۲-۱- کشت باکتری ۵۵

۲-۲-۲- استخراج DNA ژنومی ۵۵

۲-۲-۳- استخراج DNA پلاسمیدی ۵۶

۲-۲-۳-۱- استخراج DNA پلاسمیدی با روش شکستن قلیایی ۵۶

۲-۲-۳-۲- استخراج پلاسمید به روش Large Scale ۵۷

۲-۲-۳-۴- استخراج DNA پلاسمیدی با استفاده از کیت ۵۷

۲-۲-۴- تعیین غلظت DNA و خلوص آن ۵۸

۲-۲-۶- واکنش برش آنزیمی ۵۹

۲-۲-۶-۱- غیر فعال کردن آنزیم ۵۹

۲-۲-۶-۲- الکتروفورز DNA ۵۹

۲-۲-۶-۳- الکتروفورز ژل آگارز ۶۰
۲-۲-۷- رنگ آمیزی آگارز با اتیدیوم بروماید ۶۰
۲-۲-۷-۱- بازیافت DNA از روی ژل ۶۰
۲-۲-۸- تکثیر اختصاصی مولکول DNA ۶۱
۲-۲-۸-۱- واکنش های زنجیری پلی مراز (PCR) ۶۱
۲-۲-۸-۲- مواد و مراحل انجام واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) ۶۲
۱-۲-۷-۲-۲- DNA الگو ۶۲
۲-۲-۸-۳- طراحی پرایمر ۶۲
۲-۲-۸-۴- داکسی نوکلئوتید سه فسفاته (dNTP) ۶۲
۲-۲-۸-۵- کلرید منیزیم ($MgCl_2$) ۶۲
۲-۲-۸-۶- آنزیم Taq DNA polymerase ۶۳
۲-۲-۸-۷- دمای جفت شدن پرایمرها ۶۳
۲-۲-۸-۸- بافر PCR ۶۳
۲-۲-۸-۹- مراحل PCR ۶۳
۲-۲-۹-۹- اتصال قطعات DNA (DNA ligation) ۶۴
۲-۲-۸-۱۰- غیر فعال کردن آنزیم T_4 DNA ligase ۶۵
۲-۲-۸-۱۱- خالص سازی محصول PCR با کیت ۶۵

۲-۲-۹-تهیه باکتری های مستعد برای پذیرش DNA پلاسمیدهای خارجی ۶۵

۲-۲-۹-۱- سلول مستعد تازه ۶۶

۲-۲-۹-۲- سلول مستعد منجمد شده ۶۶

۲-۲-۱۰- کلونینگ ۶۷

۲-۲-۱۰-۱- مرحله ligation ۶۷

۲-۲-۱۰-۲- مرحله ترانسفورمیشن ۶۷

۲-۲-۱۰-۳- غربال گیری یا Screening ۶۷

۲-۲-۱۰-۴- تأیید صحت کلونینگ با استفاده از برش های آنزیمی (Mapping) ۶۸

۲-۲-۱۰-۵- سکانسینگ ۶۸

فصل سوم (نتایج)

۳- نتایج ۷۰

فصل چهارم (بحث و پیشنهاد)

۴- بحث ۸۹

فصل پنجم (رفرانس)

۵- رفرانس ۹۰

چکیده:

یکی از محدودیت های فرایندبالایش و مصرف مواد نفتی مشکلات ناشی از وجود ترکیبات گوگردی در آنها است روشهای سنتی حذف ترکیبات کوکردی به علت مشکلات عملیاتی از کارایی مناسب برخوردار نیستند. برای حل این مشکلات حذف میکروبی کوکرد پیشنهاد شده است. مطالعات زیادی در این رابطه انجام شده و باکتری های مختلف از طبیعت جدا شده اند. از آنجاکه کارآیی این باکتری ها محدود است توجه محققین به افزایش کارآیی آنها از طریق دستکاریهای ژنتیکی معطوف شده است. اولین کام در انجام چنین دستکاریهایی بررسی ژنتیک فرآیند حذف کوگرد به خصوص در باکتری های بومی و سپس کلون کردن ژنهای مؤثر در این فرآیند است. در این رابطه چند سویه باکتری که در ایران جدا سازی شده اند و مورد بررسی قرار گرفتند. این سویه ها توسط مرکز تحقیقات مهندسی بیوشیمی دانشگاه صنعتی شریف و پژوهشکده بیوتکنولوژی سازمان پژوهش های علمی و صنعتی جدا سازی شده اند از آنها DNA کروموزومی استخراج و از نظر ژنهای کوگردزدایی با استفاده از فنون هیبریداسیون PCR و DNA ، مورد بررسی قرارگرفتند. آزمایش‌ها نشان داد که فقط یک سویه حاوی ژنهای اپرون SoX است این سویه رودوکوکوس اریتروپولیس FMF نامگذاری شد و سپس ژنهای جداشده سولفور زدایی را در سودوموناس آئروجینوزا کلون شد.

اپرون SoX اولین بار دردنیا در باکتری رودوکوکوس IGTS8 شناسایی و نشان داده شد که این ژنها مسئول حذف گوگرد از طریق مسیر بیوشیمیایی 4S هستند.

استفاده از سوخت های فسیلی منجر به آزاد سازی SO2 و به دنبال آن آلودگی محیط زیست می شود. سولفور زدایی بیولوژیک ، روش انتخابی جهت حذف ترکیبات گوگردی از سوخت های فسیلی می باشد. سه ژن dsz,A,B,C که ژنهای کدکننده مسیر 4S در سولفور زدایی بیولوژیک هستند در باکتری تازه جدا شدهٔ رودوکوکوس FMF شناسایی شد. توالی DNA ، 4 کیلوبازی حامل ژنهای مذکور برای مسیر 4S هستند .

ژن dszD تولید کننده آنزیم اکسیدوردوکتاز جهت مسیر سولفورزدایی 4S می باشد، از یک باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس شناسایی، جدا سازی شد، که جهت افزایش سولفورزدایی بیولوژیک در مقیاس بالا اهمیت دارد. در این تحقیق اقدام به شناسایی، جدا سازی و کلونینگ ژن dszD از یک سویه باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس شد که با انجام همولوژیها و استفاده از نرم افزار DNA استار ، این نتیجه حاصل شد که درصد بالایی همولوژی با ژن اکسیدوردوکتاز باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 نشان می دهد.

در این پروژه هدف کلونینگ این ژن و بیان انبوه آن به همراه ژنهای سولفورزدایی به منظور افزایش فعالیت سولفورزدایی می باشد.

Abstract :

Identification and cloning of Oxidoredoctase gene from Rhodococcus erythropolis in E.Coli

The combustion of fossil fuels leads to release of sulfur oxide (SO_2) and therefore is a source of environmental pollution. Biodesulfurization could be an alternative to remove sulfur compounds from fossil fuels. Previously three genes (dszA, B and C) encoding the 4S pathway in Biodesulfurization were identified from a newly isolated Rhodococcus, IGTS8. The DNA sequence of a 4kb gene cluster that carries the above genes for this pathway was determined.

The three genes encoding the 4S pathway were cloned under control of the promoter in P.aerogimusa ATCC 9027, and biodesulfurization of DBT in recombinal strain enhanced compared to the native bacteria R.IGTS8 . The previous studies which has been purified from the IGTS8 strain needs reducing equivalents to support the three oxigenation steps.

DszD which has been purified from the IGTS8 stain was postulated to be the FMN-NADH reductase the supplies the monooxygenases dszD and dszA with the necessary free reduced flavin (FMNH2). The dszD oxidureductase is encoded by the dszD gene in 4S pathway. Isolation, cloning and overexpression of the dszD gene is important to increase the biodesulfurization in vivo.

In this project, Identification, isolationcloning and expression of dszD gene from Rhodococcus erythropolis in E.Coli will be investigated.

فصل اول
مقدمه

۱- ۱ - مقدمه :

با توجه به مشکلاتی که در چند دهه اخیر از یکسو نسبت به کاهش ذخائر سوخت های فسیلی و افت آنها در دنیا به وجود آمده از سوی دیگر با پیچیده تر شدن واحدهای پالایشگاهی برای تطبیق و رعایت مقررات خاص حفظ محیط زیست و افزایش هزینه تمام شده انرژی مورد نیاز، لازم گردیده تا کشورهای پیشرفته در صدد برآیند با روشهای ساده و کم هزینه تر از فشار حاصل بر محیط زیست بکاهند. یکی از موفقترین روشها، استفاده از ترشحات سلول های زنده (آنزیم) می باشد و در این رابطه محقیقین و دانشمندان از حدود ۵۰ سال قبل سعی برآن داشته اند که جدا سازی گوگرد را از طریق روشهای بیوشیمی و میکروارگانیزم ها انجام دهند که خوشبختانه در این راه موفقیتهائی به دست آورده اند به طوری که واحدهای تجاری آن، در آینده نزدیکی نصب و مورد بهره برداری قرار خواهند گرفت و با اجرای این پروژه، کیفیت ساختاری مواد نفتی ارتقاء میابد.

گوگرد موجود در ترکیبات نفتی باید حذف گردد. راه حل موجود سولفورزدایی به طریق شیمیایی (Hydrodesulfrization HDS) می باشد. در این روش گوگرد آلی تحت فشار و حرارت بالا در حضور کاتالیست های فلزی احیا شده و ایجاد گاز (H_2S) می گردد. ضمناً روش سولفورزدایی (HDS) هزینه بالایی در بردارد. بنابراین روش HDS یک روش مطلوب نبوده ولی با این حال بطور گسترده ای در صنایع نفتی در جهان استفاده می شود{۱۱}.
برای حل این مشکلات حذف بیولوژیک گوگرد پیشنهاد شده است. یکی از این روشها، روش حل میکروبی گوگرد (Microbial Desulfurization MDS) می باشد. باکتری های زیادی شناسایی شده اند که با استفاده از مسیرهای هوازی و بی‌هوازی اقدام به حذف گوگرد از ترکیبات نفتی مشاهده نمی شود. بنابراین گزارشات اندکی در استفاده از این طریق وجود دارد. اما در فرآیند هوازی باکتریهای زیادی شناسایی شده اند که به طور انتخابی دی بنزوتیوفن (DBT) یا ترکیبات دیگر را سولفورزدایی می کنند. در حالی که بیشتر باکتری ها با استفاده از ترکیبات نفتی به عنوان منبع کربن و گوگرد کیفیت سوخت را پائین می آورند. فرآیند ایده آل آن است که در آن حذف گوگرد بدون آسیب دیدن اسکلت کربنی صورت گیرد.

انواع مختلفی از ترکیبات آلی حلقوی حاوی گوگرد و در سوخت های فسیلی وجود دارد اما دی بنزوتیوفن (DBT) که یک ترکیب آلی گوگردار است از طرف محققین به عنوان مولکول شاخص در مطالعات حذف میکروبی گوگرد مورد استفاده قرار می گیرد.

شاخص ترین گونه باکتری که مطالعات ژنتیکی و بیوشیمیایی روی آن انجام شده است رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 نام دارد. بررسی حذف اختصاصی گوگرد توسط این باکتری پیشرفت های زیادی داشته است به طوری که مدت زمان استفاده از دی بنزوتیوفن و تبدیل آن به 2HBP از سال ۱۹۹۰ تا ۱۹۹۷ به میزان قابل توجهی کاهش یافته است. سویه R.IGTS8 با استفاده از مسیر 4S قادر به جداسازی گوگرد از دی بنزوتیوفن طی یک فرآیند چهار مرحله ای و نهایتاً تولید 2HBP است.

در این فرآیند دو آنزیم منواکسیژناز به نام های DSZA,DSZC و یک آنزیم رد سولفیناز بـه نـام DSZB شـرکت دارند. DSZA باعث تبدیل مرحله ای دی بنزوتیوفن سولفینات مـی گـردد. ایـن آنـزیم بـا اسـتفاده از FMNH2 دارای فعالیتی حدود ۵ تا ۱۰ برابر بیشتر از DSZC می باشد. DSZB با استفاده از اتصال نوکلئوفیلی مولکـول هـای آب روی اتم گوگرد سولفیات باعث تشکیل 2-HBP می گردد.

در طرح قبلی موفق شدیم که سه ژن کد کننده آنزیم های مسیر 4S را در سـودوموناس آئروجینـوزا کلـون کـرده و صنعت سولفورزدایی را در این باکتری بررسی نماییم.

با شناسایی ژن کننده آنزیم اکسیدورودوکتاز، که یکی از اساسی ترین کاتالیزورهای واسطه ای مسـیر گـوگرد زدایـی 4S در باکتری ها می باشد، راه را در طرحهایی بعدی و بیان انبوه این ژن به موازات ژن های مسیر سـولفورزدایی 4S در باکتریهای میزان سولفورزدایی را می توان بالاتر برد. از آنجائی که آزمایش هـای invitro نشـان داده اسـت کـه افـزایش NADH,FMNH2 باعث افزایش قدرت سولفورزدایی در باکتری های سولفورزدا کننده می شود، لزوم کلونینگ و بیان این ژن جهت افزایش سولفورزدایی قابل درک است. در این طرح هدف جداسازی و کلونینگ ژن اکسیدوردوکتاز از یک سویه باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس و بررسی بیان بیوشیمیایی این ژن می باشد.

1 – 2– مقدمه ای بر بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک

بیوتکنولوژی مولکولی در اواخر دهه ۱۹۷۰ به عنوان رشته تحقیقاتی جدیدی از ترکیب تکنولوژی DNA نوترکیب Recombinant میکروبیولوژی صنعتی Industrial microbiology بوجود آمد. در اوایل دهه ۱۹۷۰ بیوتکنولوژی به خوبی شناخته شده بود و تحقیق در این زمینه بطور محدود در آزمایشگاههای مهندسی شیمی و در زمینه میکروبیولوژی متمرکز می شد. در این دوره بیوتکنولوژی به تولید محصولات تجاری بوسیله فرآیندهای متابولیکی میکروارگانیسمها توجه داشت. بیوتکنولوژی عبارت از هر تکنیکی است که به منظور ساخت یا اصلاح محصولات، بهبود گیاهان، جانوران و میکروارگانیسمها جهت مصارف ویژه از موجودات زنده (یا بخشی از موجودات) استفاده می شود.

بیوتکنولوژی ممکن است به این شکل تعریف شود : «کاربرد مفاهیم علمی و مهندسی، برای پردازش و تولید مواد مورد نیاز با استفاده از عوامل بیولوژیکی» (۷) . از لحاظ تاریخی، تاریخ بیولوژیکی به زمانی برمی گردد که برای اولین بار فهمیده شد که مخمر تخمیر آب جو و باکتری سبب تولید ماست می شود.

واژه بیوتکنولوژی اولین بار بوسیله Hungarian و Karl Ereky در سال ۱۹۷۱ بکار برده شد. برمبنای تعریف Ereky ، بیوتکنولوژی، راهی برای رسیدن به محصولات از مواد اولیه به کمک موجودات زنده می باشد.

همچنین می توان گفت که بیولوژیکی استفاده از موجودات و یا محصولات آنها به منظور اصلاح وضعیت سلامت و محیط زیست انسان می باشد.

بیوتکنولوژی مدرن براساس تکنولوژی DNA نوترکیب پایه ریزی شده و به چهار حوزه بیوتکنولوژی کشاورزی، دارویی، محیطی و صنعتی تقسیم می شود.