

实用生物技术丛书

植物细胞培养技术 与应用

郭 勇 崔堂兵 谢秀祯 编著



化学工业出版社

(京)新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

植物细胞培养技术与应用/郭勇, 崔堂兵, 谢秀祯编
著. —北京: 化学工业出版社, 2003. 12
(实用生物技术丛书)
ISBN 7-5025-4974-9

I. 植… II. ①郭…②崔…③谢… III. 植物-细胞
培养 IV. Q943. 1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2003) 第 113689 号

实用生物技术丛书

植物细胞培养技术与应用

郭勇 崔堂兵 谢秀祯 编著

责任编辑: 梁虹

文字编辑: 何芳

责任校对: 蒋宇

封面设计: 郑小红

*

化学工业出版社出版发行

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京云浩印刷有限责任公司印刷

三河市宇新装订厂装订

开本 787 毫米×1092 毫米 1/16 印张 15 字数 358 千字

2004 年 1 月第 1 版 2004 年 1 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-4974-9/Q·74

定 价: 33.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

《实用生物技术丛书》编委会

编委会主任：郭 勇

编委会委员：（以姓氏笔画为序）

杨汝德 华南理工大学 教授

赵树进 广州军区广州总医院 教授，博士生导师

郭 勇 华南理工大学 教授，博士生导师

梁世中 华南理工大学 教授，博士生导师

彭志英 华南理工大学 教授，博士生导师

序

生物技术 (biotechnology) 又称为生物工程, 是生物科学与工程技术相结合而形成的新学科, 是 20 世纪后半叶迅速发展起来的新技术。

回顾 20 世纪, 生物工程迅速崛起, 已在理论与应用领域取得举世瞩目的成果, 为新物种的形成和新物质的生产开辟了崭新的途径。

展望 21 世纪, 伴随着人类基因组计划取得划时代的成果、基因组学和蛋白质组学的诞生以及生物信息学的迅速发展, 生物工程可望以更快的速度腾飞, 将在世界科技与经济的发展中起支柱与骨干的作用。

生物工程主要包括基因工程、细胞工程、酶工程和发酵工程。

一、基因工程

基因工程又称为重组 DNA 技术, 是通过人工操作, 在分子水平上进行基因重组、改造和转移, 以获得具有新的遗传特性的细胞, 合成人们所需物质的技术过程。1973 年, 科亨 (Cohen) 和波伊尔 (Boyer) 发明了克隆技术, 成功地将外源基因转入大肠杆菌细胞并得以表达, 宣告了基因工程的诞生。其后各种基因工程药物层出不穷, 转基因动物和转基因植物不断涌现, 取得了激荡人心的丰硕成果。

21 世纪基因工程的发展前沿是基因组和功能基因组的研究和开发。1990 年启动的“人类基因组计划”已经于 2003 年 4 月完成, 已经全部阐明了人类染色体 DNA 的约 30 亿对碱基的排列顺序, 接着将继续进行功能基因组的研究, 以阐明其中的 3 万多个基因的序列、位置及其功能。到时人们对疾病的诊断和治疗将在基因水平上进行, 这对提高人体素质、保障人体健康有着划时代的意义。同时还将逐步开展对其他物种的基因组研究, 这将使人们对物种的改良和对所需物质的生产提高到一个前所未有的高度。

二、细胞工程

细胞工程是在细胞水平上改变细胞的遗传特性或通过大规模细胞培养以获得人们所需物质的技术过程。1975 年, 科勒 (Kohler) 和米尔斯坦 (Milstein) 首创杂交瘤技术, 开创了细胞工程的新纪元。细胞融合技术、植物组织培养技术、植物细胞培养技术、动物体细胞克隆技术、杂交瘤细胞培养技术、干细胞培养技术等都在世界范围内发出夺目的光彩。

21 世纪细胞工程发展的重点是动植物细胞培养技术。动物细胞和植物细胞都可以如同微生物细胞那样, 在人工控制条件的生物反应器中培养, 以获得各种所需的产物。

动物细胞培养主要用于生产激素、疫苗、单克隆抗体、酶、多肽等功能性蛋白质以及皮肤、血管、心脏、大脑、肝、肾、胃、肠等组织器官。在医药工业和医学工程的发展中占有重要的地位。

植物细胞培养主要用于色素、香精、药物、酶等次级代谢物的生产。具有缩短周期、提高产率等显著特点, 不占用耕地, 并且可以不受地理环境和气候条件等的影响, 对于农业产品的工业化生产具有深远的意义。

三、酶工程

酶工程是酶的生产与应用的技术过程。即是通过人工操作, 获得人们所需的酶, 并通过各

种方法使酶发挥其催化功能的技术过程。1969年,固定化氨基酰化酶首次在工业上成功地用于氨基酸的拆分,有力地推动了酶工程的发展。其后,酶分子修饰技术,酶、细胞、原生质体固定化技术、有机介质中酶的催化技术等的发展,为酶的生产和应用开辟了崭新的途径。

21世纪酶工程的发展焦点是新酶的研究与开发应用。随着生物工程的发展,被研究和开发的新酶将越来越多,其中最令人瞩目的有核酸类酶(ribozyme),抗体酶(abzyme)和端粒酶(telomerase)等。此外,酶的优化生产和高效应用也将进一步发展到前所未有的水平。

四、发酵工程

发酵工程又称为微生物工程,是在人工控制的条件下,通过微生物的生命活动而获得人们所需物质的技术过程。1944年,青霉素液体深层发酵的成功标志着现代发酵工程时代的到来。随后各种抗生素、氨基酸、核苷酸、维生素等的发酵生产蓬勃发展,使发酵工程进入了全盛时期。

21世纪发酵工程的发展策略是利用DNA重组技术获得更加符合人们需要的优良的微生物细胞,并进行全面的代谢调节控制。由于传统的从自然界直接获得的微生物或者经过筛选、诱变得到的微生物已难以满足人们的需要,21世纪用于发酵工程的微生物大多数都是经过基因重组、改造、转移而获得的具有优良特性的工程菌。利用这些工程菌进行发酵,需要进行一系列的代谢调节控制,才能获得理想的发酵效果。故此,21世纪的发酵工程将根据代谢工程的理论对优良的工程菌进行全面的代谢调控,以获得人们需要的各种代谢产物。

由此可见,生物工程不仅对于物种的改良和进化具有极其重大的意义,而且在医药、食品、工业、农业、环保、能源等方面有重要的应用价值,将对人类的健康、长寿和世界科技、经济、社会的发展产生深远的影响。

为了加速我国生物工程的发展,使生物技术的研究成果尽快产业化,加速生物技术各个领域的应用,特组织有关专家学者编写《实用生物技术丛书》。

本丛书的编写宗旨是以实用生物技术为特色,以生物技术在医药、食品、轻工、化工、环保、能源等领域的应用为主线,理论与实际紧密结合,推动生物技术的发展 and 产业化的进程。为此,本丛书不是面面俱到地介绍各种生物技术的基本理论和基本知识,而是有重点地选择介绍一些实用性强、前景看好、与产业化关系密切的生物技术的原理、方法及其应用的最新研究进展与发展趋势。本丛书由下列各分册组成:

- 《基因克隆技术在制药中的应用》
- 《细胞融合技术与应用》
- 《植物细胞培养技术与应用》
- 《动物细胞培养技术与应用》
- 《酶的生产与应用》
- 《固态发酵技术与应用》
- 《非热杀菌技术与应用》

各分册均由有实践经验的在职专家撰写,在简明介绍基本理论和基本知识的基础上,重点阐述技术的原理和方法及其应用的最新研究进展和发展趋势。期望本丛书的出版对我国生物技术研究、开发和产业化能够起到积极的推动作用。

郭 勇

2003年5月于广州

前 言

植物细胞培养是 20 世纪 80 年代以后迅速发展起来的技术。已成为生物技术研究开发的新热点。

植物是各种色素、药物、香精和酶等天然产物的主要来源。目前已知的天然化合物超过 30 000 种，其中 80% 以上来自于植物；从植物中得到的最普遍又必不可缺的药物有 17 类，我国普遍使用的中药及其制剂 80% 以上来源于植物，美国使用的植物来源的药物每年超过 35 亿美元；天然食用色素、天然染料和天然香料绝大部分来源于植物；全世界每年使用的植物来源的芳香化合物的价值超过 20 亿美元。由此可见，植物来源的物质与人们的生活和身体健康有着极其密切的关系。

迄今为止，植物来源的物质的生产大多数采用提取分离法。即首先采集植物（栽培的或野生的），然后采用各种生化技术，将有用的物质从植物组织、器官中提取出来，再进行分离纯化，得到所需物质。例如，从红豆杉中分离紫杉醇；从鼠尾草中提取分离迷迭香酸；从紫草根中提取分离紫草宁；从玫瑰茄中提取分离花青素；从木瓜果中提取木瓜蛋白酶和木瓜凝乳蛋白酶；从人参中提取分离人参皂苷；从茉莉花中提取分离茉莉香精等。

提取分离法设备简单，但是受到原料来源的限制。由于植物的栽培和生长受到地理环境和气候条件等的影响，难于满足人们的需要。尤其是我国人多地少，野生植物资源不足，栽培条件又受到各种限制，不少植物来源的天然产物出现供不应求的情况，并呈现出越来越严重的趋势。为此，发展植物细胞培养技术，生产各种植物来源的有重要应用价值的天然产物，具有深远的意义和广阔的应用前景。

植物细胞培养的概念是 20 世纪初产生的，1902 年，哈勃兰德（Haberlandt）提出了植物细胞全能性概念，认为植物细胞具有再生成为完整植株的潜在全能性，首次提出分离植物单细胞并将其培养成植株的设想。1943 年，怀特（White）正式提出植物细胞全能性理论，认为每个植物细胞具有母株植物的全套遗传信息，具有发育成完整植株的能力。并且进行了番茄根培养研究，通过根尖培养获得了无性繁殖系。1954 年，缪尔（Muir）首次成功地进行了植物细胞的悬浮培养。100 年来，随着培养基的研制和培养技术的发展，已经从 400 多种植物中分离出细胞，不仅可以通过细胞的再分化生成完整的植株，而且可以通过细胞培养，获得 600 多种人们所需的各种物质。植物细胞培养已经建立起专门技术，形成新的学科体系。

植物细胞可以直接从植物组织、器官中通过机械切割、组织破碎或酶解方法获取，也可以通过诱导愈伤组织，再经过分散、筛选而获得，还可以通过分离原生质体，然后经过细胞壁再生的方法获得。现在国内外大多数采用诱导愈伤组织的方法获取各种所需的植物细胞。

通过上述方法获取的植物细胞往往未能满足人们的需要，必须经过筛选、诱变、原生质体融合或者基因重组等技术进行植物细胞的选育与改良，以获得符合人们要求的优良植物细胞。

植物细胞培养方法多种多样。按照培养方式的不同，可以分为固体培养、液体静止培养和液体悬浮培养等；按照培养对象的不同，主要分为愈伤组织培养、单细胞培养、原生质体

培养、固定化细胞培养、小细胞团培养等。各种培养方法的培养对象、培养目的和培养方式有所不同,要根据具体情况进行选择和使用。在培养过程中要设计或选择性能好、效率高的植物细胞反应器,设计和配制适宜的培养基,根据植物细胞的特性采用有利于细胞生长和次级代谢物产生的培养方式,控制好各种培养条件,进行培养条件优化,并根据变化情况进行适当的调节控制,以使植物细胞快速、健康、稳定地生长和进行新陈代谢。

植物细胞可以在人工控制条件的生物反应器中进行细胞悬浮培养,以生产人们所需色素、药物、香精、酶、多肽等次级代谢产物。

与从植物中提取分离这些物质相比,植物细胞悬浮培养生产次级代谢物具有提高产率、缩短周期、提高产品质量等显著特点,而且不占用耕地,不受地理环境和气候条件等的影响,对于农业产品的工业化生产具有深远的意义。

植物细胞培养在工业上的另一个重要应用是利用植物细胞进行生物转化。即通过植物细胞内生成和积累的各种酶的催化作用,将外源底物转化为药物、食品添加剂等具有较高应用价值的产物。

植物细胞生物转化具有转化率高、选择性强、副产物少等显著特点,在各种所需化合物的生产,特别是在药物的生产方面越来越受到关注。

植物细胞培养在农业方面主要用于种质保存、人工种子制备和植物的大规模快速繁殖。

植物种质的保存传统上是利用植物种子进行长期保存的,由于自然灾害、生物竞争等因素,使不少植物品种已经或正在消失;对于无性繁殖的植物,由于没有可供保存的种子,只能在田间种植保存,不仅占用耕地、费时费力,而且可能由于环境、气候、生产管理等方面因素的影响,而造成种质资源的丢失。采用植物细胞继代培养或者冷冻保存的方法进行种质保存,不仅简单方便,而且可以使植物的遗传特性得以长期稳定地保存。对于稀有植物品种、优良植物品种和新型植物品种的种质保存具有重要的意义。

人工种子是指经过多孔凝胶等载体包埋固定化的植物胚状体。胚状体可以经过愈伤组织诱导和细胞悬浮培养而获得。1958年斯特瓦德(Steward)首次成功地利用胡萝卜胚状体发育成完整的植株,此后,人工种子的研制和开发快速发展。人工种子的制备与植物常规种子的生产相比,具有不占用耕地,不受地理、气候等条件的影响,可以快速、大量地进行工业化生产,生产效率高,种质长期稳定等显著特点。对于优良品种和新型品种的迅速大规模扩大生产具有重要的意义和广阔的应用前景。

传统的植物繁殖是在田间或在温室中进行有性或无性繁殖,效率低,时间长,不利于优良品种和新品种的大规模推广应用。采用植物细胞培养技术,首先获得愈伤组织和植物细胞,然后在一定条件下进行培养,使植物细胞分化为植株。可以快速、高效地进行植物的繁殖,并且不受地理环境和气候条件的影响,还可以结合基因转移、原生质体融合等技术获得具有优良特性的植物新品种。植物快速繁殖技术已经在实际生产中得到广泛应用。

几十年来,特别是近20多年来,植物细胞培养技术及其在工业、农业等领域的应用发展迅速,已经取得不少令人瞩目的成果。

在21世纪,随着科技的发展,植物细胞培养及其应用技术将进一步发展到前所未有的水平,为人类的健康长寿和经济、社会的发展做出贡献。

本书的编写宗旨是以实用技术为特色,以植物细胞培养在医药、食品、轻工、化工、农业等领域的应用为主线,理论与实际紧密结合,推动植物细胞培养技术的发展和产业化的进程。

本书的前言、第一章、第四章、第五章由郭勇编写，第二章、第三章、第七章由崔堂兵编写，第六章由谢秀祯编写。

本书可供在医药、食品、轻工、化工、农业等领域从事植物细胞培养的研究、开发、生产与应用的科学工作者、工程技术人员、生产工作者以及高等院校生物工程、生物技术、生物科学、细胞工程、发酵工程、农学、植物资源与环境、食品科学与工程等有关专业的师生使用。

本书的出版，得到华南理工大学、化学工业出版社和国内外许多专家、学者的指导和帮助，在此表示衷心的感谢。

由于植物细胞培养技术发展很快，新的技术和方法不断涌现，加上编者水平所限，不当之处，诚请读者指正。

编著者

2003年8月

内 容 提 要

本书是《实用生物技术丛书》的组成部分。主要介绍植物细胞培养的基本理论、基本技术及其在工业上用于生产次级代谢物和进行生物转化,在农业上用于种质保存、人工种子制备、植物的快速繁殖等方面的最新研究进展及发展趋势。内容包括绪论、植物细胞的获取、植物细胞的选育与改良、植物细胞培养方法、植物细胞培养生产次级代谢物、植物细胞在生物转化方面的应用、植物细胞培养在农业方面的应用等七章。

本书可供在制药、食品、农业等领域从事植物细胞培养及其应用的科学工作者、工程技术人员以及高等院校生物技术、生物工程、生物制药等有关专业的师生使用。

目 录

第一章 绪论	1
第一节 植物细胞培养的基本概念	1
一、细胞	2
二、细胞生长与细胞周期	2
三、细胞分裂	4
四、细胞分化与脱分化	6
五、植物组织培养	7
六、植物细胞培养	7
第二节 植物细胞培养的发展概况	8
一、基础理论发展阶段	8
二、基本技术发展阶段	9
三、应用研究发展阶段	10
第三节 植物细胞培养的应用前景	11
第二章 植物细胞的获取	14
第一节 外植体的选择与预处理	14
一、外植体的选择	14
二、外植体的预处理	16
第二节 从外植体直接分离植物细胞	20
一、机械捣碎法	20
二、酶解法	20
第三节 通过愈伤组织诱导获取植物细胞	21
一、影响愈伤组织诱导的因素	21
二、愈伤组织的形成过程	23
三、愈伤组织的生长增殖过程	24
四、从愈伤组织分离得到植物细胞	25
第四节 通过原生质体再生获取植物细胞	25
一、植物细胞原生质体的分离	25
二、原生质体再生形成植物细胞	32
第三章 植物细胞的选育与改良	33
第一节 植物细胞的筛选	33
一、细胞筛选的方法	34
二、影响细胞筛选效果的因素	36
第二节 植物细胞的诱变	38
一、诱变剂	38
二、诱变的基本过程	39

三、突变细胞的主要类型和选择实例	40
第三节 植物原生质体融合	51
一、植物原生质体融合的意义	52
二、植物原生质体融合的方法	53
三、植物原生质体融合的基本过程	58
四、植物原生质体融合实例	67
第四节 植物细胞的基因重组与转移	68
一、植物细胞基因转移的方法	69
二、转基因植物细胞的筛选与检测	72
三、植物细胞基因重组与转移的应用	76
第四章 植物细胞培养方法	90
第一节 植物细胞的特性与培养方法	90
一、植物细胞的特性	90
二、植物细胞的培养方法	91
第二节 植物细胞培养基	92
一、植物细胞培养基的基本成分	92
二、植物细胞培养基的特点	94
三、几种常用的植物细胞培养基	95
四、植物细胞培养基的配制	96
第三节 愈伤组织培养	98
一、愈伤组织培养的基本过程	98
二、愈伤组织培养的条件	99
三、愈伤组织培养的应用	99
第四节 单细胞培养	100
一、植物单细胞的获得	101
二、植物单细胞的培养方法	101
三、植物单细胞培养的条件	105
第五节 单倍体细胞培养	105
一、植物单倍体细胞的获得	106
二、植物单倍体细胞的培养方法	106
三、植物单倍体细胞培养的应用	107
第六节 原生质体培养	108
一、植物原生质体的特点	108
二、植物原生质体的制备	108
三、植物原生质体的培养方法	109
四、植物原生质体培养的应用	111
第七节 固定化细胞培养	112
一、植物细胞固定化的方法	112
二、固定化植物细胞的特点	113
三、固定化植物细胞的培养方法	114

四、固定化植物细胞培养的应用·····	114
第八节 小细胞团培养·····	115
一、植物小细胞团的形成与控制·····	115
二、植物小细胞团的同步化方法·····	116
三、植物小细胞团的培养方法·····	117
四、植物小细胞团培养的应用·····	117
第五章 植物细胞培养生产次级代谢产物·····	119
第一节 植物细胞次级代谢产物的生物合成途径·····	119
一、次级代谢物生物合成的基本途径·····	120
二、生物碱的生物合成·····	123
三、香豆素的生物合成·····	126
四、类黄酮的生物合成·····	128
五、蒽醌类化合物的生物合成·····	130
六、萜类和甾体的生物合成·····	131
七、蛋白质的生物合成·····	133
第二节 植物细胞培养生产次级代谢物的工艺过程及其影响因素·····	135
一、植物细胞培养生产次级代谢物的工艺过程·····	135
二、培养基对细胞生长和次级代谢物生产的影响·····	139
三、温度对细胞生长和次级代谢物生产的影响·····	141
四、pH 值对细胞生长和次级代谢物生产的影响·····	141
五、溶解氧对细胞生长和次级代谢物生产的影响·····	142
六、光照对细胞生长和次级代谢物生产的影响·····	143
第三节 植物细胞培养动力学·····	144
一、细胞生长动力学·····	144
二、产物积累动力学·····	145
三、基质消耗动力学·····	146
第四节 植物细胞次级代谢物生物合成的调节·····	146
一、前体的调节·····	147
二、刺激剂的调节·····	147
三、基因的调节·····	147
四、酶活性的调节·····	148
五、细胞透过性的调节·····	149
第五节 植物细胞次级代谢物的提取与分离纯化·····	149
一、细胞破碎·····	149
二、次级代谢物的提取·····	152
三、沉淀分离·····	154
四、层析分离·····	156
五、萃取分离·····	165
六、结晶·····	168
七、浓缩与干燥·····	170

第六节 植物细胞生物反应器·····	171
一、机械搅拌式反应器·····	171
二、气升式反应器·····	172
三、鼓泡式反应器·····	172
四、填充床式反应器·····	172
五、流化床反应器·····	173
六、膜反应器·····	174
第六章 植物细胞培养在生物转化方面的应用·····	175
第一节 植物细胞生物转化发展概况·····	175
一、生物转化的基本概念·····	175
二、生物转化的发展沿革·····	175
三、生物转化的特点·····	176
第二节 植物细胞生物转化的主要反应类型·····	177
一、羟基化反应·····	177
二、糖基化反应·····	178
三、氧化还原反应·····	178
四、水解反应·····	179
第三节 植物细胞生物转化系统·····	179
一、悬浮细胞转化系统·····	179
二、固定化细胞转化系统·····	180
三、固定化原生质体转化系统·····	180
四、发状根转化系统·····	181
第四节 影响植物细胞生物转化的因素·····	182
一、植物细胞的影响·····	182
二、外源底物的影响·····	183
三、培养条件的影响·····	184
第五节 植物细胞生物转化的应用·····	185
一、在药物合成方面的应用·····	185
二、在食品添加剂合成方面的应用·····	190
第七章 植物细胞培养技术在农业方面的应用·····	194
第一节 植物种质的保存·····	194
一、继代培养保存·····	195
二、限制生长保存·····	195
三、超低温保存·····	197
四、植物种质保存实例·····	202
第二节 人工种子的制备·····	203
一、人工种子的概念及结构特点·····	203
二、人工种子制备的意义·····	204
三、人工种子的制备过程·····	204
四、人工种子制备中存在的问题及展望·····	210

五、人工种子制备实例	211
第三节 植物的快速繁殖	211
一、植物细胞的全能性与细胞的分化	212
二、植物快速繁殖的意义	213
三、植物快速繁殖的类型	213
四、植物快速繁殖的方法	214
五、植物快速繁殖实例	221
参考文献	223

第一章 绪 论

植物细胞培养是指从外植体获得植物细胞，然后在一定条件下进行培养，以获得大量所需的植物细胞或各种产物的技术过程。

植物细胞培养的概念是 20 世纪初产生的，1902 年，哈勃兰德（Haberlandt）提出了植物细胞全能性概念，认为植物细胞具有再生成为完整植株的潜在全能性，首次提出分离植物单细胞并将其培养成植株的设想。1943 年，怀特（White）正式提出植物细胞全能性理论，认为每个植物细胞具有母株植物的全套遗传信息，具有发育成完整植株的能力。并且进行了番茄根培养研究，通过根尖培养获得了无性繁殖系。1954 年，缪尔（Muir）首次成功地进行了植物细胞的悬浮培养。

20 世纪 80 年代以来植物细胞培养技术迅速发展，已经成为生物工程研究开发的新热点。迄今为止，已经获得 400 多种植物的细胞，不仅可以通过细胞的再分化生成完整的植株，而且可以通过细胞培养获得 600 多种人们所需的各种物质。植物细胞培养已经建立起专门技术，形成新的学科体系。

植物细胞培养主要包括植物细胞的获取、植物细胞的改良、植物细胞培养方法、植物细胞培养生产次级代谢物、植物细胞培养在生物转化方面的应用、植物细胞培养在农业方面应用等内容。

植物细胞培养按照培养方式可以分为固体培养、液体静止培养和液体悬浮培养：按照培养对象的不同，可以分为脱分化薄壁细胞（愈伤组织）培养、单细胞培养、单倍体细胞培养、原生质体培养、小细胞团培养、固定化细胞培养等。

植物细胞培养在工业上主要用于色素、药物、香精、酶等次级代谢物的生产。植物细胞悬浮培养生产次级代谢物具有提高产率、缩短周期、提高产品质量等显著特点，而且不占用耕地，不受地理环境和气候条件等的影响，对于农业产品的工业化生产具有深远的意义。

植物细胞培养在工业上的另一个重要应用是利用植物细胞进行生物转化，即通过植物细胞内生成和积累的各种酶的催化作用，将外源底物转化为具有较高应用价值的产物。该方法具有转化率高、选择性强、副产物少等显著特点，在各种所需化合物的生产，特别是在药物的生产方面越来越受到关注。

植物细胞培养在农业方面主要用于种质的保存、人工种子的制备和植物的大规模快速繁殖等。植物细胞培养具有不占用耕地，不受地理、气候等条件的影响，可以快速、大量地进行工厂化生产，生产效率高，种质长期稳定等显著特点。对于优良品种和新型品种的迅速大规模扩大生产具有重要的意义和广阔的应用前景。

随着科技的发展，植物细胞培养及其应用技术将进一步发展到前所未有的水平，将为人类的健康长寿和经济、社会的发展做出更大的贡献。

第一节 植物细胞培养的基本概念

植物细胞培养涉及细胞、细胞生长周期、细胞分裂、细胞分化、细胞培养等一系列基本

概念，在具体介绍有关植物细胞培养的各种方法及其应用之前，必须首先了解这些主要概念。

一、细胞

细胞 (cell) 是生命活动的基本单位，除了病毒以外，所有的生物体都由细胞组成。低等单细胞生物，如细菌、酵母、蓝藻等，一个细胞就组成一个个体；而高等生物，一个个体却由许多不同的细胞组成，组成高等生物的细胞按照一定的规律进行细胞分化，形成具有不同结构、形态和生理功能的细胞，并形成各种不同的组织和器官。

1. 细胞的组成

组成细胞的主要元素有碳 (C)、氢 (H)、氧 (O)、氮 (N)、磷 (P)、硫 (S) 六种，此外在细胞进行生命活动的过程中，还需要钠 (Na)、钾 (K)、钙 (Ca)、镁 (Mg)、铜 (Cu)、铁 (Fe)、锌 (Zn)、锰 (Mn)、钴 (Co)、钼 (Mo)、碘 (I)、氯 (Cl)、硼 (B) 等微量元素。所以在植物细胞培养过程中，必须在培养基中添加一定量的主要元素和微量元素。

由六种主要元素构成了组成细胞的各种有机化合物分子。其中蛋白质、核酸、多糖和脂质等分子量较大，结构较复杂，具有重要的生物功能的分子称为生物大分子，是最重要的有机化合物。此外还有各种氨基酸、核苷酸、单糖、双糖、脂肪酸等有机分子，在细胞的生命活动中有其各自的功能。

2. 细胞的分类与结构

细胞按照进化程度和结构的不同，可以分为原核细胞 (prokaryotic cell) 和真核细胞 (eukaryotic cell) 两大类。

原核细胞的结构比较简单，基本结构包括细胞壁、细胞膜和细胞质。原核细胞没有完整的细胞核，DNA 区域没有核膜包围，没有典型的染色体。由原核细胞组成的生物称为原核生物 (prokaryote)。例如细菌、放线菌、蓝藻、支原体、立克次体、衣原体等。

真核细胞的结构非常复杂，主要包括细胞膜、细胞质、细胞核三大部分。其中，细胞核有核膜包围，核内有染色质、核仁和核液，染色质主要由遗传信息的载体 DNA 和组蛋白组成，在细胞有丝分裂或减数分裂的过程中，染色质可以聚合而成染色体。由真核细胞组成的生物称为真核生物 (eukaryote)。现在存活的 150 多万种生物中，绝大多数由真核细胞组成，其中包括一些单细胞生物如酵母、原生动物等，和全部由多细胞组成的动物和植物。

细胞壁 (cell wall) 是微生物和植物细胞的外层结构，细胞壁主要由各种糖类物质组成，例如，细菌的细胞壁主要由肽多糖组成，酵母的细胞壁主要由葡聚糖组成，霉菌细胞壁的主要组分则是壳多糖、葡聚糖等，植物细胞的细胞壁主要由纤维素、果胶和半纤维素组成。动物细胞则没有细胞壁。

细胞膜 (cell membrane) 是一层柔软、有弹性的半透性薄膜，主要由双层磷脂结构组成，双分子层中镶嵌有膜蛋白。所有的细胞都有细胞膜。

细胞质 (cytoplasm) 是除了细胞核或核质体以外，由细胞膜包裹着的透明、胶状或颗粒状的所有细胞物质的总称。其主要成分包括蛋白质、核糖核酸、脂质、糖类、无机盐等。

二、细胞生长与细胞周期

细胞在一定条件下可以进行生长、增殖，以繁衍后代。

细胞的生长是细胞将吸收的营养物质转化为细胞的基本成分包括蛋白质、DNA、RNA、

多糖、脂质等的过程。

细胞的增殖是通过细胞分裂来实现的。一个细胞通过分裂形成两个子细胞，子细胞在一定条件下生长，细胞内发生了一系列的变化，经过一段时间后，按照相同的规律再进行分裂，形成新一代的细胞。如此循环往复，从而实现细胞增值。

一个细胞分裂形成的子细胞到下一次再分裂形成新一代细胞的期间，细胞的变化历程称为细胞周期（cell cycle）。

细胞周期可以分为间期（interphase）和分裂期（merism phase, M 期）两个阶段，间期又可以分为第一生长期（G₁ 期）、DNA 合成期（S 期）和第二生长期（G₂ 期），如图 1-1 所示。

1. 间期

间期（interphase）是新的细胞周期的开始阶段。这个阶段，细胞完成生长历程，主要进行遗传物质 DNA 的复制和有关 RNA、蛋白质等的合成，为细胞分裂做好准备。

细胞间期又可以分为第一个生长期（G₁ 期）、DNA 合成期（S 期）和第二生长期（G₂ 期）三个阶段。

(1) 第一生长期 第一生长期（G₁ 期）发生在 DNA 合成之前和上一次细胞分裂期之后，所以也可以称为 DNA 合成前期或细胞分裂后期。在 G₁ 期，细胞内主要进行 DNA 合成前的各种变化，如进行 DNA 聚合酶等蛋白质和某些 RNA 的合成、各种脱氧三磷酸（dNTP）底物的准备等，为 DNA 合成做好准备。不同的细胞，G₁ 期的时间长短差别很大；相同的细胞在不同的生长期内，G₁ 期的时间长短亦有所不同，一般在对数生长期，G₁ 期的时间短，而在延滞期和平衡期，则 G₁ 期的时间长。

(2) DNA 合成期 DNA 合成期（S 期）的细胞主要进行 DNA 的合成。不同细胞的 S 期持续时间相差不大。

DNA 的合成又称为 DNA 的复制，是以原有的 DNA 为模板，以四种脱氧核苷三磷酸（dATP、dGTP、dCTP、dTTP）为底物，在 DNA 聚合酶（DNA polymerase）的作用下，合成与模板相同的两个 DNA 分子的过程。

DNA 合成是通过半保留复制的方式进行的。复制时，亲代 DNA 分子间的氢键断裂，双螺旋解开，然后，以每条单链作为模板，在 DNA 聚合酶的作用下，四种脱氧核苷三磷酸按照碱基配对原则（A-T，G-C）合成两条互补的新链，形成两个与亲代 DNA 完全相同的子代 DNA 分子，如图 1-2 所示。

(3) 第二生长期 第二生长期（G₂ 期）发生在 DNA 合成之后和细胞分裂期之前，故也可以称为 DNA 合成后期或细胞分裂前期。在 G₂ 期，细胞主要进行 RNA 和各种细胞组分的合成，为细胞分裂作准备，持续时间较短。

2. 分裂期

分裂期（M 期）是细胞的分裂阶段。在 M 期，细胞完成分裂历程，由一个细胞分裂形成两个子细胞。

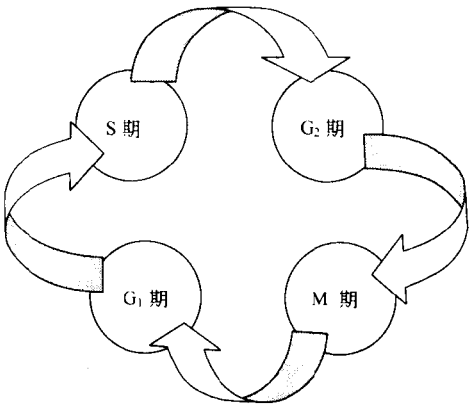


图 1-1 细胞周期

G₁ 期—第一生长期；S 期—DNA 合成期；
G₂ 期—第二生长期；M 期—分裂期