



国之专利预警
GUOZHI PATENT WARNING

热点技术 专利预警分析

主编 魏保志

北京国之专利预警咨询中心 / 组织编写

作物分子标记辅助育种、储氢材料、
体腔内微型机器人、页岩气分册



知识产权出版社

全国百佳图书出版单位

北京国之专利预警咨询中心 组织编写

热点技术专利预警分析

作物分子标记辅助育种、
储氢材料、
体腔内微型机器人、
页岩气分册

主编 魏保志



知识产权出版社

全国百佳图书出版单位

图书在版编目 (CIP) 数据

热点技术专利预警分析·作物分子标记辅助育种、储氢材料、体腔内微型机器人、页岩气分册/
魏保志主编. —北京: 知识产权出版社, 2014. 4

ISBN 978-7-5130-2698-7

I. ①热… II. ①魏… III. ①专利—研究—中国 IV. ①D923.424

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 065636 号

内容提要

本书收集了四个领域的专利预警研究报告, 分别是: 作物分子标记辅助育种、储氢材料、体腔内微型机器人和页岩气。报告从相关领域的国内外专利现状、技术发展趋势以及主要申请人等方面入手, 对专利的总体布局展开分析, 同时, 还对相关领域重点技术的发展路线、研发入口以及专利诉讼进行了分析。本书是了解相关领域技术发展及预测未来走向, 帮助企业做好专利预警的必备资料之一。

读者对象: 相关领域的政府管理人员、行业分析师、企业管理者、研发人员以及知识产权咨询服务人员。

责任编辑: 黄清明

装帧设计: 刘伟



责任校对: 韩秀天

责任出版: 卢运霞

热点技术专利预警分析·作物分子标记辅助育种、储氢材料、体腔内微型机器人、页岩气分册

redian jishu zhuanli yujing fenxi zuo wu fenzi biaoji fuzhu yuzhong chu qing cailiao
tiqiang nei weixing jiqiren yeyanqi fence

魏保志 主编

出版发行: 知识产权出版社有限责任公司

社址: 北京市海淀区马甸南村 1 号

责任编辑: 010-82000860 转 8117

发行电话: 010-82000860 转 8101/8102

印刷: 三河市国英印务有限公司

开本: 787mm×1092mm 1/16

版次: 2014 年 4 月第 1 版

字数: 562 千字

ISBN 978-7-5130-2698-7

网 址: <http://www.ipph.cn>

邮 编: 100088

责任编辑: hqm@cnipr.com

发行传真: 010-82000893/82005070/82000270

经 销: 各大网店、新华书店及相关销售网点

印 张: 24

印 次: 2014 年 4 月第 1 次印刷

定 价: 88.00 元

出版权专有 侵权必究

如有印装质量问题, 本社负责调换。

编 委 会

主 任：魏保志

副主任：曲淑君 夏国红

编 委：王娇丽 于立彪 郭震宇 陈玉华

张 蔚 马秋娟 仲惟兵 田 虹

朱 宁 聂春艳

序

随着我国创新型国家建设和国家知识产权战略的实施，专利已经成为国家战略性资源，在经济社会发展中发挥着日益重要的作用。当前，我国更加强调加强知识产权的保护和运用，而专利预警作为专利保护和运用的重要手段，对技术创新和提升企业核心竞争力起到的促进作用，也成为社会关注的焦点。

专利预警基于专利情报分析，系统地监测专利布局态势，预测国家、行业和企业等不同层面的专利风险并提出应对策略，对于支撑政府科学决策、促进行业资源整合、助力企业技术创新都具有重要的意义。

北京国之专利预警咨询中心（以下简称“国之预警中心”）隶属于国家知识产权局专利局专利审查协作北京中心，是国内首家为社会提供专利预警和应急咨询服务的专业机构。成立十多年来，国之预警中心通过专利预警研究，先后为社会各界提供了 3000 多份专利预警分析报告，在专利预警方面具有先进的理论和丰富的实践。

为满足社会对热点技术发展的关注需求，结合国家战略性新兴产业发展方向的部署，我们选择了 7 个热点技术作为研究对象，包括：汽车安全气囊、可穿戴计算设备、社交网络、作物分子标记辅助育种、储氢材料、体腔内微型机器人以及页岩气，系统分析了各个技术全球范围内的专利布局态势以及技术发展、市场竞争和产业演变状况，并揭示了技术发展中面临的专利风险，提出风险化解的策略建议。

7 个热点技术的专利预警分析研究得到了相关政府主管部门、行业组织以及企事业单位的高度关注和大力支持，成果一经发布，就在相关产业内引起了强烈反响。为了更好地满足社会各界的需求，现将 7 个热点技术的研

热点技术专利预警分析

究成果汇编后公开出版。

相信《热点技术专利预警分析》能够传播专利预警的知识和方法，发挥专利预警的价值和作用，为相关政府部门、行业和企业提供借鉴和指导。

国家知识产权局专利局专利审查协作北京中心

主任 魏保志

总 目 录

作物分子标记辅助育种分册	1
储氢材料分册	101
体腔内微型机器人分册	183
页岩气分册	279

作物分子标记辅助育种分册

作物分子标记辅助育种研究团队

一、项目指导

魏保志 曲淑君 夏国红

二、专利分析指导

王娇丽 于立彪 张 勇 任 怡 焦 健 宗 磊

三、课题组

负责人：马秋娟

成 员（排名不分先后）：刘 锋 卫 军 欧阳石文 唐 莉 于仁涛 孙 薇
蔺 娜 胡 可

四、报告撰写

撰稿人：于仁涛（主要执笔第1章，第4章，第6章）

蔺 娜（主要执笔第2章，参与执笔第1章）

胡 可（主要执笔第3章，参与执笔第1章）

孙 薇（主要执笔第5章，参与执笔第1章）

统稿人：欧阳石文 于仁涛

审稿人：马秋娟 王娇丽 焦 健

五、项目合作单位

中国作物学会

中国农科院作物科学研究所

中国农业科学院生物技术研究所

作物遗传改良国家重点实验室

农业知识产权研究中心

北京大北农科技集团股份有限公司

中国种子集团有限公司

分 目 录

摘要 / 7

第 1 章 作物分子标记辅助育种技术综述 / 8

1.1 MAS 技术原理及应用 / 8

1.1.1 MAS 技术介绍 / 8

1.1.2 MAS 育种技术在我国作物育种中的应用 / 11

1.2 国内外研究和产业概况 / 13

1.2.1 国内外研究概况 / 13

1.2.2 产业概况 / 13

1.3 展望 / 14

第 2 章 作物分子标记辅助育种专利技术现状 / 15

2.1 研究的数据样本构成 / 15

2.2 专利申请概况 / 15

2.2.1 全球专利技术及趋势分析 / 15

2.2.2 分子标记辅助育种专利技术的发展 / 16

2.2.3 主要申请国及其进入的目标申请国 / 20

2.2.4 主要申请人 / 21

2.3 本章小结 / 24

第 3 章 作物分子标记辅助育种重点分支技术专利分析 / 25

3.1 SSR 标记技术专利分析 / 25

3.1.1 申请量分析 / 25

3.1.2 技术集中度分析 / 27

3.1.3 SSR 标记技术在作物育种方面的应用 / 28

3.2 SNP 标记技术专利分析 / 32

3.2.1 全球/中国专利申请态势 / 33

3.2.2 SNP 标记技术在作物育种方面的应用 / 36

3.3 SSR、SNP 标记技术在水稻中的应用 / 39

3.3.1 SSR 技术 / 40

3.3.2 SNP 技术 / 44

3.4 本章小结 / 48

第4章 杜邦分子标记辅助育种专利分析 / 50

- 4.1 杜邦公司简史 / 50
- 4.2 育种技术发展情况分析 / 51
 - 4.2.1 基本情况 / 51
 - 4.2.2 年度申请量的变化 / 53
- 4.3 杜邦公司的专利布局 / 55
 - 4.3.1 全球专利布局情况 / 55
 - 4.3.2 植物品种上的布局 / 57
 - 4.3.3 杜邦中国战略 / 59
- 4.4 并购与合作 / 69
 - 4.4.1 杜邦公司对先锋国际种业的收购 / 70
 - 4.4.2 技术创新战略联盟 / 72
- 4.5 本章小结 / 75

第5章 孟山都分子标记辅助育种专利分析 / 76

- 5.1 专利申请量概况 / 77
- 5.2 技术发展趋势 / 79
 - 5.2.1 主要研究热点 / 79
 - 5.2.2 研发重心随时间变化的情况 / 81
- 5.3 并购历史 / 81
 - 5.3.1 扩张过程 / 81
 - 5.3.2 孟山都对迪卡公司的收购 / 83
 - 5.3.3 孟山都在中国 / 83
- 5.4 专利布局 / 85
 - 5.4.1 国际布局 / 85
 - 5.4.2 作物布局 / 86
 - 5.4.3 中国布局 / 90
- 5.5 对我国企业的启示 / 94
- 5.6 本章小结 / 95

第6章 结论和启示 / 97

- 6.1 MAS 技术现状和专利分析主要结论 / 97
- 6.2 对我国的启示 / 98
 - 6.2.1 瞄准方向把握时机 / 98
 - 6.2.2 加强对种质资源的研究利用 / 99
 - 6.2.3 合理化企业布局 / 99
 - 6.2.4 重视知识产权运用 / 99
 - 6.2.5 推进育繁推一体化 / 100

摘 要

分子标记辅助育种（MAS）是利用与目标基因紧密连锁的分子标记进行辅助选择育种的一项新型分子育种技术手段，其有效结合基因型与表型鉴定，避免选种的盲目性和不可预测性，从而能够显著提高选择的准确性和育种效率。MAS 技术受到了世界主要国家、国际农业组织、国际大型农业科技公司的重视。我国作为全球农业大国、人口大国，对于 MAS 技术也给予了充分的政策和经济上的支持。本报告在充分调研行业、企业需求的基础上，深入分析了 MAS 全球专利申请情况、技术发展趋势、研究热点；分析技术发展现状，追踪各国研发重点，并对当前的重点技术 SSR 和 SNP 技术在作物育种上的应用情况进行了分析；通过对重点企业即杜邦和孟山都相关专利信息的分析，研究其发展历程、并购历史、国际国内布局、企业合作等信息。本课题研究在指导我国育种企业的整体知识产权战略布局，引导企业根据其规模和发展定位制定差异化专利布局策略方面具有借鉴和参考意义。

关键词：分子标记辅助育种 SSR SNP 玉米 大豆 水稻 杜邦先锋 孟山都

第 1 章

作物分子标记辅助育种技术综述

1.1 MAS 技术原理及应用

1.1.1 MAS 技术介绍

遗传标记包括形态学标记、细胞学标记、生化标记与分子标记。棉花的芽黄、番茄的叶型、抗 TMV 的矮黄标记、水稻的紫色叶鞘等形态性状标记，在育种工作中曾得到一定的应用。以非整倍体、缺失、倒位、易位等染色体数目、结构变异为基础的细胞学标记，在小麦等作物的基因定位、连锁图谱构建、染色体工程以及外缘基因鉴定中起到重要的作用，但许多作物难以获得这类标记。生化标记主要是利用基因的表达产物如同工酶与贮藏蛋白，在一定程度上反映基因型差异。它们在小麦、玉米等作物遗传育种中得到应用。但是它们多态性低，且受植株发育阶段与环境条件及温度、电泳条件等影响，难以满足遗传育种工作需要。用传统的方法进行品种选育，育种时间长，周期慢，对于一个优良品种的培育往往需花费 7~8 年甚至十几年时间。如何提高选择效率，是育种工作的关键。随着植物分子生物学技术的发展和應用而诞生的分子标记辅助选择育种（MAS），可有效解决这一问题。

MAS 是利用与目标基因紧密连锁的分子标记，鉴定不同个体的基因型，从而进行辅助选择育种的一项新型分子育种技术手段。与传统育种相比，MAS 能有效结合基因型与表型鉴定，避免选种的盲目性和不可预测性，从而显著提高选择的准确性和育种效率。其主要优势体现在以下几点：①能够通过分子技术准确定位质量相关性状，提高育种效率；②对于数量相关性状，选择精确、针对性强；③安全性高，不涉及外源基因的引入，发挥种群内部遗传多态性的优势；④由于是对 DNA 的直接鉴定和选择，因此可在植物体的各个时期进行，不受环境和表达的限制，标记数量多，多态性高，遗传稳定。

MAS 技术诞生于 20 世纪 80 年代，经过近 30 年的发展，不断涌现出新的标记选择方法，一般可划分为三代技术。第一代技术主要基于核酸杂交和限制性酶切片段多态性，如限制性酶切片段多态性（RFLP）、随机扩增多态性（RAPD）、扩增片段长度多态性（AFLP）、序列特征性扩增区域标记（SCAR）、酶切扩增多态性序列（CAPS）、相关序列扩增多态性（SRAP）等；第二代技术主要基于微卫星标记（SSR），如 ISSR、随机扩增多态性（RAMP）、反转录转座子微卫星扩增多态性（REMAP）、随机微卫星扩增多态性（RMAPD）；第三代技术是基于单核苷酸多态性（SNP）。

以下针对一些重要的 MAS 技术进行介绍。^①

(1) RFLP

RFLP 发现于 20 世纪 70 年代,是最早也是应用最为广泛的一种分子标记。目前,其广泛用于植物连锁图的构建、重要农艺性状基因的分子标记等。其原理是基于植物基因组 DNA 上的碱基经替换、插入、缺失或重复等,造成某种限制性内切酶切位点的增加或丧失,从而产生限制性片段长度的多态性。对每一个 DNA/酶组合而言,所产生的片段是特异性的,它可作为某一 DNA 所特有的“指纹”。其具有共显性的特点,适于构建植物遗传图谱。其不足之处在于分析过程比较烦琐和花费昂贵,不能用于大批量杂交种的纯度鉴定;且 RFLP 必须经过 Southern 杂交,费时费力,对 DNA 多态检出的灵敏度不高。^②

(2) RAPD

RAPD 标记是用随机排列的寡聚脱氧核苷酸单链引物(长度为 10 个核苷酸),通过 PCR 扩增染色体组中的 DNA 所获得的长度不同的多态性 DNA 片段。如果基因组在特定引物结合区域发生 DNA 片段插入、缺失或碱基突变,就可能导致特定引物结合位点分布发生相应变化,导致 PCR 产物增加、缺少或分子量大小的变化。若 PCR 产物增加或缺少,则产生显性的 RAPD 标记;若 PCR 产物发生分子量变化则产生共显性的 RAPD 标记,通过电泳分析即可检测出基因组 DNA 在这些区域的多态性。RAPD 可以方便用于种质资源指纹档案建立,种内遗传多样性分析和品种纯度鉴定。因此 RAPD 也是一种潜力很大的分子标记。RAPD 方法的不足之处在于其是一种显性标记,对实验条件敏感,结果重复性和可靠性较差。

(3) SCAR 标记

SCAR 技术是在 RAPD 的基础上发展而来的,基本原理是:目标 DNA 经 RAPD 分析后,将 RAPD 多态片段克隆两端测序,根据测序结果设计长为 18~24bp 的引物,一般引物前 10 个碱基应包括原来的 RAPD 扩增所用的引物。多态性片段克隆之前首先应从凝胶上回收该片段,由于 Taq 酶可使 PCR 产物 3'末端带上 A 尾巴,人工设计的克隆载体 5'末端有一个突出的 T 碱基,这样可使 PCR 产物高效地克隆到载体上。通过 PCR 扩增,检测是否还能扩增出原来的多态性条带。这种转化成功的标记就称为 SCAR 标记。由于 SCAR 标记所用引物长,特异性扩增重复性好,可有效地用于分子育种。

(4) AFLP

它是荷兰 Keygene 公司科学家 Marc & Pieter 1993 年创造的一种 DNA 分子标记。该技术是对限制性酶切片段的选择性扩增,又称基于 PCR 的 RFLP。其通过一种酶切频率较低的酶产生有限数量的片段,然后经一种酶切频率较高的酶产生易于扩增的,且可在测序胶上能较好分离出大小合适的短 DNA 片段。AFLP 扩增数量是由酶切频率较低的限制内切酶在基因组中的酶切位点数量决定的。将酶切片段和含有与其黏性末端相同的人工接头连接,连接后的接头序列及邻近内切酶识别位点就作为以后 PCR 反应的

① 分子标记辅助选择育种 [EB/OL]. 百度文库.

② 王彤彤. 水稻分子标记辅助育种研究进展 [J]. 黑龙江农业科学, 2012 (2): 142-145.

引物结合位点,通过选择在末端上分别添加 1~3 个选择性碱基的不同引物,选择性地识别具有特异配对顺序的酶切片段与之结合,从而实现特异性扩增,最后用变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离扩增产物。这一技术结合了 RFLP 稳定性和 PCR 技术高效性的优点,不需要预先知道 DNA 序列的信息,因而可以用于任何动植物的基因组研究。其缺点在于技术难度较大,成本也较高。

(5) STS

STS 是对以特定引物序列进行 PCR 特异扩增的一类分子标记的统称。通过设计特定的引物,使其与基因组 DNA 序列中特定结合位点结合,从而可用来扩增基因组中特定区域,分析其多态性。利用特异 PCR 技术的最大优点是它产生信息非常可靠,而不像 RFLP 和 RAPD 那样存在某种模糊性。

(6) SSR

微卫星标记是一类由 2~6 个碱基组成的基序 (motif) 串联重复而成的 DNA 序列,其长度一般较短,广泛分布于基因组的不同位置。其两端的序列多是相对保守的单拷贝序列。根据微卫星 DNA 两端的单拷贝序列设计一对特异引物,利用 PCR 技术,扩增每个位点的微卫星 DNA 序列,通过电泳可分析核心序列的长度多态性。SSR 标记多态性丰富,重复性好,其标记呈共显性,分散分布于基因组中。目前,SSR 标记技术已被广泛用于遗传图谱构建、品种指纹图谱绘制及品种纯度检测,以及目标性状基因标记等领域。SSR 分析存在一定的局限性,它必须依赖每类微卫星两端序列测序设计引物,而不像 RAPD 引物是随机合成的。然而,近年来,随着公共数据库的发展,大量的 SSR 引物序列已经可以直接在公共数据库中查找到,因此 SSR 分子标记的应用越来越广泛。

(7) ISSR

ISSR 标记是在 SSR 标记的基础上开发的,通过两个相邻 SSR 区域内的引物去扩增它们中间单拷贝序列,通过电泳检测其扩增产物的多态性。引物设计采用二个核苷酸、三个核苷酸或四个核苷酸序列为基元 (motifs),以其不同重复次数再加上几个非重复的锚定碱基组成随机引物,从而保证引物与基因组 DNA 中 SSR 的 5'或 3'末端结合,通过 PCR 反应扩增两个 SSR 之间的 DNA 片段。它对填充遗传连锁图上大的不饱和区段,富集有用的理想标记具有重要意义。ISSR 的缺点在于引物的退火温度往往要在实践中反复摸索调整才能得到理想的结果。

(8) EST

EST (Expressed Sequence Tags) 即表达序列标签,是将 mRNA 反转录成 cDNA,构建成 cDNA 文库后,大规模随机挑选文库中 cDNA 克隆,对其 3'或 5'端进行单向测序所获得的一段 cDNA 序列。EST 是表达基因的窗口,它能反映 mRNA 的信息,可代表生物体某种组织或细胞在某一时间的一个表达基因。目前,EST 数据库作为基因组学与后基因组学研究的桥梁和工具,已经被广泛应用于功能基因组分析、比较基因组分析、新基因的发现、基因表达调控及基因芯片的制作等研究领域。其缺点在于稀有基因容易遗漏,相对较低丰度表达基因不易获得,出错率较高等。

(9) SNP

SNP 即单核苷酸序列多态性,是存在于基因组上的单个核苷酸变异,其数量很多,