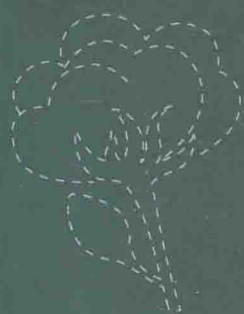




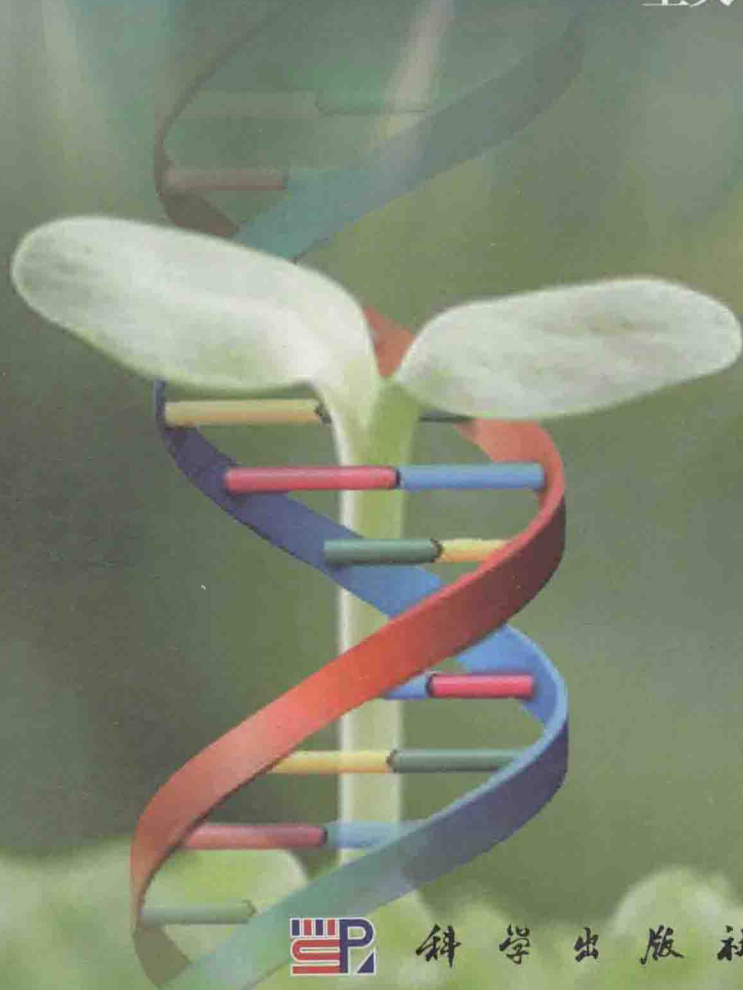
普通高等教育“十一五”国家级规划教材  
普通高等教育“十二五”规划教材



# PLANT GENETIC ENGINEERING

## 植物基因工程 (第二版)

王关林 方宏筠 主编



科学出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

普通高等教育“十二五”规划教材

# 植物基因工程

(第二版)

王关林 方宏筠 主编



科学出版社

北京

## 内 容 简 介

本书是融汇了近代植物基因工程新理论、新技术及新成果编写而成的系统论述植物基因工程原理与技术的“十二五”高等院校统编教材。本书对第一版进行了较大的改动,共设八篇 46 章,新增了“植物基因变异分子生物学”、“植物质体基因转化系统”及“外源基因在转基因植物中的表达调控”等共 20 余章,最后还增加了第八篇生物信息学与植物基因工程,新增内容为全书的三分之二以上。同时,本书引入了许多最新的图表及近三年的新文献,力求图文并茂,内容丰富,既具有较高的专业水平,又深入浅出,使本书具有多种功能。

本书既是植物基因工程领域研究人员的参考书,又是高等院校生物技术相关专业本科生及研究生的教材,教师可以根据教学大纲需要从中选择适合的内容灵活使用。同时,本书也是学生拓宽知识、激发专业兴趣、启蒙创新的深入阅读资料。

### 图书在版编目(CIP)数据

植物基因工程/王关林,方宏筠主编. —2 版. —北京:科学出版社,2014  
普通高等教育“十一五”国家级规划教材·普通高等教育“十二五”规划教材

ISBN 978-7-03-041090-0

I. ①植… II. ①王… ②方… III. ①植物-基因工程-高等学校-教材  
IV. ①Q943.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 129192 号

责任编辑:席慧丛 楠 田明霞 / 责任校对:李影

责任印制:阎磊 / 封面设计:迷底书装

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2009 年 7 月第 一 版 开本:A4 (890×1240)

2014 年 7 月第 二 版 印张:28 3/4

2014 年 7 月第一次印刷 字数:920 000

定价:78.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

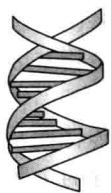
## 《植物基因工程》(第二版)编委会名单

主 编 王关林 方宏筠

副主编 朱延明 王傲雪 那 杰 刘昱辉 胡银岗 张 明

编写人员(按姓氏汉语拼音排序)

|      |                  |
|------|------------------|
| 才 华  | 东北农业大学           |
| 陈秀玲  | 东北农业大学           |
| 杜 娟  | 北京大学             |
| 端木慧子 | 东北农业大学           |
| 方宏筠  | 辽宁师范大学           |
| 何俊娜  | 中国农业大学           |
| 胡银岗  | 西北农林科技大学         |
| 胡鸢雷  | 北京大学             |
| 纪 巍  | 东北农业大学           |
| 李大力  | 南京理工大学           |
| 刘昱辉  | 中国农业科学院          |
| 罗红梅  | 中国医学科学院          |
| 闵东红  | 西北农林科技大学         |
| 那 杰  | 辽宁师范大学           |
| 石若夫  | 南京理工大学           |
| 孙晓丽  | 东北农业大学           |
| 王傲雪  | 东北农业大学           |
| 王关林  | 辽宁师范大学           |
| 王小芳  | 清华大学             |
| 王旭静  | 中国农业科学院          |
| 夏 然  | 中国科学院遗传与发育生物学研究所 |
| 夏秀英  | 大连理工大学           |
| 张 明  | 吉林省农业科学院         |
| 周卫东  | 北京鼎国生物技术公司       |
| 朱延明  | 东北农业大学           |



## 前 言

全球生物技术的快速发展使生命科学进入了大科学、大数据时代,其影响力远超人们想象。生物科技创新成果层出不穷,产业大军厉兵秣马,无不预示着生物产业春天已然来临。生物医药、生物农业及生物产品制造“三足鼎立”的格局基本形成。基因工程是生物大时代的开拓者,其中植物基因工程与农业发展、人民生活息息相关,从而得到了高度重视,产业化的进程急速递增。1996年至2012年的17年间,全球种植以抗病虫、抗除草剂性状为主的转基因作物面积从170万 $\text{hm}^2$ 增长到1.7亿 $\text{hm}^2$ ,增长了近100倍,创造了一千亿美元价值,相当于节约了16.3亿亩耕地;减少了4.73亿 $\text{kg}$ 化学农药的使用,业绩举世瞩目。这一崭露头角的新兴产业方兴未艾,解决全球粮食危机寄希望于植物基因工程的未来。植物基因工程与历史上其他的重大农业技术相比,如化学革命从有机肥到无机肥的推广用了半个多世纪,可见转基因发展之快。在生命科学家眼中,植物基因工程是一项给人类带来福祉的伟大技术,也是将为农业谱写文明新篇章的技术。直至今日,联合国粮食及农业组织对30年前获得第一株转基因植物的三位科学家(有的科学家已去世)授予了崇高“世界粮食奖”,奖励他们对世界农业的巨大贡献,这也是首次对转基因作物的高度肯定。农业生物科技新时代已经来临,全球农业生物育种和产业化发展已进入战略机遇期。

我国已开展20多年转基因技术研究,拥有重要基因的自主知识产权和核心技术,在棉花、水稻、玉米等作物转基因应用研究方面,已形成优势与特色,达到国际先进水平。我国种植的棉花中80%是转基因抗虫棉,减少了约80%的农药使用量。我国对植物基因工程高度重视,2008年投巨资启动了“十一五”和“十二五”植物基因工程育种专项,已对7种转基因植物发放了商品化生产许可,有力地推动了我国植物基因工程产业的发展。

科技发展,人才为本。早在1993年,本书编者、国务院特殊津贴专家王关林教授在美国从事植物基因工程研究时就致力于编写植物基因工程专著,旨在加快我国人才培养。于1998年他编著了第一部专著《植物基因工程原理与技术》,2002年又改编出版了《植物基因工程》第二版并多次重印。在此基础上,2008年根据我国教育部的教材建设规划要求,由专家组评审,教育部审批,王关林教授又承担了编写我国普通高等教育“十一五”国家级规划教材《植物基因工程》的专项任务。该书是我国植物基因工程领域内的第一本高等院校统编教材,于2009年由科学出版社出版后,被中国科学院研究生院及多所大学遴选为本科高年级学生和研究生的教科书,使用五年以来多次得到好评。为紧跟生物科技大时代的发展,导入近期植物基因工程的创新成果,在第一版的基础上,编者汇集近代的新理论、新技术及其产业化进展,编写了系统论述植物基因工程基础理论及其原理与技术,教学科研两用的新作——《植物基因工程》第二版,以克服两者脱节的弊病,提高本书的使用率。教材是传授知识的载体,是培养人才的保证。编者深知责任重大,求贤为业,竭诚邀请了来自中国科学院遗传与发育生物学研究所、中国农业科学院、北京大学、清华大学等院校教学科研一线的教授、专家、中青年博士参加编写,集成他们的渊博学识和真知灼见,提高著作水平。

本书保持了原专著和第一版教材的特点:强化基础理论,重视知识体系;融合学术创新,汇集科技成果;做到理论与技术结合,理论与实践结合,理论与应用结合;注意激发读者的专业兴趣和激情,培养创新能力。本书以植物基因工程的操作程序为主线循序展开,逐渐深入,在论述植物基因工程学科理论的基础上,系统阐明了植物基因工程各程序的原理与技术,使本书既具有较高的理论性,又具有较强的实用性和可操作性,从而构成植物基因工程完整的理论体系,也为植物基因工程学科的确立奠定基础。

新版《植物基因工程》中删除了“植物基因工程实验技术篇”,拟将该内容独立编写成《植物基因工程实验指南》,与本书配套,本书改编的主要内容:一是在第一篇植物基因工程分子生物学中新增了第4章植物基因变异分子生物学,首次综述了植物基因损伤、突变与修复的分子机制及其与转基因的同理性,从而深化了植物基因工程的基础理论;二是在第三篇目的基因分离克隆中,汇集了近期国内外植物基因分离克隆

的新技术,建立了其技术体系;三是增设了第四篇植物基因工程载体及其构建,融汇了近年来载体研发的新技术,如多基因转化载体、RNAi 载体等;四是在第六篇中增加了第 38 章转基因植物的生物学特性检测,首次系统论述了转基因植物的纯合体、多态性、遗传规律、目的产物等生物学特性及其检测,为转基因植物的系统标准化检测奠定基础;五是新编了第八篇生物信息学与植物基因工程,使生物信息学融入植物基因工程,顺应生物大数据时代的发展,提高了植物基因工程信息学水平;六是全书还新增了“植物质体基因转化系统”、“生物产品植物基因工程”、“外源基因在转基因植物中的表达调控”及“转基因植物的遗传特性及其利用”等,共 16 章,新编写内容为全书内容的三分之二以上。此外,本书紧紧围绕植物基因工程的主题内容,突出植物特点,与相关学科既减少重复,又融会贯通。同时本书引入了许多最新的图表及近三年的新文献,力求图文并茂,内容丰富,生动活泼,既具有较高的专业水平,又深入浅出、通俗易懂,使本书既可作为植物基因工程领域研究人员的参考书和工具书,又可作为高等院校生物技术相关专业本科生及研究生的教材,教师根据教学大纲需要从中选择适当的内容灵活使用,同时本书也是学生拓宽知识,激发兴趣,启蒙创新的深入阅读资料。

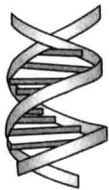
参编的 20 多位教授、专家、博士大多数是留学回国人员。他们查阅了大量的最新文献资料,汇集了国内外植物基因工程的基础理论知识和创新的科研成果,并结合他们多年的科研教学经验,使本书具有较高的专业水平,能与国际接轨。他们分别负责编写的章节是:第一篇王关林、王傲雪;第二篇方宏筠、李大力、陈秀玲、夏秀英、石若夫、闵东红、刘昱辉、罗红梅;第三篇刘昱辉、王旭静、杜娟、夏然、王小芳;第四篇王傲雪、孙晓丽、纪巍、胡鸢雷、陈秀玲、何俊娜;第五篇王关林、方宏筠、那杰;第六篇张明、周卫东、才华、胡鸢雷;第七篇胡银岗、张明、闵东红(张小红、陈亮编写部分内容);第八篇朱延明、端木慧子。

本书编写过程中承蒙中国农业科学院贾士荣教授和北京大学林忠平教授等我国多位知名植物基因工程科学家的鼓励和支持,引用了国内外许多科学家的著作、文献及科研成果,特别是受到科学出版社责任编辑席慧的鼎力相助和指导。在此一并表示衷心感谢。为避免每章间文献的重复,又便于读者拓展次级文献查阅及体现本书的新颖性,本书在每篇后列出了部分近期的参考文献,请被引用文献而未列出的国内外文献作者见谅。

编者深知编写新作任务艰巨、责任重大,生怕有误,更愿读者裨益,遂抛砖引玉,倍加努力,以勤补拙。囿于编者水平及时间所限,书中难免存在不足之处,竭诚希望专家和读者不吝赐教,予以雅正,不胜感激。

编 者

2014 年 2 月 12 日于大连



# 目 录

## 前言

|                          |   |
|--------------------------|---|
| 绪论 植物基因工程概述 .....        | 1 |
| 1 植物基因工程的定义 .....        | 1 |
| 2 植物基因工程的研究发展历史 .....    | 2 |
| 2.1 植物基因工程理论形成期 .....    | 2 |
| 2.2 植物基因工程的问世期 .....     | 3 |
| 2.3 植物基因工程的发展期 .....     | 4 |
| 3 植物基因工程的理论基础及技术路线 ..... | 4 |
| 3.1 理论基础 .....           | 4 |
| 3.2 植物基因工程的技术基础 .....    | 5 |

|                         |   |
|-------------------------|---|
| 3.3 植物基因工程的技术路线 .....   | 5 |
| 4 植物基因工程研究的内容 .....     | 6 |
| 4.1 植物基因工程的基础理论研究 ..... | 6 |
| 4.2 植物基因工程的应用研究 .....   | 6 |
| 5 植物基因工程的发展前景 .....     | 7 |
| 复习题 .....               | 8 |
| 名词解释 .....              | 8 |
| 问题 .....                | 8 |

## 第一篇 植物基因分子生物学

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| 第1章 植物基因组的结构功能及特点 .....     | 10 |
| 1 植物基因组与基因组学的基本概念 .....     | 10 |
| 1.1 植物基因组的定义 .....          | 10 |
| 1.2 基因组学的概念 .....           | 10 |
| 2 植物基因组的结构特点 .....          | 11 |
| 2.1 植物基因组的大小与C值复杂性 .....    | 11 |
| 2.2 植物基因组的简单序列 .....        | 11 |
| 2.3 植物基因组的重复序列 .....        | 11 |
| 2.4 植物基因组的多态性 .....         | 13 |
| 2.5 植物基因组的密码偏爱性 .....       | 13 |
| 3 植物细胞三套基因组的结构功能 .....      | 14 |
| 3.1 植物细胞核基因组的结构特点 .....     | 14 |
| 3.2 植物线粒体基因组的结构特点 .....     | 14 |
| 3.3 植物叶绿体基因组的结构特点 .....     | 15 |
| 3.4 植物细胞三套基因组的结构功能比较 .....  | 15 |
| 4 植物细胞三套基因组的遗传关系 .....      | 16 |
| 4.1 三套基因组的混源DNA .....       | 16 |
| 4.2 叶绿体中蛋白质的基因编码及核质调控 ..... | 16 |
| 4.3 线粒体中蛋白质的基因编码及核质调控 ..... | 17 |
| 4.4 植物细胞三套基因组之间的相互调控 .....  | 17 |
| 复习题 .....                   | 18 |
| 名词解释 .....                  | 18 |
| 问题 .....                    | 18 |

|                                  |    |
|----------------------------------|----|
| 第2章 植物基因的分子结构功能及特点 .....         | 19 |
| 1 植物细胞核基因的分子结构功能及特点 .....        | 19 |
| 1.1 植物细胞核基因的基本结构 .....           | 19 |
| 1.2 植物细胞核基因的分子结构特点 .....         | 19 |
| 1.3 植物细胞核基因的功能及类型 .....          | 22 |
| 2 植物叶绿体基因的分子结构功能及特点 .....        | 22 |
| 2.1 叶绿体基因的基本结构 .....             | 22 |
| 2.2 叶绿体基因的分子结构特点 .....           | 22 |
| 2.3 叶绿体基因表达调控特点 .....            | 23 |
| 3 植物线粒体基因的分子结构功能及特点 .....        | 23 |
| 3.1 线粒体基因分子结构特点 .....            | 23 |
| 3.2 线粒体基因的表达调控特点 .....           | 24 |
| 4 植物核基因、叶绿体基因和线粒体基因结构功能的比较 ..... | 24 |
| 复习题 .....                        | 25 |
| 名词解释 .....                       | 25 |
| 问题 .....                         | 25 |
| 第3章 植物基因的表达调控特点 .....            | 26 |
| 1 植物基因表达在染色质水平上的调控特点 .....       | 26 |
| 1.1 植物染色质MAR的调控 .....            | 26 |
| 1.2 DNase I超敏位点的调控 .....         | 27 |
| 1.3 DNA甲基化对基因表达的调控 .....         | 27 |



|                         |    |                     |    |
|-------------------------|----|---------------------|----|
| 2 植物基因表达在转录水平的调控特点      | 27 | 1.2 同源染色体配对错误性变异    | 33 |
| 2.1 转录因子调控              | 27 | 1.3 有性杂交基因重组变异      | 33 |
| 2.2 增强子、沉默子及 Kozak 序列调控 | 28 | 2 植物基因变异            | 33 |
| 3 植物基因转录后水平的调控特点        | 28 | 2.1 DNA 损伤          | 33 |
| 3.1 选择性剪接               | 28 | 2.2 基因突变            | 35 |
| 3.2 小分子 RNA 的调控特点       | 28 | 3 植物 DNA 损伤、突变及修复重组 | 36 |
| 4 植物基因翻译水平的调控特点         | 29 | 3.1 直接修复            | 36 |
| 4.1 调控因子的磷酸化和脱磷酸化调节     | 30 | 3.2 切除修复            | 36 |
| 4.2 前导序列调控              | 30 | 3.3 错配修复            | 36 |
| 4.3 移码和选读               | 30 | 3.4 双链断裂修复          | 37 |
| 5 翻译后水平调控特点             | 30 | 3.5 跨损伤 DNA 合成      | 37 |
| 5.1 多肽链折叠调控             | 30 | 4 植物基因变异的生物学效应及其应用  | 37 |
| 5.2 肽链的修饰调控             | 30 | 4.1 性状改良            | 37 |
| 5.3 蛋白质的降解              | 31 | 4.2 新品种培育           | 38 |
| 复习题                     | 32 | 5 植物转基因与基因变异的同理性分析  | 38 |
| 名词解释                    | 32 | 复习题                 | 38 |
| 问题                      | 32 | 名词解释                | 38 |
| 第 4 章 植物基因变异分子生物学       | 33 | 问题                  | 38 |
| 1 植物基因组变异               | 33 | 部分近期参考文献            | 39 |
| 1.1 染色体组的倍性变异           | 33 |                     |    |

## 第二篇 植物基因工程的目的基因

|                             |    |                            |    |
|-----------------------------|----|----------------------------|----|
| 第 5 章 抗植物虫害基因及其应用           | 42 | 1.4 缺陷干扰 RNA               | 53 |
| 1 微生物来源的抗虫基因及其应用            | 42 | 1.5 病毒卫星 RNA               | 53 |
| 1.1 <i>b<sub>t</sub></i> 基因 | 42 | 1.6 核酶基因                   | 53 |
| 1.2 胆固醇氧化酶基因                | 44 | 2 植物体内的抗病毒基因及其应用           | 54 |
| 1.3 营养杀虫蛋白基因                | 44 | 2.1 病程相关蛋白基因               | 54 |
| 1.4 其他微生物来源的抗虫基因            | 44 | 2.2 核糖体失活蛋白基因              | 54 |
| 2 植物来源的抗虫基因及其应用             | 45 | 2.3 其他植物内源基因               | 55 |
| 2.1 蛋白酶抑制剂基因                | 45 | 3 干扰素基因及其应用                | 55 |
| 2.2 植物凝集素基因                 | 46 | 3.1 干扰素的抗病毒原理              | 56 |
| 2.3 淀粉酶抑制剂基因                | 47 | 3.2 干扰素基因的应用               | 56 |
| 2.4 系统肽基因                   | 47 | 4 抗体基因及其应用                 | 56 |
| 2.5 其他植物来源的抗虫基因             | 47 | 4.1 抗体基因的抗病毒原理             | 56 |
| 3 动物来源的抗虫基因及其应用             | 48 | 4.2 抗体基因在植物中的应用            | 56 |
| 3.1 昆虫特异性神经毒素基因             | 48 | 复习题                        | 57 |
| 3.2 其他动物来源的抗虫基因             | 48 | 名词解释                       | 57 |
| 4 非蛋白质类杀虫剂调控基因              | 48 | 问题                         | 57 |
| 5 抗虫基因的互补和协同作用              | 49 | 第 7 章 抗植物真菌病害基因及其应用        | 58 |
| 复习题                         | 49 | 1 抗菌物质相关基因及其应用             | 58 |
| 名词解释                        | 49 | 1.1 植物抗毒素(植保素)基因及其应用       | 58 |
| 问题                          | 49 | 1.2 核糖体失活蛋白基因及应用           | 58 |
| 第 6 章 抗植物病毒基因及其应用           | 50 | 1.3 多聚半乳糖醛酸酶抑制蛋白基因及其<br>应用 | 59 |
| 1 病毒基因及其应用                  | 50 | 2 病程相关蛋白基因及其应用             | 59 |
| 1.1 病毒基因介导的抗性机制             | 50 | 2.1 病程相关蛋白种类               | 59 |
| 1.2 <i>cp</i> 基因及其应用        | 50 | 2.2 病程相关蛋白基因及其应用           | 59 |
| 1.3 非病毒结构基因及其应用             | 52 |                            |    |



|                                            |    |                                  |    |
|--------------------------------------------|----|----------------------------------|----|
| 3 植物抗真菌病 <i>R</i> 基因及其应用 .....             | 62 | 2.2 抗氧化保护酶基因及其应用 .....           | 74 |
| 3.1 植物抗真菌病 <i>R</i> 基因的作用机理 .....          | 62 | 2.3 LEA 蛋白基因及其应用 .....           | 75 |
| 3.2 植物抗真菌病 <i>R</i> 基因功能及应用策略 .....        | 63 | 2.4 抗逆相关转录因子基因及其应用 .....         | 75 |
| 3.3 植物抗真菌病 <i>R</i> 基因及其应用 .....           | 63 | 2.5 信号因子及其应用 .....               | 77 |
| 4 植物系统获得性抗性的抗病基因及其<br>应用 .....             | 64 | 3 抗寒基因及其应用 .....                 | 78 |
| 4.1 SAR 的作用机制 .....                        | 64 | 3.1 抗冻蛋白基因 .....                 | 78 |
| 4.2 SAR 的诱导基因 .....                        | 64 | 3.2 提高生物膜流动性的蛋白质基因 .....         | 79 |
| 复习题 .....                                  | 66 | 3.3 环境因素诱导表达的植物抗寒相关基因 .....      | 79 |
| 名词解释 .....                                 | 66 | 4 耐瘠薄基因及其应用 .....                | 80 |
| 问题 .....                                   | 66 | 4.1 耐低磷候选基因及其应用 .....            | 80 |
| 第 8 章 抗植物细菌病害基因及其应用 .....                  | 67 | 4.2 耐低钾候选基因及其应用 .....            | 81 |
| 1 病原菌自身的抗性基因及其应用 .....                     | 67 | 复习题 .....                        | 81 |
| 1.1 作用原理 .....                             | 67 | 名词解释 .....                       | 81 |
| 1.2 <i>oct</i> 基因和 <i>tta</i> 基因及其应用 ..... | 67 | 问题 .....                         | 81 |
| 2 抗菌肽基因及其应用 .....                          | 67 | 第 10 章 影响作物产量、品质的基因及其应用 .....    | 82 |
| 2.1 抗菌肽的分子结构及其抗菌谱 .....                    | 67 | 1 影响作物产量的基因及其应用 .....            | 82 |
| 2.2 抗菌肽的杀菌机制 .....                         | 68 | 1.1 植物光合作用机制及提高作物产量的<br>设想 ..... | 82 |
| 2.3 抗菌肽基因的应用 .....                         | 68 | 1.2 影响作物光合作用的基因及其应用 .....        | 82 |
| 3 防御素基因及其应用 .....                          | 68 | 1.3 植物产量形成的相关基因 .....            | 84 |
| 3.1 防御素的结构与功能 .....                        | 68 | 2 影响作物品质的基因及其应用 .....            | 85 |
| 3.2 防御素 <i>np-1</i> 基因及其应用 .....           | 69 | 2.1 谷物种子贮藏蛋白基因及其应用 .....         | 85 |
| 3.3 美洲商陆 <i>Pa-afp</i> 基因及其应用 .....        | 69 | 2.2 影响淀粉品质的基因及其应用 .....          | 86 |
| 4 溶菌酶基因及其应用 .....                          | 69 | 3 调控果实成熟基因及其应用 .....             | 87 |
| 5 病原相关蛋白基因及其应用 .....                       | 69 | 3.1 多聚半乳糖醛酸酶 .....               | 87 |
| 5.1 PR 蛋白的基本结构和功能 .....                    | 69 | 3.2 果胶酯酶 .....                   | 87 |
| 5.2 番茄 <i>pto</i> 基因的结构与功能 .....           | 70 | 3.3 果胶裂解酶 .....                  | 88 |
| 5.3 番茄 <i>ptil</i> 基因的结构与功能 .....          | 70 | 3.4 纤维素酶 .....                   | 88 |
| 6 植物保卫素合成酶基因及其应用 .....                     | 70 | 3.5 脂氧合酶 .....                   | 88 |
| 6.1 化合物保卫素的功能及其合成酶基因 .....                 | 70 | 3.6 乙烯合成相关酶类 .....               | 88 |
| 6.2 活性氧的抗菌功能及其调控基因 .....                   | 70 | 4 改良脂肪酸组成的基因及其应用 .....           | 88 |
| 7 类甜蛋白基因及其应用 .....                         | 71 | 4.1 植物饱和脂肪酸合成途径及其改造 .....        | 88 |
| 7.1 类甜蛋白的成分和结构 .....                       | 71 | 4.2 植物不饱和脂肪酸的合成途径及其改造 .....      | 90 |
| 7.2 TLP 的作用机制和应用 .....                     | 71 | 4.3 三酰甘油组装酶及其改造 .....            | 90 |
| 7.3 <i>tho</i> 基因的结构与功能 .....              | 71 | 4.4 影响种子含油量的调控因子 .....           | 90 |
| 复习题 .....                                  | 71 | 5 植物甜味蛋白及其应用 .....               | 90 |
| 名词解释 .....                                 | 71 | 5.1 甜味蛋白的基因工程 .....              | 90 |
| 问题 .....                                   | 71 | 5.2 环化糊精糖苷转移酶基因及其应用 .....        | 91 |
| 第 9 章 抗非生物胁迫基因及其应用 .....                   | 72 | 复习题 .....                        | 91 |
| 1 耐除草剂基因及其应用 .....                         | 72 | 问题 .....                         | 91 |
| 1.1 抗 EPSPS 抑制剂基因 .....                    | 72 | 第 11 章 调控植物生长发育的基因及其应用 .....     | 92 |
| 1.2 抗 ALS 抑制剂基因 .....                      | 73 | 1 植物激素基因对植物生长发育的调控及<br>其应用 ..... | 92 |
| 1.3 草铵膦乙酰转移酶基因 .....                       | 73 |                                  |    |
| 2 抗非生物逆境基因及其应用 .....                       | 73 |                                  |    |
| 2.1 渗透调节物质合成酶基因及其应用 .....                  | 73 |                                  |    |

|                                      |     |                                  |     |
|--------------------------------------|-----|----------------------------------|-----|
| 1.1 生长素相关基因 .....                    | 92  | 3.2 饱和脂肪酸的基因调控 .....             | 104 |
| 1.2 细胞分裂素基因 .....                    | 93  | 4 淀粉合成植物基因工程 .....               | 105 |
| 1.3 赤霉素基因 .....                      | 93  | 4.1 催化淀粉合成的酶及其基因 .....           | 105 |
| 2 光信号转导相关基因对植物形态建成的调控及其应用 .....      | 94  | 4.2 改造或生产特定结构淀粉的基因 .....         | 106 |
| 2.1 光受体基因对形态建成的调控 .....              | 94  | 5 可降解塑料 (PHA) 合成植物基因工程 .....     | 107 |
| 2.2 <i>cop1</i> 基因及其对光形态建成的负调控 ..... | 95  | 5.1 生物可降解塑料 PHB 的结构功能 .....      | 107 |
| 2.3 <i>hy5</i> 基因及其对光形态建成的正调控 .....  | 95  | 5.2 PHA 的生物合成及其基因调控 .....        | 108 |
| 3 调控胚胎发育及体细胞再生的基因及应用 .....           | 95  | 5.3 利用转基因植物生产 PHA 的策略 .....      | 108 |
| 3.1 调控胚胎发育的基因 .....                  | 95  | 复习题 .....                        | 109 |
| 3.2 胚胎发育基因在体细胞再生中的应用 .....           | 96  | 问题 .....                         | 109 |
| 4 调控叶片发育、衰老的基因及其应用 .....             | 96  | <b>第 13 章 植物医药基因工程及其应用</b> ..... | 110 |
| 4.1 调控叶片发育的基因 .....                  | 96  | 1 植物医药基因工程概述 .....               | 110 |
| 4.2 调控叶片衰老的基因 .....                  | 97  | 1.1 植物医药基因工程的发现 .....            | 110 |
| 5 调控植物花发育、衰老的基因及应用 .....             | 98  | 1.2 转基因植物生产药物的优点 .....           | 110 |
| 5.1 调控植物花发育的基因 .....                 | 98  | 1.3 植物医药基因工程宿主植物的选择 .....        | 110 |
| 5.2 调控植物花衰老的基因及其应用 .....             | 99  | 1.4 重组蛋白在细胞中的定位 .....            | 111 |
| 6 植物雄性不育基因及其应用 .....                 | 99  | 2 植物抗体基因工程及相关基因 .....            | 112 |
| 6.1 创建植物雄性不育的基因 .....                | 99  | 2.1 抗体及其基因的结构与功能 .....           | 112 |
| 6.2 雄性不育保持及恢复相关基因 .....              | 100 | 2.2 抗体在转基因植物中的表达 .....           | 113 |
| 复习题 .....                            | 101 | 2.3 植物抗体的应用前景 .....              | 113 |
| 名词解释 .....                           | 101 | 2.4 植物抗体存在的问题及研究方向 .....         | 113 |
| 问题 .....                             | 101 | 3 植物疫苗基因工程及相关基因 .....            | 114 |
| <b>第 12 章 植物生物产品基因工程</b> .....       | 102 | 3.1 植物疫苗基因工程目的基因的选择 .....        | 114 |
| 1 植物基因工程生物反应器 .....                  | 102 | 3.2 植物疫苗基因工程的研究进展及应用前景 .....     | 114 |
| 1.1 植物基因工程生物反应器的优点 .....             | 102 | 3.3 植物疫苗基因工程存在的问题及策略 .....       | 116 |
| 1.2 植物基因工程产品的表达定位 .....              | 102 | 4 转基因植物生产药用蛋白多肽 .....            | 117 |
| 2 酶合成植物基因工程 .....                    | 103 | 5 植物医药基因工程研究展望 .....             | 117 |
| 3 脂肪合成植物基因工程 .....                   | 104 | 复习题 .....                        | 118 |
| 3.1 不饱和脂肪酸的基因调控 .....                | 104 | 名词解释 .....                       | 118 |
|                                      |     | 问题 .....                         | 119 |
|                                      |     | <b>部分近期参考文献</b> .....            | 120 |

### 第三篇 目的基因分离克隆

|                                         |     |                                  |     |
|-----------------------------------------|-----|----------------------------------|-----|
| <b>第 14 章 基因序列同源性克隆目的基因</b> .....       | 124 | 4 基因序列同源性克隆的评述 .....             | 130 |
| 1 基因序列同源性克隆的原理 .....                    | 124 | 复习题 .....                        | 130 |
| 1.1 基因序列同源性克隆的种类 .....                  | 124 | 名词解释 .....                       | 130 |
| 1.2 基因序列同源性克隆的原理 .....                  | 124 | 问题 .....                         | 130 |
| 2 基因序列同源性克隆的程序 .....                    | 124 | <b>第 15 章 基因芯片技术克隆目的基因</b> ..... | 131 |
| 2.1 简并引物设计 .....                        | 125 | 1 基因芯片概述 .....                   | 131 |
| 2.2 克隆基因片段序列及同源性分析 .....                | 126 | 1.1 基因芯片的定义 .....                | 131 |
| 3 目的基因全长克隆 .....                        | 126 | 1.2 基因芯片的特点 .....                | 131 |
| 3.1 cDNA 末端的快速克隆 (RACE 技术) .....        | 126 | 2 利用基因芯片技术分离目的基因 .....           | 131 |
| 3.2 染色体步移 (chromosome walking) 技术 ..... | 129 | 2.1 基因芯片技术分离目的基因的原理 .....        | 131 |
|                                         |     | 2.2 基因芯片技术分离目的基因的操作流程 .....      | 132 |

|                                     |     |                                       |     |
|-------------------------------------|-----|---------------------------------------|-----|
| 2.3 基因芯片技术在分离目的基因中的应用 .....         | 134 | 1.4 mRNA 差异显示技术的改进 .....              | 147 |
| 3 基因芯片技术的其他应用 .....                 | 135 | 1.5 mRNA 差异显示实验中的注意事项 .....           | 149 |
| 3.1 基因表达分析 .....                    | 135 | 2 实时荧光定量 PCR 技术分离目的基因 .....           | 150 |
| 3.2 大规模测序 .....                     | 135 | 3 RACE 技术克隆全长目的基因 .....               | 150 |
| 3.3 突变体和多态性检测 .....                 | 135 | 4 基因表达系列分析技术(SAGE)分离目的基因 .....        | 150 |
| 3.4 基因文库作图 .....                    | 135 | 4.1 SAGE 的原理 .....                    | 150 |
| 3.5 转基因产品检测 .....                   | 135 | 4.2 SAGE 操作程序 .....                   | 150 |
| 3.6 基因芯片技术的评价及发展前景 .....            | 135 | 4.3 SAGE 的特点分析及应用 .....               | 151 |
| 复习题 .....                           | 135 | 5 差减杂交(SH)与抑制性差减杂交(SSH)技术分离目的基因 ..... | 151 |
| 名词解释 .....                          | 135 | 5.1 SSH 的基本原理 .....                   | 152 |
| 问题 .....                            | 135 | 5.2 SSH 的操作程序 .....                   | 152 |
| <b>第 16 章 基因文库技术</b> .....          | 136 | 5.3 SSH 的优点分析 .....                   | 153 |
| 1 基因文库概述 .....                      | 136 | 5.4 SSH 在基因克隆中的应用前景 .....             | 153 |
| 2 基因文库的类别 .....                     | 136 | 复习题 .....                             | 153 |
| 2.1 基因组文库和 cDNA 文库 .....            | 136 | 名词解释 .....                            | 153 |
| 2.2 克隆文库及表达文库 .....                 | 136 | 问题 .....                              | 153 |
| 2.3 不同载体的基因文库 .....                 | 137 | <b>第 18 章 插入突变技术分离克隆目的基因</b> .....    | 154 |
| 3 植物核基因组文库构建 .....                  | 137 | 1 插入失活筛选重组体 .....                     | 154 |
| 3.1 DNA 片段的产生和制备 .....              | 137 | 1.1 根据载体表型特征选择重组体 .....               | 154 |
| 3.2 构建基因文库的载体 .....                 | 138 | 1.2 根据插入序列的表型特征筛选重组体 .....            | 155 |
| 3.3 应用 $\lambda$ 噬菌体载体构建基因组文库 ..... | 138 | 2 插入接头突变分离克隆目的基因 .....                | 155 |
| 4 植物 cDNA 文库构建 .....                | 138 | 2.1 基本原理 .....                        | 155 |
| 4.1 mRNA 的制备 .....                  | 138 | 2.2 具体操作 .....                        | 155 |
| 4.2 cDNA 的合成 .....                  | 138 | 3 T-DNA 标签法分离克隆目的基因 .....             | 156 |
| 4.3 cDNA 与载体的连接 .....               | 139 | 3.1 基本原理 .....                        | 156 |
| 5 人工染色体文库构建 .....                   | 140 | 3.2 操作及应用 .....                       | 156 |
| 5.1 人工染色体文库简介 .....                 | 140 | 4 转座子诱变分离克隆目的基因 .....                 | 157 |
| 5.2 酵母人工染色体(YAC)文库 .....            | 140 | 4.1 转座子的基本概念 .....                    | 157 |
| 5.3 细菌人工染色体(BAC)文库 .....            | 141 | 4.2 转座子的分类和结构特征 .....                 | 157 |
| 5.4 可转化人工染色体(TAC)文库 .....           | 142 | 4.3 转座机制 .....                        | 158 |
| 6 基因文库筛选方法 .....                    | 142 | 4.4 转座子的应用 .....                      | 159 |
| 6.1 核酸杂交法 .....                     | 142 | 5 插入突变的其他应用 .....                     | 162 |
| 6.2 免疫学检测法 .....                    | 143 | 复习题 .....                             | 162 |
| 6.3 同胞选择法 .....                     | 143 | 名词解释 .....                            | 162 |
| 6.4 PCR 筛选法 .....                   | 143 | 问题 .....                              | 162 |
| 7 问题与展望 .....                       | 143 | <b>第 19 章 图位克隆分离目的基因</b> .....        | 163 |
| 复习题 .....                           | 144 | 1 图位克隆的基本原理 .....                     | 163 |
| 名词解释 .....                          | 144 | 2 图位克隆的基本程序 .....                     | 163 |
| 问题 .....                            | 144 | 3 图位克隆的主要技术环节 .....                   | 163 |
| <b>第 17 章 差异表达基因的分离技术</b> .....     | 145 | 3.1 目的基因遗传作图群体的构建 .....               | 163 |
| 1 mRNA 差异显示技术 .....                 | 145 | 3.2 筛选与目标基因连锁的分子标记 .....              | 164 |
| 1.1 mRNA 差异显示技术的基本原理 .....          | 145 | 3.3 目的基因区域的精细定位和作图 .....              | 166 |
| 1.2 mRNA 差异显示技术分离差异表达基因的基本程序 .....  | 146 | 3.4 目的基因克隆 .....                      | 167 |
| 1.3 mRNA 差异显示技术的优点及局限性 .....        | 146 |                                       |     |

|                                   |     |                                  |     |
|-----------------------------------|-----|----------------------------------|-----|
| 3.5 目的基因的鉴定.....                  | 168 | 复习题 .....                        | 187 |
| 4 图位克隆的研究进展.....                  | 168 | 名词解释 .....                       | 187 |
| 复习题 .....                         | 169 | 问题 .....                         | 187 |
| 名词解释 .....                        | 169 | <b>第 22 章 基因分离克隆的新技术与选择策略</b>    |     |
| 问题 .....                          | 169 | .....                            | 188 |
| <b>第 20 章 酵母双杂交系统分离克隆目的基因</b>     |     | 1 基因分离克隆的新技术.....                | 188 |
| .....                             | 170 | 1.1 EST 序列标签法分离克隆目的基因 ..         | 188 |
| 1 酵母双杂交系统的基本原理.....               | 170 | 1.2 EST 表达标签法的原理 .....           | 188 |
| 2 酵母双杂交系统的内容.....                 | 171 | 1.3 EST 表达标签法的思路 .....           | 188 |
| 2.1 酵母双杂交的组成.....                 | 171 | 1.4 EST 表达标签法在植物研究中的应用           |     |
| 2.2 酵母双杂交的实验模式 .....              | 171 | .....                            | 189 |
| 2.3 酵母双杂交体系的寄主菌与质粒载体              |     | 2 代表性差异分析(RDA) .....             | 189 |
| .....                             | 171 | 2.1 gDNA-RDA .....               | 190 |
| 3 酵母双杂交系统的特点分析.....               | 172 | 2.2 cDNA-RDA .....               | 190 |
| 3.1 双杂交系统优点.....                  | 172 | 2.3 cDNA-RDA 在植物基因分离克隆中的         |     |
| 3.2 酵母双杂交系统应用的局限性和存在的             |     | 应用 .....                         | 191 |
| 主要问题 .....                        | 173 | 3 TADSH 技术 .....                 | 191 |
| 3.3 酵母双杂交系统的改进 .....              | 174 | 3.1 TADSH 的基本原理 .....            | 191 |
| 4 酵母双杂交系统的功能及其新技术.....            | 175 | 3.2 TADSH 方法操作程序 .....           | 191 |
| 4.1 筛选与已知蛋白特异作用的成分 .....          | 175 | 3.3 TADSH 方法特点 .....             | 191 |
| 4.2 确定两个已知有生理作用的蛋白间的              |     | 4 cDNA-DS 技术(cDNA 直选法) .....     | 192 |
| 作用位点或结构域.....                     | 176 | 4.1 cDNA-DS 的基本原理与内容 .....       | 192 |
| 4.3 酵母单杂交系统.....                  | 176 | 4.2 cDNA 直选法的操作程序 .....          | 192 |
| 4.4 反向双杂交技术.....                  | 176 | 4.3 cDNA-DS 方法的影响因素.....         | 192 |
| 4.5 酵母三杂交系统.....                  | 176 | 4.4 cDNA 直选法的应用及研究进展 .....       | 193 |
| 5 酵母双杂交系统的应用.....                 | 177 | 5 cDNA-AFLP 与 cDNA-RAPD 技术 ..... | 193 |
| 复习题 .....                         | 178 | 5.1 cDNA-AFLP .....              | 193 |
| 名词解释 .....                        | 178 | 5.2 cDNA-RAPD .....              | 194 |
| 问题 .....                          | 178 | 6 基因鉴定集成法.....                   | 194 |
| <b>第 21 章 功能蛋白组技术分离目的基因</b> ..... | 179 | 6.1 IPGI 技术的基本原理 .....           | 194 |
| 1 功能蛋白组技术概述.....                  | 179 | 6.2 IPGI 的实验步骤 .....             | 194 |
| 2 蛋白质双向电泳技术.....                  | 180 | 6.3 IPGI 技术的优点 .....             | 195 |
| 2.1 双向电泳原理 .....                  | 180 | 6.4 基因鉴定集成法的应用前景 .....           | 195 |
| 2.2 用于功能蛋白组研究的双向电泳系统              |     | 7 目的基因分离克隆方法的评述与选择               |     |
| .....                             | 180 | 策略.....                          | 195 |
| 2.3 蛋白质双向电泳技术 .....               | 181 | 7.1 植物目的基因分离克隆新方法评述 ..           | 195 |
| 3 功能蛋白氨基酸序列分析.....                | 183 | 7.2 植物目的基因分离克隆方法的选择策略            |     |
| 3.1 概述 .....                      | 183 | .....                            | 197 |
| 3.2 蛋白质指纹质谱分析 .....               | 183 | 复习题 .....                        | 198 |
| 4 功能蛋白基因分离.....                   | 184 | 名词解释 .....                       | 198 |
| 4.1 聚合酶链式反应技术分离目的基因 ..            | 184 | 问题 .....                         | 198 |
| 4.2 核酸杂交筛选法分离目的基因 .....           | 185 | <b>部分近期参考文献</b> .....            | 199 |
| 4.3 免疫学筛选法分离目的基因 .....            | 185 |                                  |     |

#### 第四篇 植物基因工程载体及其构建

|                              |     |                         |     |
|------------------------------|-----|-------------------------|-----|
| <b>第 23 章 植物基因工程载体</b> ..... | 202 | 2 植物基因工程载体命名规则及种类.....  | 202 |
| 1 植物基因工程载体概述.....            | 202 | 2.1 植物基因工程载体的命名规则 ..... | 202 |

|                                              |     |                                                 |     |
|----------------------------------------------|-----|-------------------------------------------------|-----|
| 2.2 植物基因工程载体的种类及特性 .....                     | 202 | 2.5 农杆菌染色体基因对 T-DNA 转移的<br>调控 .....             | 224 |
| 3 载体的基本结构 .....                              | 203 | 3 Ti 质粒的改造及载体构建 .....                           | 224 |
| 4 RNA 干扰表达载体 .....                           | 204 | 3.1 双元载体系统 .....                                | 225 |
| 4.1 RNAi 的分子机制 .....                         | 204 | 3.2 载体卡盒 .....                                  | 225 |
| 4.2 植物 RNAi 的特点 .....                        | 205 | 4 双元质粒 Ti 载体的新技术 .....                          | 225 |
| 4.3 RNAi 载体的设计及构建 .....                      | 205 | 4.1 双元 Ti 载体结构的优化 .....                         | 226 |
| 4.4 RNA 干扰的研究与应用展望 .....                     | 206 | 4.2 双元 Ti 载体的发展 .....                           | 227 |
| 5 植物基因工程常用的质粒载体 .....                        | 207 | 4.3 双元 Ti 载体应用的展望 .....                         | 230 |
| 5.1 植物基因工程常用的克隆载体 .....                      | 207 | 复习题 .....                                       | 230 |
| 5.2 植物基因工程常用的表达载体 .....                      | 209 | 名词解释 .....                                      | 230 |
| 6 植物基因工程载体改进和优化 .....                        | 210 | 问题 .....                                        | 230 |
| 6.1 改进和优化启动子 .....                           | 210 | <b>第 26 章 Ri 质粒载体及其构建</b> .....                 | 231 |
| 6.2 增强翻译效率 .....                             | 210 | 1 Ri 质粒载体的结构与功能 .....                           | 231 |
| 6.3 消除位置效应 .....                             | 210 | 1.1 Ri 质粒的酶切图谱 .....                            | 231 |
| 6.4 使用定位信号 .....                             | 210 | 1.2 Ri 质粒与 Ti 质粒的同源性 .....                      | 232 |
| 6.5 利用内含子增强基因表达 .....                        | 210 | 1.3 Vir 区的基因结构与功能 .....                         | 232 |
| 复习题 .....                                    | 211 | 2 Ri 质粒 T 区的基因结构与功能 .....                       | 232 |
| 名词解释 .....                                   | 211 | 2.1 农杆菌型 Ri 质粒 T-DNA 区特点与功能<br>.....            | 232 |
| 问题 .....                                     | 211 | 2.2 甘露碱型和黄瓜碱型 T-DNA 区特点<br>.....                | 234 |
| <b>第 24 章 植物基因工程载体的标记基因和<br/>报告基因</b> .....  | 212 | 2.3 Ri T-DNA 在转化体的整合机制 .....                    | 234 |
| 1 标记基因 .....                                 | 212 | 3 Ri T-DNA 微型质粒的构建 .....                        | 235 |
| 1.1 标记基因概述及环境安全 .....                        | 212 | 复习题 .....                                       | 235 |
| 1.2 标记基因的分类 .....                            | 212 | 名词解释 .....                                      | 235 |
| 1.3 常用的选择标记基因 .....                          | 214 | 问题 .....                                        | 235 |
| 1.4 转基因植物中选择标记基因的消除 .....                    | 215 | <b>第 27 章 植物病毒载体及构建</b> .....                   | 236 |
| 2 报告基因 .....                                 | 218 | 1 植物病毒载体概述 .....                                | 236 |
| 2.1 报告基因概述 .....                             | 218 | 1.1 植物病毒载体特点 .....                              | 236 |
| 2.2 氯霉素乙酰转移酶基因( <i>cat</i> ) .....           | 218 | 1.2 植物病毒载体分类 .....                              | 236 |
| 2.3 荧光素酶基因( <i>luc</i> ) .....               | 218 | 2 植物病毒载体的构建 .....                               | 241 |
| 2.4 绿色荧光蛋白基因( <i>gfp</i> ) .....             | 219 | 2.1 基因替代置换 .....                                | 241 |
| 2.5 $\beta$ -葡萄糖醛酸糖苷酸酶基因( <i>gus</i> ) ..... | 219 | 2.2 基因插入 .....                                  | 242 |
| 3 标记基因和报告基因的选择策略 .....                       | 219 | 2.3 融合抗原 .....                                  | 242 |
| 复习题 .....                                    | 219 | 2.4 基因互补 .....                                  | 242 |
| 名词解释 .....                                   | 219 | 3 病毒载体的应用及评价 .....                              | 243 |
| 问题 .....                                     | 219 | 3.1 植物病毒载体表达系统在植物基因工程<br>中的应用 .....             | 243 |
| <b>第 25 章 Ti 质粒载体及其构建</b> .....              | 220 | 3.2 植物病毒诱导的基因沉默系统(VIGS)<br>在植物功能基因组研究中的应用 ..... | 244 |
| 1 Ti 质粒载体的结构与功能 .....                        | 220 | 复习题 .....                                       | 246 |
| 1.1 T-DNA 区域的基因结构与功能 .....                   | 220 | 名词解释 .....                                      | 246 |
| 1.2 Vir 区操纵子的基因结构与功能 .....                   | 221 | 问题 .....                                        | 246 |
| 2 Ti 质粒基因在转化中的调控作用 .....                     | 222 | <b>部分近期参考文献</b> .....                           | 247 |
| 2.1 单链 T-DNA 的加工 .....                       | 222 |                                                 |     |
| 2.2 T 链复合体的形成 .....                          | 223 |                                                 |     |
| 2.3 T 链复合体的转运 .....                          | 223 |                                                 |     |
| 2.4 T-复合体靶向植物细胞核 .....                       | 224 |                                                 |     |



## 第五篇 目的基因转化

|                           |     |
|---------------------------|-----|
| 第 28 章 植物基因转化受体系统的建立      | 250 |
| 1 植物基因转化受体系统的条件           | 250 |
| 1.1 高效稳定的再生能力             | 250 |
| 1.2 较高的遗传稳定性              | 250 |
| 1.3 具有稳定的外植体来源            | 251 |
| 1.4 对选择性抗生素敏感             | 251 |
| 1.5 对农杆菌侵染有敏感性            | 251 |
| 2 植物组织培养转化受体系统            | 251 |
| 2.1 植物组织培养转化受体系统的种类及其特性   | 251 |
| 2.2 植物组织培养转化受体系统建立的程序     | 253 |
| 2.3 植物组织培养转化受体系统建立的常见问题   | 255 |
| 3 植物非组织培养受体系统             | 258 |
| 3.1 植物生殖细胞受体系统            | 258 |
| 3.2 植物种子受体系统              | 259 |
| 3.3 植物茎尖分生细胞受体系统          | 259 |
| 3.4 植物质体受体系统              | 259 |
| 复习题                       | 259 |
| 名词解释                      | 259 |
| 问题                        | 259 |
| 第 29 章 根癌农杆菌 Ti 质粒基因转化    | 260 |
| 1 根癌农杆菌的生物学特性             | 260 |
| 1.1 根癌农杆菌的形态结构、生活习性及其寄主范围 | 260 |
| 1.2 根癌农杆菌的分类及鉴定           | 260 |
| 1.3 根癌农杆菌的遗传宿主及内共生原理      | 260 |
| 1.4 根癌农杆菌附着植物细胞的机制        | 261 |
| 2 根癌农杆菌侵染植物细胞的化学机制        | 261 |
| 2.1 根癌农杆菌的趋化性             | 261 |
| 2.2 根癌农杆菌侵染的诱导物及作用机制      | 261 |
| 2.3 冠瘿碱的化学特性及功能           | 264 |
| 3 根癌农杆菌的侵染能力及其特性          | 266 |
| 3.1 转化中常用的根癌农杆菌菌系及菌株      | 266 |
| 3.2 影响农杆菌侵染能力的内在因素        | 267 |
| 3.3 根癌农杆菌的侵染能力差异及植物的敏感反应  | 268 |
| 4 根癌农杆菌转化程序及操作原理          | 268 |
| 4.1 根癌农杆菌转化程序             | 269 |
| 4.2 根癌农杆菌的培养、纯化、保存及工程菌液制备 | 269 |
| 4.3 Vir 区基因活化诱导物的使用       | 270 |
| 4.4 外植体的选择                | 271 |
| 4.5 外植体的预培养、接种及与农杆菌的共同培养  | 272 |
| 4.6 外植体脱菌及选择培养            | 273 |
| 5 根癌农杆菌转化方法               | 274 |
| 5.1 整体植株接种共感染法            | 274 |
| 5.2 叶盘转化法                 | 275 |
| 6 根癌农杆菌转化系统的评述            | 276 |
| 复习题                       | 277 |
| 名词解释                      | 277 |
| 问题                        | 277 |
| 第 30 章 发根农杆菌 Ri 质粒基因转化    | 278 |
| 1 发根农杆菌的生物学特性             | 278 |
| 1.1 发根农杆菌的宿主及转化体的特性       | 278 |
| 1.2 发根农杆菌的分类及命名           | 279 |
| 1.3 毛状根是单细胞克隆体            | 279 |
| 1.4 发根农杆菌的冠瘿碱合成           | 280 |
| 2 发根农杆菌基因转化策略             | 280 |
| 2.1 共整合载体转化               | 280 |
| 2.2 二元载体转化                | 280 |
| 2.3 Ri 质粒与 Ti 质粒的相容性      | 280 |
| 3 发根农杆菌基因转化的方法及操作原理       | 280 |
| 3.1 转化方法                  | 281 |
| 3.2 毛状根的培养                | 281 |
| 4 发根农杆菌基因转化的影响因素          | 281 |
| 4.1 发根农杆菌种类之间侵染能力的差异      | 281 |
| 4.2 发根农杆菌 Vir 区基因的影响      | 282 |
| 4.3 发根农杆菌染色体基因的影响         | 282 |
| 4.4 宿主对发根农杆菌侵染的敏感性        | 282 |
| 5 发根农杆菌转化的应用              | 282 |
| 5.1 促进生根                  | 282 |
| 5.2 增强抗逆性                 | 282 |
| 5.3 次生代谢产物生产              | 282 |
| 复习题                       | 283 |
| 名词解释                      | 283 |
| 问题                        | 283 |
| 第 31 章 植物病毒载体介导基因转化       | 284 |
| 1 植物病毒的生物学特性              | 284 |
| 1.1 植物病毒的种类及其特性           | 284 |
| 1.2 植物病毒的形态结构             | 285 |
| 2 植物病毒介导基因转化的原理           | 286 |

|                                   |     |                                |     |
|-----------------------------------|-----|--------------------------------|-----|
| 2.1 植物病毒的侵染机制 .....               | 286 | 3.3 浸泡转化法的技术评价 .....           | 307 |
| 2.2 病毒在植物细胞内的装配 .....             | 286 | 4 胚囊、子房注射法介导基因转化 .....         | 308 |
| 3 植物病毒介导基因转化的程序 .....             | 287 | 4.1 胚囊、子房注射法的原理 .....          | 308 |
| 3.1 病毒载体转化系统的基本条件 .....           | 287 | 4.2 胚囊、子房注射法的操作程序 .....        | 308 |
| 3.2 病毒载体转化系统的选择策略 .....           | 287 | 4.3 胚囊、子房注射法的评述 .....          | 308 |
| 3.3 病毒载体转化的方法 .....               | 288 | 5 萌发种子基因转化 .....               | 309 |
| 4 病毒载体与质粒载体转化系统的比较 .....          | 288 | 5.1 萌发种子基因转化的原理 .....          | 309 |
| 4.1 病毒载体与质粒载体转化系统的异同 .....        | 288 | 5.2 萌发种子胚基因转化方法 .....          | 309 |
| 4.2 病毒载体的缺点 .....                 | 288 | 5.3 萌发种子基因转化的优缺点 .....         | 309 |
| 5 病毒载体转化系统的应用潜力 .....             | 288 | 5.4 萌发种子基因转化的应用前景 .....        | 309 |
| 复习题 .....                         | 289 | 复习题 .....                      | 309 |
| 名词解释 .....                        | 289 | 名词解释 .....                     | 309 |
| 问答题 .....                         | 289 | 问题 .....                       | 309 |
| <b>第 32 章 DNA 直接导入法基因转化</b> ..... | 290 | <b>第 34 章 植物质体基因转化系统</b> ..... | 310 |
| 1 化学诱导 DNA 直接转化 .....             | 290 | 1 植物质体基因转化系统概述 .....           | 310 |
| 1.1 PEG 介导基因转化 .....              | 290 | 1.1 植物质体系统的定义 .....            | 310 |
| 1.2 脂质体介导基因转化 .....               | 292 | 1.2 植物质体基因转化的研究历史 .....        | 310 |
| 2 物理法诱导 DNA 直接转化 .....            | 293 | 1.3 植物质体基因转化系统的优越性 .....       | 310 |
| 2.1 电激法介导基因转化 .....               | 293 | 2 叶绿体基因转化及原理 .....             | 311 |
| 2.2 超声波介导基因转化 .....               | 294 | 2.1 叶绿体基因组结构特点 .....           | 311 |
| 2.3 显微注射介导基因转化 .....              | 295 | 2.2 叶绿体的转化方法及原理 .....          | 311 |
| 2.4 激光微束介导基因转化 .....              | 296 | 2.3 叶绿体基因转化载体的特性 .....         | 311 |
| 2.5 基因枪法介导基因转化 .....              | 297 | 2.4 外源基因在叶绿体基因组的整合原理 .....     | 312 |
| 2.6 低能离子束介导植物基因转化 .....           | 301 | 3 外源基因在叶绿体基因组的表达 .....         | 313 |
| 复习题 .....                         | 302 | 4 转化外源基因在叶绿体基因组的同质化途径 .....    | 314 |
| 名词解释 .....                        | 302 | 4.1 16S rRNA 突变型细胞途径 .....     | 314 |
| 问题 .....                          | 302 | 4.2 利用筛选标记基因途径 .....           | 314 |
| <b>第 33 章 植物种质系统介导基因转化</b> .....  | 303 | 4.3 利用花粉管导入途径 .....            | 314 |
| 1 花粉管通道法介导基因转化 .....              | 303 | 5 标记基因的选择及删除 .....             | 314 |
| 1.1 花粉管通道法的提出 .....               | 303 | 5.1 选择筛选标记基因 .....             | 314 |
| 1.2 花粉管导入的原理 .....                | 303 | 5.2 筛选标记基因的删除 .....            | 315 |
| 1.3 花粉管通道法的操作程序 .....             | 304 | 6 叶绿体基因工程的应用 .....             | 315 |
| 1.4 对花粉管通道法的技术评价 .....            | 304 | 6.1 提高光合效率 .....               | 315 |
| 2 花粉粒介导基因转化 .....                 | 305 | 6.2 改良作物特性 .....               | 316 |
| 2.1 花粉粒介导基因转化的原理 .....            | 305 | 6.3 生产药物及工业生物产品 .....          | 316 |
| 2.2 花粉粒介导基因转化的操作程序 .....          | 305 | 7 存在问题及展望 .....                | 316 |
| 2.3 花粉粒基因转化的优点及问题 .....           | 306 | 7.1 转化效率低 .....                | 316 |
| 2.4 花粉粒基因转化的应用 .....              | 306 | 7.2 叶绿体同质化困难 .....             | 317 |
| 3 生殖细胞浸泡法介导基因转化 .....             | 306 | 7.3 展望 .....                   | 317 |
| 3.1 浸泡转化法的原理 .....                | 306 | 复习题 .....                      | 317 |
| 3.2 浸泡转化法程序 .....                 | 307 | 名词解释 .....                     | 317 |



|          |     |                |     |
|----------|-----|----------------|-----|
| 问题 ..... | 317 | 部分近期参考文献 ..... | 317 |
|----------|-----|----------------|-----|

## 第六篇 转基因植物的检测

|                                             |     |                                       |     |
|---------------------------------------------|-----|---------------------------------------|-----|
| 第 35 章 标记及报告基因的表达检测 .....                   | 320 | 复习题 .....                             | 341 |
| 1 抗生素抗性基因检测 .....                           | 320 | 名词解释 .....                            | 341 |
| 1.1 $\beta$ -葡萄糖苷酸酶基因 <i>gus</i> 的检测 .....  | 320 | 问题 .....                              | 341 |
| 1.2 氯霉素乙酰转移酶基因 <i>cat</i> 的检测 .....         | 322 | 第 37 章 外源基因的表达检测 .....                | 342 |
| 1.3 <i>npt-II</i> 基因的检测 .....               | 323 | 1 外源基因转录的 Northern 杂交检测 .....         | 342 |
| 2 抗除草剂基因检测 .....                            | 324 | 1.1 植物 RNA 提取 .....                   | 342 |
| 2.1 <i>pat</i> 基因的检测原理 .....                | 324 | 1.2 探针制备 .....                        | 344 |
| 2.2 检测方法 .....                              | 325 | 1.3 Northern 斑点杂交 .....               | 344 |
| 3 生化代谢基因检测 .....                            | 325 | 1.4 Northern 印迹杂交 .....               | 344 |
| 3.1 冠瘿碱合成酶基因的检测 .....                       | 325 | 2 外源基因表达的 RT-PCR 检测 .....             | 345 |
| 3.2 萤光素酶基因的检测 .....                         | 325 | 2.1 原理 .....                          | 345 |
| 3.3 二氢叶酸还原酶基因的检测 .....                      | 326 | 2.2 RT-PCR 反应程序 .....                 | 345 |
| 4 生物安全性标记基因检测 .....                         | 326 | 3 外源基因表达蛋白的检测 .....                   | 345 |
| 4.1 磷酸甘露糖异构酶基因( <i>pmi</i> )的检测 .....       | 326 | 3.1 ELISA 检测 .....                    | 345 |
| 4.2 木糖异构酶基因( <i>xyla</i> )检测 .....          | 327 | 3.2 免疫荧光技术检测 .....                    | 346 |
| 4.3 甜菜碱醛脱氢酶(BADH)基因的测定 .....                | 327 | 4 表达蛋白的含量测定 .....                     | 346 |
| 4.4 绿色荧光蛋白基因 <i>gfp</i> 的检测 .....           | 328 | 5 Western 杂交检测 .....                  | 347 |
| 复习题 .....                                   | 328 | 5.1 Western 杂交原理 .....                | 347 |
| 名词解释 .....                                  | 328 | 5.2 Western 杂交程序 .....                | 347 |
| 问题 .....                                    | 328 | 5.3 Western 印迹实验设计 .....              | 348 |
| 第 36 章 外源基因整合检测 .....                       | 329 | 6 外源基因表达的原位杂交检测 .....                 | 348 |
| 1 外源基因整合的 Southern 杂交鉴定 .....               | 329 | 6.1 组织细胞 mRNA 原位杂交 .....              | 348 |
| 1.1 植物 DNA 提取 .....                         | 329 | 6.2 外源基因表达蛋白的组织细胞免疫定位 .....           | 349 |
| 1.2 杂交探针的制备 .....                           | 330 | 6.3 组织印迹的 Northern 及 Western 杂交 ..... | 349 |
| 1.3 Southern 印迹杂交 .....                     | 332 | 复习题 .....                             | 350 |
| 1.4 Southern 印迹杂交结果分析 .....                 | 335 | 名词解释 .....                            | 350 |
| 2 整合外源基因拷贝数的 IPCR 检测 .....                  | 337 | 问题 .....                              | 350 |
| 2.1 IPCR 的原理 .....                          | 337 | 第 38 章 转基因植物的生物学特性检测 .....            | 351 |
| 2.2 IPCR 技术要点 .....                         | 337 | 1 转基因植株外源基因纯合和嵌合性检测 .....             | 351 |
| 3 整合外源基因实时荧光定量 PCR 检测 .....                 | 337 | 1.1 转基因植株外源基因纯合体检测 .....              | 351 |
| 3.1 实时荧光定量 PCR 概述 .....                     | 337 | 1.2 转基因植株嵌合体检测 .....                  | 355 |
| 3.2 实时荧光定量 PCR 的基本概念 .....                  | 338 | 2 转基因植物遗传多样性检测 .....                  | 355 |
| 3.3 实时荧光定量 PCR 的化学原理 .....                  | 338 | 2.1 RFLP 检测分析原理 .....                 | 355 |
| 3.4 应用 SYBR Green I 法进行基因整合检测(绝对定量分析) ..... | 340 | 2.2 RAPD 检测分析原理 .....                 | 356 |
| 4 整合外源基因的原位杂交 .....                         | 340 | 2.3 SSR 标记分析转基因植株的遗传多样性 .....         | 356 |
| 4.1 染色体 DNA 原位杂交原理 .....                    | 341 | 3 转基因植株的目的性状检测 .....                  | 358 |
| 4.2 染色体 DNA 原位杂交方法 .....                    | 341 | 3.1 生理生化检测转基因植株的目的性状 .....            |     |

|                           |     |
|---------------------------|-----|
| 指标 .....                  | 358 |
| 3.2 转基因植物目的性状的生物学鉴定 ..... | 358 |
| 4 转基因植物稳定性检测 .....        | 359 |
| 复习题 .....                 | 359 |

|                |     |
|----------------|-----|
| 名词解释 .....     | 359 |
| 问题 .....       | 359 |
| 部分近期参考文献 ..... | 360 |

## 第七篇 转基因植物的遗传特性及其安全性

### 第 39 章 外源 DNA 在转基因植物中的整合

|                               |     |
|-------------------------------|-----|
| 特性 .....                      | 362 |
| 1 外源 DNA 的整合特点 .....          | 362 |
| 1.1 外源 DNA 整合的随机性 .....       | 362 |
| 1.2 外源 DNA 整合的规律性 .....       | 362 |
| 1.3 农杆菌介导法的整合特点 .....         | 363 |
| 1.4 基因枪法的整合特点 .....           | 363 |
| 1.5 花粉管通道法的整合特点 .....         | 364 |
| 2 外源 DNA 的整合机制 .....          | 364 |
| 2.1 T-DNA 整合的机制 .....         | 364 |
| 2.2 直接导入法外源 DNA 整合的分子机制 ..... | 365 |
| 3 外源 DNA 的整合方式及结构变化 .....     | 367 |
| 3.1 外源 DNA 的整合方式 .....        | 367 |
| 3.2 转化后外源 DNA 的结构变化 .....     | 368 |
| 4 外源 DNA 整合的效应 .....          | 369 |
| 4.1 位置效应 .....                | 369 |
| 4.2 重组效应 .....                | 369 |
| 4.3 转基因拷贝数的效应(剂量效应) .....     | 370 |
| 4.4 转基因沉默 .....               | 370 |
| 5 外源基因的删除 .....               | 370 |
| 5.1 共转化法 .....                | 370 |
| 5.2 转座子法 .....                | 370 |
| 5.3 位点特异性重组法 .....            | 371 |
| 5.4 染色体内同源重组法 .....           | 372 |
| 5.5 几种方法的比较和评价 .....          | 372 |
| 6 提高外源 DNA 有效整合的技术 .....      | 372 |
| 6.1 定点重组转基因技术简介 .....         | 372 |
| 6.2 定点重组转基因技术的主要类型 .....      | 372 |
| 6.3 位点特异性重组的作用机制 .....        | 373 |
| 6.4 位点特异性重组的应用 .....          | 373 |
| 复习题 .....                     | 374 |
| 名词解释 .....                    | 374 |
| 问题 .....                      | 374 |

### 第 40 章 外源基因在转基因植物中的表达

|                   |     |
|-------------------|-----|
| 特性 .....          | 375 |
| 1 外源基因的瞬时表达 ..... | 375 |

|                          |     |
|--------------------------|-----|
| 1.1 瞬时表达的过程 .....        | 375 |
| 1.2 瞬时表达的机制 .....        | 375 |
| 1.3 植物瞬时表达的技术 .....      | 376 |
| 1.4 瞬时表达的应用 .....        | 376 |
| 2 外源基因的稳定表达 .....        | 377 |
| 2.1 外源基因稳定表达的特点 .....    | 377 |
| 2.2 外源基因稳定表达的类型 .....    | 377 |
| 3 同源性和异源性外源基因的表达 .....   | 378 |
| 3.1 同源性外源基因的表达 .....     | 378 |
| 3.2 异源性外源基因的表达 .....     | 379 |
| 4 外源基因的沉默 .....          | 379 |
| 4.1 转基因沉默的表现 .....       | 379 |
| 4.2 转基因沉默的机制 .....       | 379 |
| 5 外源基因的整合方式对其表达的影响 ..... | 381 |
| 5.1 外源基因的整合位置 .....      | 381 |
| 5.2 外源基因的拷贝数 .....       | 381 |
| 6 优化外源基因表达的策略 .....      | 381 |
| 6.1 启动子的合理选择 .....       | 381 |
| 6.2 目的基因的修饰 .....        | 382 |
| 6.3 信号肽序列的利用 .....       | 382 |
| 6.4 特殊序列的恰当使用 .....      | 382 |
| 6.5 利用优良的转化方法和重组系统 ..... | 383 |
| 复习题 .....                | 383 |
| 名词解释 .....               | 383 |
| 问题 .....                 | 383 |

### 第 41 章 外源基因的遗传特性及其利用

|                         |     |
|-------------------------|-----|
| 1 外源基因的遗传规律 .....       | 384 |
| 1.1 孟德尔式遗传 .....        | 384 |
| 1.2 非孟德尔式遗传 .....       | 385 |
| 2 外源基因的遗传稳定性 .....      | 387 |
| 2.1 转基因在转化细胞中的稳定性 ..... | 387 |
| 2.2 转基因在遗传传递中的稳定性 ..... | 387 |
| 2.3 转基因植株的倍性变化 .....    | 388 |
| 2.4 沉默转基因的遗传稳定性 .....   | 388 |
| 3 影响外源基因遗传特性的因素 .....   | 388 |
| 3.1 环境条件 .....          | 388 |