



全国农业推广专业学位研究生教育指导委员会推荐教材

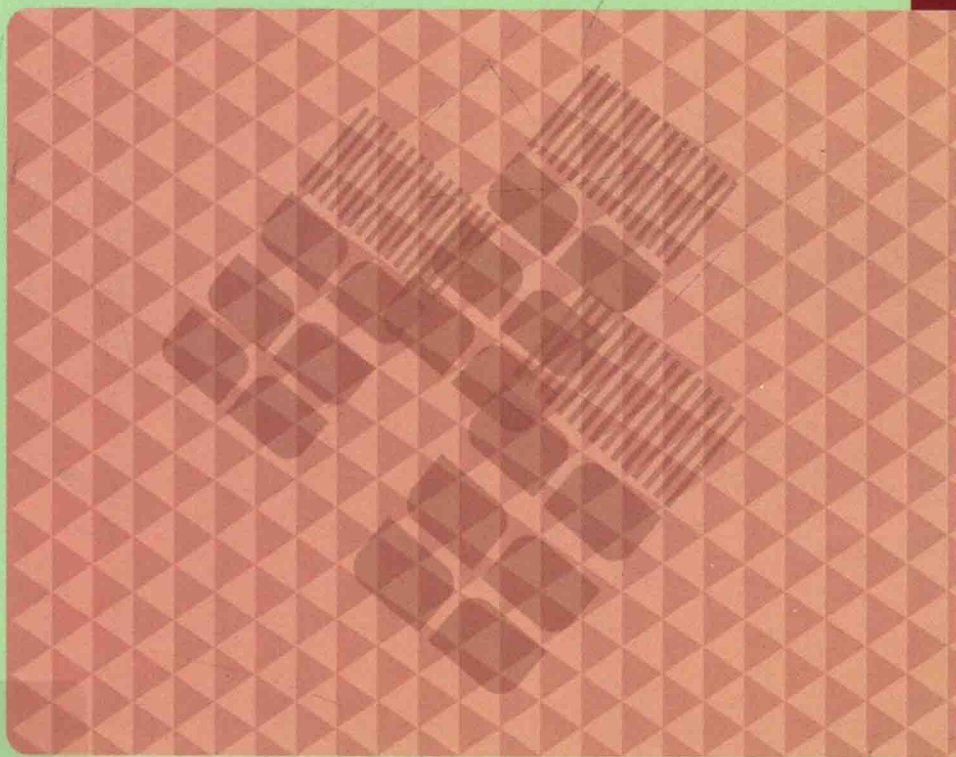


普通高等教育“十二五”规划建设教材

植物生物技术概论

Introduction of Biotechnology Applied in Plant

曹墨菊 主编



中国农业大学出版社

CHINA AGRICULTURAL UNIVERSITY PRESS

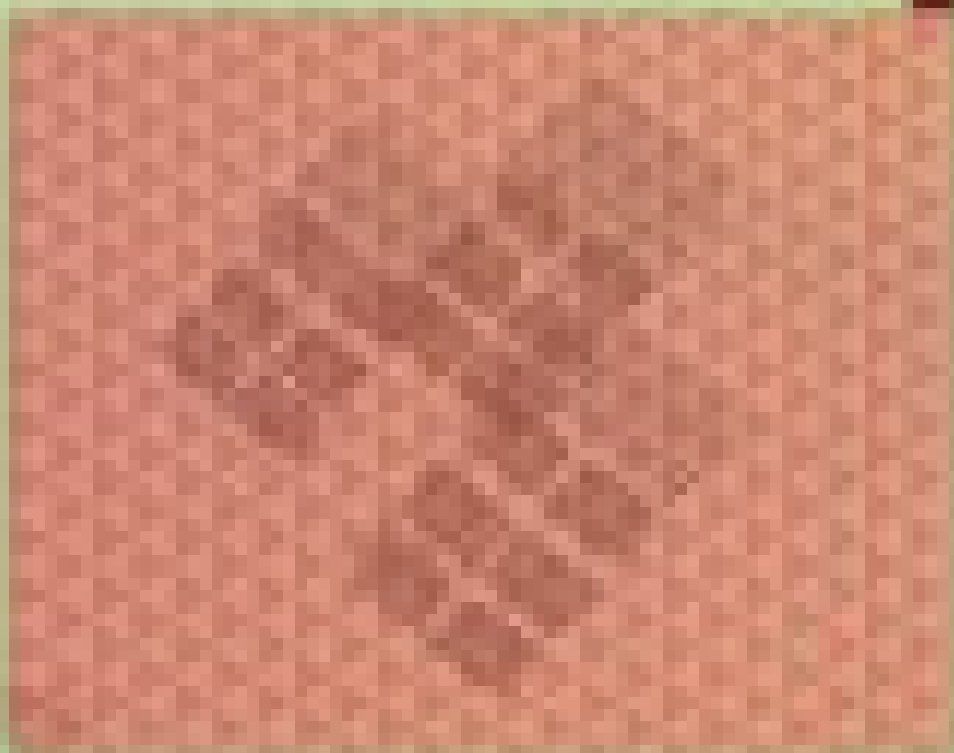
教育部批准“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材

普通高等教育“十二五”规划教材

植物生物技术概论

Introduction to Plant Biotechnology Applied to Food

曹志海 主编



中国轻工业出版社
CHINA LIGHT INDUSTRY PRESS



全国农业推广专业学位研究生教育指导委员会推荐教材

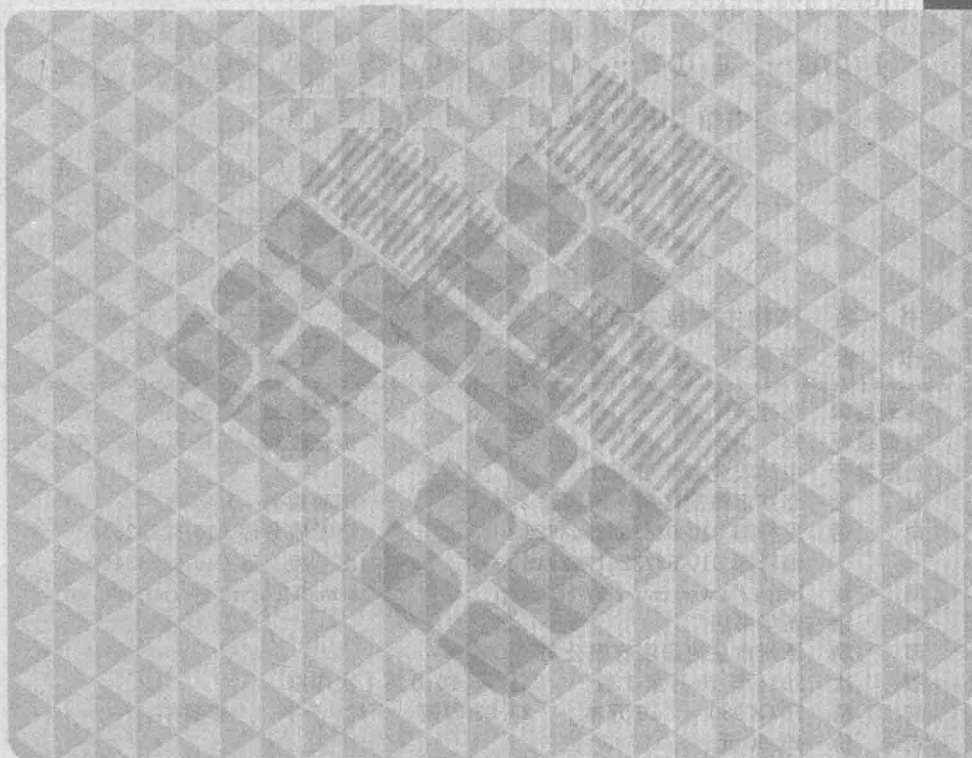


普通高等教育“十二五”规划建设教材

植物生物技术概论

Introduction of Biotechnology Applied in Plant

曹墨菊 主编



中国农业大学出版社

CHINA AGRICULTURAL UNIVERSITY PRESS

内 容 简 介

本书系统介绍了植物生物技术的有关概念、原理、研究方法及应用领域。内容涉及组织培养、单倍体育种、染色体工程、基因组学、生物信息学、分子标记技术、核酸分子操作及遗传转化等技术原理及应用。本书注重基础理论与应用的结合,图文并茂,通俗易懂。

图书在版编目(CIP)数据

植物生物技术概论/曹墨菊主编. —北京:中国农业大学出版社,2014.9
ISBN 978-7-5655-1027-4

I. ①植… II. ①曹… III. ①植物-生物工程 IV. ①Q94

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 162529 号

书 名 植物生物技术概论

作 者 曹墨菊 主编

策划编辑 张秀环

封面设计 郑 川

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

电 话 发行部 010-62818525,8625

编辑部 010-62732617,2618

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2014 年 10 月第 1 版 2014 年 10 月第 1 次印刷

规 格 787×980 16 开本 23.25 印张 425 千字 彩插 1

定 价 45.00 元

责任编辑 梁爱荣

责任校对 王晓凤 陈 莹

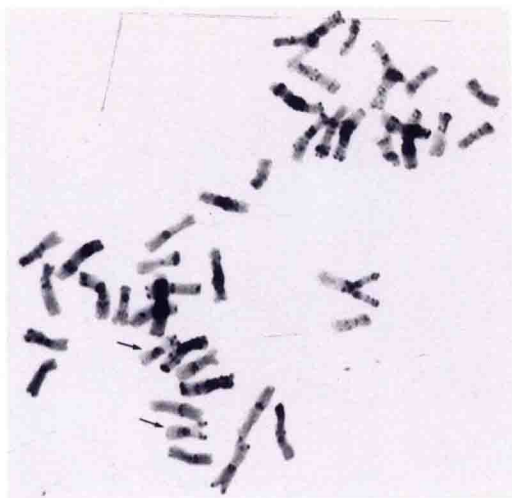
邮政编码 100193

读者服务部 010-62732336

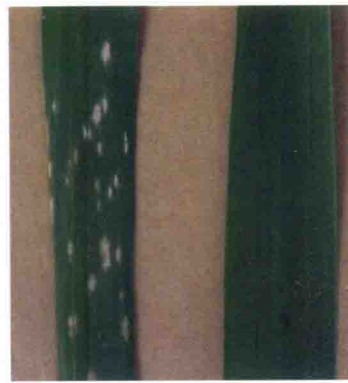
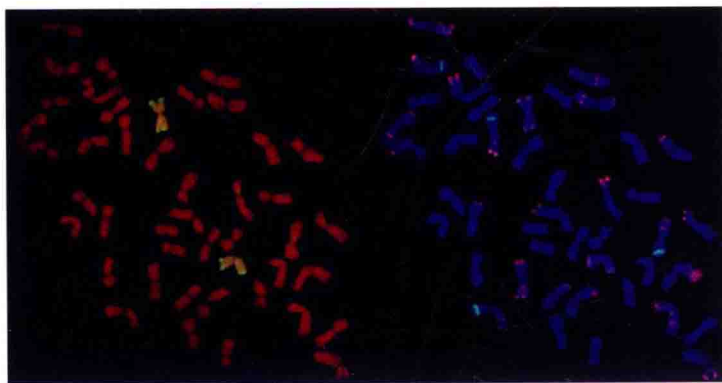
出 版 部 010-62733440

e-mail cbsszs@cau.edu.cn

图书如有质量问题本社发行部负责调换

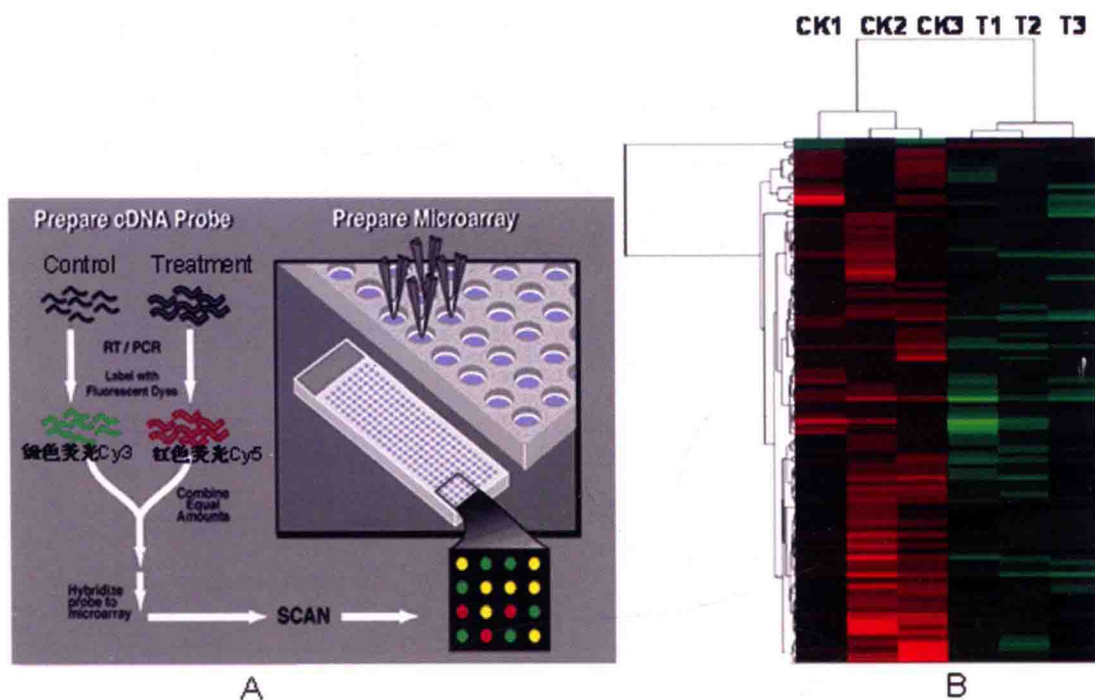


彩图 4-1 普通小麦 - 纤毛鹅观草二体异附加系染色体分带和基因组原位杂交图
箭头示 1 对添加的纤毛鹅观草染色体 (引自 Wang et al, 2001)

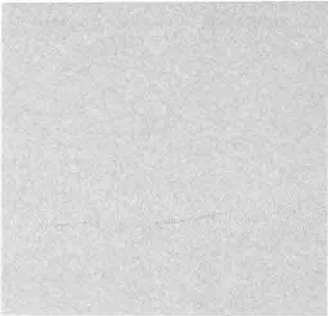


彩图 4-2 普通小麦 (W) - 簇毛麦 (V) 6V 染色体异附加系
GISH/FISH 图及白粉病抗性鉴定图

[45S rDNA (green)+pSc119.2 (red)] ($2n=42W+6V6V$),
来自簇毛麦的抗白粉病基因 *Pm21* 定位于 6V 染色体上



彩图 7-1 A. 基因芯片分析示意图, B. 芯片扫描数据聚类分析图
绿色代表基因表达下调, 红色代表基因表达上调; CK 为对照, T 为处理,
分别设置 3 个生物学重复



编 委 会

主 编 曹墨菊(四川农业大学)

副主编 卢艳丽(四川农业大学)

参 编 (按姓氏笔画排序)

王西瑶(四川农业大学)

王秀娥(南京农业大学)

王睿辉(河北农业大学)

汪 静(四川农业大学)

李立芹(四川农业大学)

唐宗祥(四川农业大学)

翟 红(中国农业大学)

前 言

生物技术作为生命科学的核心内容,在食品安全、环境保护、能源开发和医药卫生等方面发挥着重要作用。生物技术的综合发展和广泛应用,带动了一大批新兴产业的形成,对人类社会影响深远。

植物生物技术是通过研究植物遗传规律,探索植物生长发育机理,应用现代生物技术改良植物遗传性状,创造植物新种质,培育植物新品种,研发植物新产品,挖掘植物新功能的综合集成技术体系。

《植物生物技术概论》是全国农业推广专业学位研究生教育指导委员会立项的教材建设项目。该书全面系统地介绍了植物生物技术的有关理论和技术应用,可作为植物领域研究生学习用教材,也可作为其他人员学习植物生物技术的参考用书。

全书共分8章,第1章由曹墨菊编写,第2章由翟红编写,第3章由唐宗祥编写,第4章由王秀娥编写,第5章由曹墨菊、汪静编写,第6章由王睿辉编写,第7章由卢艳丽编写,第8章由王西瑶、李立芹编写。本书由曹墨菊教授统稿,并对全书的内容、结构及写作等进行了认真仔细的推敲、修改和完善。

本书作者广泛查阅、收集并借鉴了各类有关文献资料,认真撰写,经过3年的辛苦劳作,终于完成书稿。由于生物技术的发展日新月异,涉及的知识领域甚广,又限于作者的知识水平和写作能力,虽经多次修改,不断完善,反复查证,错误和不妥之处在所难免,恳请广大读者批评指正,提出宝贵意见,全体编写人员将不胜感激。本书引用了大量的文献资料和网上信息资料,限于篇幅,未能一一列出,敬请见谅,在此表示衷心的感谢。本书编写得到全国农业推广专业学位研究生教育指导委员会的立项支持,在此表示诚挚的谢意。

作 者

2013.10.31

目录

第1章 生物技术总论	1
1.1 生物技术	1
1.1.1 发酵工程	2
1.1.2 酶工程	3
1.1.3 细胞工程	3
1.1.4 基因工程	3
1.1.5 蛋白质工程	3
1.2 生物技术发展史	4
1.2.1 第一代生物技术	5
1.2.2 第二代生物技术	6
1.2.3 第三代生物技术	7
1.3 生物技术与其他学科的关系	9
1.4 生物技术的应用	10
1.4.1 生物技术与农业	11
1.4.2 生物技术与食品	13
1.4.3 生物技术与医药	13
1.4.4 生物技术与能源	14
1.4.5 生物技术与环境	15
1.5 生物技术的安全性	17
1.6 植物生物技术在农业上的应用	17
1.6.1 组织培养技术	18
1.6.2 单倍体育种技术	19
1.6.3 染色体工程技术	19
1.6.4 转基因技术	20
1.6.5 分子标记技术	20
1.7 植物生物技术的发展趋势	21
1.7.1 植物应用范畴的多元化	21
1.7.2 植物生物制品的多样化	21
1.7.3 传统农场向分子生物农场转变	22

第2章 植物组织培养技术	23
2.1 植物组织培养	23
2.1.1 植物组织培养操作技术	23
2.1.2 愈伤组织诱导	40
2.1.3 植物细胞培养	42
2.1.4 植物原生质体培养	50
2.2 植物组织培养技术的应用	60
2.2.1 体细胞无性系变异	60
2.2.2 次生代谢产物的生产	61
2.2.3 种质资源保存	64
2.2.4 植物脱毒与快繁	64
2.2.5 人工种子	65
第3章 植物单倍体育种技术	67
3.1 单倍体	67
3.1.1 单倍体育种的意义	67
3.1.2 单倍体细胞培养	68
3.2 单倍体诱导的其他途径及选择鉴定	83
3.2.1 单倍体植株的诱导	83
3.2.2 单倍体或加倍单倍体植株的鉴定	91
3.3 单倍体加倍	96
3.3.1 单倍体诱导过程中自然加倍	97
3.3.2 药剂加倍	97
3.4 单倍体育种技术的发展与应用	99
3.4.1 单倍体育种技术的发展	99
3.4.2 单倍体在育种中的应用	103
第4章 植物染色体工程技术	110
4.1 染色体组工程	111
4.1.1 同源多倍体	111
4.1.2 异源多倍体	112
4.2 整条染色体工程	114
4.2.1 染色体异附加系	114
4.2.2 染色体异代换系	121
4.3 染色体片段工程	124

4.3.1 诱导异源染色体易位的方法	124
4.3.2 异易位系的鉴定	126
4.3.3 易位系的利用	128
第5章 核酸分子操作技术	131
5.1 核酸的基本特性	131
5.2 核酸的提取	132
5.2.1 核酸提取的要求和基本步骤	132
5.2.2 植物核酸提取的常用方法	135
5.2.3 核酸的溶解和保存	138
5.2.4 核酸质量检测	138
5.3 聚合酶链式反应(PCR)	140
5.3.1 PCR技术的基本原理和特点	141
5.3.2 影响PCR反应的因素和反应条件的优化	142
5.3.3 PCR技术的发展	145
5.3.4 PCR反应常见问题	153
5.3.5 PCR技术的应用	153
5.4 核酸凝胶电泳	154
5.4.1 常用的核酸凝胶电泳	154
5.4.2 核酸电泳缓冲溶液	158
5.4.3 核酸电泳的指示剂和染色剂	159
5.5 核酸分子杂交	160
5.5.1 核酸探针的种类	161
5.5.2 核酸探针的标记	162
5.5.3 常用核酸分子杂交技术	164
5.6 核酸测序技术	169
5.6.1 第一代测序技术	169
5.6.2 第二代测序技术	172
5.6.3 第三代测序技术	174
5.6.4 测序技术的发展与展望	175
第6章 DNA分子标记技术及应用	178
6.1 遗传标记	178
6.2 DNA分子标记的类型	179
6.2.1 限制性酶切片段长度多态性(RFLP)	179

6.2.2	随机扩增多态性 DNA(RAPD)	183
6.2.3	扩增片段长度多态性(AFLP)	186
6.2.4	简单序列重复(SSR)	188
6.2.5	表达序列标签(EST)	194
6.2.6	单核苷酸多态性(SNP)	196
6.2.7	酶切扩增多态性序列标记(CAPS)	198
6.2.8	序列标签位点(STS)	200
6.2.9	序列扩增相关多态性标记(SRAP)	201
6.2.10	多样性阵列技术(DArT)	202
6.2.11	基于转座因子的标记技术	204
6.3	分子标记应用	206
6.3.1	种质资源的遗传多样性分析	207
6.3.2	指纹图谱构建及品种鉴别	208
6.3.3	遗传作图及基因/QTL 定位	211
6.3.4	外源染色质检测	212
6.3.5	分子标记辅助育种	213
第 7 章	植物基因组	217
7.1	结构基因组	217
7.1.1	遗传图谱	217
7.1.2	物理图谱	223
7.1.3	基因组测序与序列组装	229
7.1.4	基因组序列诠释	233
7.1.5	模式生物的基因组测序计划	236
7.2	比较基因组	237
7.2.1	植物基因组的基本特征	237
7.2.2	比较基因组学中常用术语	238
7.2.3	比较基因组学研究方法	239
7.2.4	比较基因组学的应用	242
7.2.5	水稻与拟南芥、人类基因组的比较研究	244
7.3	功能基因组	244
7.3.1	基因突变分析	246
7.3.2	基因表达分析	250
7.3.3	基因芯片技术	254

7.3.4 基因功能分析	256
7.4 生物信息学	259
7.4.1 生物信息的存贮与获取	260
7.4.2 生物信息学的应用	268
第8章 植物基因工程及转基因植物	271
8.1 基因工程的工具酶	271
8.1.1 限制性核酸内切酶	271
8.1.2 DNA 连接酶	276
8.1.3 DNA 聚合酶	278
8.1.4 核酸修饰酶	280
8.1.5 核酸酶	283
8.1.6 核酸外切酶	284
8.2 基因工程载体	284
8.2.1 基因工程载体应具备的条件	285
8.2.2 载体的分类	285
8.2.3 常用的基因工程载体	286
8.3 目的基因制备	294
8.3.1 化学合成法获得目的基因	295
8.3.2 PCR 技术筛选目的基因	295
8.3.3 基因文库法分离目的基因	295
8.3.4 基因芯片技术分离目的基因	297
8.3.5 mRNA 差别显示技术分离目的基因	297
8.3.6 插入突变法分离目的基因	298
8.3.7 图位克隆法分离目的基因	298
8.3.8 cDNA 末端快速扩增技术克隆目的基因	299
8.3.9 电子克隆分离目的基因	299
8.4 DNA 体外重组与遗传转化	301
8.4.1 目的基因与载体的连接	301
8.4.2 重组 DNA 分子的遗传转化和筛选	308
8.5 重组体的筛选与鉴定	310
8.5.1 遗传检测法	312
8.5.2 电泳检测法	316
8.5.3 核酸分子杂交法	317

8.5.4 免疫化学检测法	317
8.6 植物转基因受体系统的建立和遗传转化	317
8.6.1 常用的植物转基因受体系统	318
8.6.2 植物遗传转化方法	319
8.7 转基因植物中外源基因的检测	323
8.7.1 转基因植物中外源目的基因的检测	324
8.7.2 转基因植物中选择标记基因和报告基因的检测	326
8.8 转基因植物中外源基因的遗传效应	327
8.8.1 外源基因在转基因植物中的整合方式	327
8.8.2 转基因的遗传稳定性	328
8.8.3 外源基因在转基因植物中的位置效应和剂量效应	329
8.8.4 转基因植物中外源基因的沉默	329
8.8.5 提高转基因植物中外源基因表达效率的策略	329
8.9 转基因植物的应用	332
8.9.1 转基因植物发展的特点	332
8.9.2 转基因植物的应用	334
8.9.3 转基因植物应用收益	336
8.9.4 转基因植物的发展前景	337
8.10 转基因植物的安全性及其评价	338
8.10.1 转基因植物的环境安全性	338
8.10.2 转基因植物的食品安全性	338
8.10.3 转基因植物的安全性评价	339
8.10.4 转基因植物安全性保障	339
参考文献	341
缩写符号对照表	352

第1章

生物技术总论 >>>

生物技术是当今国际上最重要的高新技术之一。当今世界,各国综合国力的竞争,实际上是现代科学技术的竞争。现代生物技术被世界各国视为一种高新技术,广泛应用于农林牧渔、医药卫生、食品、化工和能源等领域,促进了传统产业的技术改造和新兴产业的形成,对人类社会生活将产生深远的革命性的影响。生物技术对于提高国力,迎接人类所面临的诸如食品、健康、环境以及经济等问题的挑战至关重要;生物技术是当前最具潜力和最富活力的关键性技术之一,生物技术每前进一步,都将对科技发展乃至人类的生命健康和经济社会发展带来深远影响。因此,很多国家把生物技术的发展放在首要位置。

1.1 生物技术

生物技术是人类对生物资源(包括动物、植物、微生物)的利用、改造并为人类提供服务的各种技术体系的总称。

生物技术是既古老又现代的应用技术。因此,通常情况下,凡是与生物系统操作有关的技术都可以称为生物技术。如利用生物的特性或功能,设计构建具有目标性状的新物种或新品系,以及与工程原理和技术相结合进行社会生产或为社会服务的综合性技术体系均为生物技术。

早期的生物技术,可以追溯到远古时代埃及人利用酵母菌酿酒。之后,利用微生物发酵技术来做发酵食品,或通过发酵来生产抗生素等,都是生物技术在生产实践中的具体应用。

生物技术具有悠久的历史,有人把生物技术的发展分为3个阶段:①第一代生物技术,是指从19世纪末到20世纪30年代以发酵产品为主干的工业微生物技术体系。②第二代生物技术,是以20世纪40年代抗菌素提取技术、50年代氨基酸发酵到60年代酶制剂工程技术为标志。③第三代生物技术,是由多种技术相互渗透而形成的综合性技术体系。以世界上第一家生物技术(genetech,遗传技术)公

司的诞生(1976年)为纪元,包括重组DNA技术、分子标记技术、核酸杂交技术、基因克隆技术、转基因技术、DNA合成技术和测序技术等。第一代生物技术以微生物发酵技术为主要特征;第二代生物技术的特征则是生物制品的初级分离与纯化;第三代生物技术的特征是多种技术相融合形成以基因工程为核心的技术群。包括:重组DNA技术及转基因技术,细胞和原生质融合技术,酶和细胞的固定化技术,植物脱毒和快繁技术,动植物细胞的大量培养技术,现代微生物发酵技术如高密度发酵、连续发酵及其他新型发酵技术等,动物胚胎工程技术,现代生物反应工程和分离工程技术,蛋白质工程技术等。由于第一代生物技术和第二代生物技术还不具备高技术的诸要素,故只能被视为传统生物技术,而第三代生物技术则被称为现代生物技术。

目前人们所说的生物技术,多是指现代生物技术,有时也称之为生物工程。它是以1973年建立的DNA重组技术为核心的一个综合技术体系,也是当前国际上优先发展的高新技术领域之一。自20世纪70年代以来,不仅发达国家,还有许多发展中国家都十分重视发展现代生物技术,把它作为国家科技发展中的一项关键技术。

21世纪是生命科学的世纪,现代生物技术已在能源、化工、海洋等领域广泛应用,形成了新兴产业,并成为全球新的经济增长点。

一般工业生产,首家企业在产品投放市场的初期可能达到100%的市场占有率,但在很短的时间内,就可能会出现第二、第三家同类型的企业,这些企业的出现将直接导致首家企业市场占有率急剧下降,企业的效益是短暂的。但生物技术经济就完全不一样,“相对于传统工业经济,生物技术经济具长期市场效益”。这种知识经济在研发后,有专利载体的保护,而且技术含量高,其他企业很难模仿,具备良好的效益和长期使用下去的可能性。因此,一旦有新生物技术被研发,就会成为企业利益争夺的焦点。

由于传统的生物技术仅仅局限在化学工程和微生物工程的领域内。故传统生物技术只能利用生物体已有的遗传性质,并不能赋予它们新的遗传特性。随着各种新技术的不断涌现和发展,赋予了现代生物技术“新”的内涵。

根据生物技术操作对象及操作技术的不同,生物技术又可分为以下五项技术工程:发酵工程,酶工程,细胞工程,基因工程和蛋白质工程。

1.1.1 发酵工程

发酵工程是指采用现代工程技术手段,利用微生物的某些特定功能,为人类生

产有用的产品,或直接把微生物应用于工业生产过程的一系列技术。发酵工程的内容包括菌种选育、培养基的配制、灭菌、接种以及扩大培养、发酵和产品的分离提纯等。

1.1.2 酶工程

酶工程是利用酶、细胞器或细胞所具有的特异催化功能,或通过对酶进行修饰改造,并借助生物反应器和工艺过程来生产人类所需产品的一系列技术。它包括酶的固定化技术、细胞的固定化技术、酶的修饰改造技术及酶反应器的设计技术。酶工程的应用,主要应用于食品工业、轻工业以及医药工业。

1.1.3 细胞工程

细胞工程是指在细胞水平上研究改造生物遗传特性,以获得具有目标性状的细胞系或生物体的一种技术体系。细胞工程以细胞为基本单位,在体外条件下进行培养繁殖;或使细胞的某些生物特性按人们的意愿发生改变,从而改良生物品种或创造新品种;或加速繁育动植物个体;或获得某种有用物质的过程。所以细胞工程包括动植物细胞的体外培养技术、细胞融合技术、细胞器移植技术、克隆技术和干细胞技术等。细胞工程是现代生物技术的重要组成部分,同时也是现代生物学研究的重要技术工具。

1.1.4 基因工程

基因工程是以分子生物学和分子遗传学为基础,于20世纪70年代诞生的一门崭新的生物技术科学。基因工程可定义为:采用类似工程设计的策略,按照人类的需要把某种生物的某个“基因”与另外一种生物的某个“基因”重新“加工”“组装”成新的基因组合,创造出新的生物。这种完全按照人的意愿,由重新组装基因到新生物体产生的生物科学技术即为基因工程。基因工程是现代生物技术的核心,也是目前生物产业发展的主攻方向。

1.1.5 蛋白质工程

蛋白质工程是指在基因工程的基础上,结合蛋白质结晶学、计算机辅助设计和蛋白质化学等多学科的基础知识,通过对基因的人工定向改造等手段,对蛋白质进行修饰、改造和拼接以生产出能满足人类需要的新型蛋白质的技术。有人将蛋白质工程称之为第二代基因工程,在目标蛋白的氨基酸序列上引入突变,从而改变目标蛋白的空间结构,最终达到改善其功能的目的。