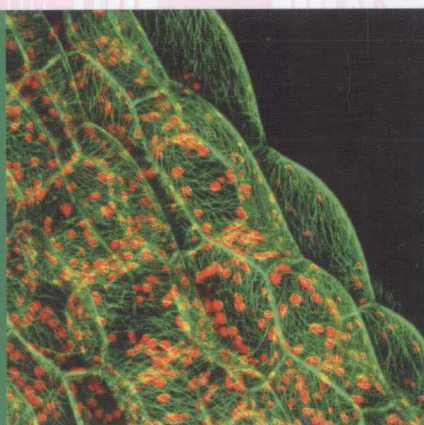




普通高等教育“十一五”国家级规划教材



植物细胞工程

第2版

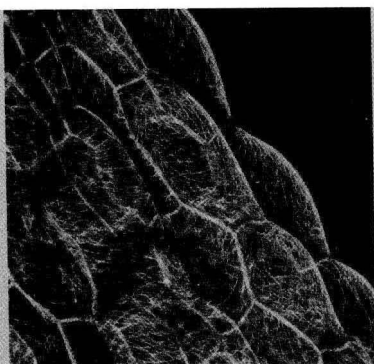
主编 柳俊 谢从华



高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS



普通高等教育“十一五”国家级



植物细胞工程

ZHIWU XIBAO GONGCHENG

第2版

主编 柳 俊 谢从华

编者 (按姓氏拼音排序)

姜 玲	华中农业大学
林拥军	华中农业大学
柳 俊	华中农业大学
司怀军	甘肃农业大学
宋波涛	华中农业大学
谢从华	华中农业大学
谢婷婷	华中农业大学
薛建平	安徽煤炭师范学院



高等教育出版社·北京
HIGHER EDUCATION PRESS BEIJING

内容简介

植物细胞工程与生命、材料、工程、信息等学科密切相关,互为促进。本书编者尝试构建起植物细胞工程学科相对系统又能反映多学科有机融合的知识体系,这一体系在第1版6年多的教学与科研实践中逐步得到更多同仁的认可,此次再版的目的之一是使其构架进一步完善。为此,特做了以下3方面的修订工作:(1)更新本领域理论与技术研究进展,以求及时反映学科进展,如在第一章中补充了细胞分化、体细胞胚形成等的进展,第二章中增加了植物离体培养遗传变异发生的细胞学和分子机制研究的新成果等;(2)调整有关章节结构,以求进一步完善本学科的知识体系,如第四章中将雄核发育途径和单倍体形成途径合并为一个问题进行讨论;(3)完善相关内容,如补充了人工合子和体内合子原生质体培养的内容,增加了植物资源的慢生长保存等内容。本次修订后,内容更加充实,也增强了实用性。

本书为普通高等教育“十一五”国家级规划教材,适用于生物科学、生物技术和生物工程专业的本科、研究生教学,也可供植物科学相关领域的研究人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

植物细胞工程 / 柳俊, 谢从华主编. —2版. —北京:

高等教育出版社, 2011. 4

ISBN 978-7-04-031793-0

I. ①植… II. ①柳… ②谢… III. ①植物-细胞工程-高等学校-教材 IV. ①Q943

中国版本图书馆CIP数据核字(2011)第027351号

策划编辑 潘超

责任编辑 孟丽

封面设计 张楠

责任印制 朱学忠

出版发行 高等教育出版社
社址 北京市西城区德外大街4号
邮政编码 100120
印刷 河北鹏盛贤印刷有限公司
开本 787×1092 1/16
印张 18.5
字数 450 000
购书热线 010-58581118
咨询电话 400-810-0598

网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landaco.com>
<http://www.landaco.com.cn>
版 次 2004年7月第1版
2011年4月第2版
印 次 2011年4月第1次印刷
定 价 29.60元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换

版权所有 侵权必究

物料号 31793-00



第2版前言

《植物细胞工程》自2004年出版以来,相继在一些高校作为生物、农学和园艺类专业的教材使用,同时受到有关专业人士的垂爱,用做科学研究的参考。教学和科研实践在肯定本书基本达到编写目的的同时,也发现了书中存在的一些错误与瑕疵,我们希望借此再版予以纠正。本书面世的六年,处于生命科学发展极为迅速的阶段,植物细胞工程学科在理论和技术上得到了进一步的丰富与提升,我们亦希望在再版中予以更新和补充。植物细胞工程与其他学科包括生命、材料、工程和信息等密切相关,互为促进。在本书编写时我们尝试构建起植物细胞工程学科相对系统又反映多学科有机融合的知识体系,这一体系在近年得到学界进一步认同,此次再版的目的之一是使其构架进一步完善,内容进一步充实。

为达成上述目标,本次再版在已建立的知识体系结构的基础上,重点进行了以下三个方面的修订工作:

一、更新植物细胞工程领域理论与技术研究进展,以求及时反映植物细胞工程学科的发展。植物细胞工程的理论基础是细胞全能性学说,细胞周期调控的分子机制研究对这一学说进行了全新的、本质的阐述。本次再版中,增加了近年植物细胞周期调控研究的最新进展,以便读者对植物细胞、器官和个体发育有更科学的理解。同样,在第一章中补充了细胞分化、体细胞胚形成等细胞学现象的分子机制研究进展;第二章中增加了植物离体培养遗传变异发生的细胞学和分子机制研究的新成果。在技术进展方面,对近年发展和改进的植物细胞操作技术进行了更新或补充,如第四章增加了植物病毒检测的多重反转录PCR技术,第五章增加了种子细胞系的超低温保存技术、新型细胞生物反应器技术以及提高细胞次生代谢产物生产量的抑制剂使用技术,第七章增加了利用流式细胞仪分离杂种细胞的技术等,以便读者对现代细胞工程技术的发展有一个全面的了解。

二、调整有关章节结构,以求进一步完善植物细胞工程学科的知识体系。有关结构调整主要涉及第四章和第六章。本版在第四章中的花药和小孢子培养内容中,将影响因素作为独立问题进行了讨论,将雄核发育途径和单倍体形成途径合并为一个问题进行讨论。第六章原生质体培养的部分内容,为提高知识介绍的逻辑性和系统性,将主要介绍“原生质体培养的细胞生理学问题”一节提到“性细胞原生质体研究进展”一节之前。本书其他章节结构在本次再版中均予保留。

三、补充完善相关内容,力求全面反映植物细胞工程研究涉及的领域。植物配子原生质体培养对细胞学、遗传学、生殖学和发育学等研究均具有重要意义,在原先介绍生殖细

胞、精细胞、卵细胞原生质体培养的基础上,根据合子培养技术的研究进展,本次再版补充了人工合子和体内合子原生质体培养的内容,使性细胞原生质体培养内容更加丰富。植物种质资源的离体保存是植物细胞工程技术应用的一个重要方面,包括常温保存、低温保存和超低温保存,根据不同的物种、资源类型和保存需要选择使用。为全面介绍离体保存的理论和技術,本次再版将第九章原“植物种质资源超低温保存”改为“植物种质资源离体保存”,并因此增加了“植物资源的慢生长保存”一节,完善和充实了植物资源离体保存的内容。同时,再版中对全书各章节处于发展中的理论和技術内容均尽作者所能进行了补充和完善,并给出相应的参考文献,以便读者参阅。

本次再版得到了各位作者的鼎力支持。为按时完成编写工作,保证再版质量,特分工如下:绪论和第三章由谢从华编写,第一章和第二章由柳俊编写,第四章由谢从华和柳俊合作编写,第五章由柳俊和谢婷婷合作编写,第六章由谢从华、柳俊和司怀军合作编写,第七章由司怀军和谢从华合作编写,第八章由柳俊和薛建平合作编写,第九章由姜玲和柳俊合作编写,第十章由林拥军和宋波涛合作编写。在此对所有作者付出的劳动与智慧表示衷心感谢!本书再版付梓还得到了学界专家学者的关心与支持,没有他们的心得和宝贵的建议,难以达成本次再版之目的。

植物细胞工程是生命科学的重要组成部分,构建和完善植物细胞工程学科的知识体系对生命科学的发展是一项基础性和战略性的工作。虽然本次再版我们在这方面作了进一步的努力,但限于自身学识,仍然感觉本书在基础理论与技術发展的衔接上需要进一步锤炼。同时,再版中错误亦恐在所难免。在此恳请各位读者、专家不吝指教,以求不断完善,促进植物细胞工程学科更好地为人类服务。

编 者

2010年12月于武昌



第1版前言

本书是国家“十五”重点规划教材，其编写目的旨在系统阐述植物细胞工程的原理和技术，同时介绍该学科领域的发展动态，以求读者能对植物细胞工程从基础理论、实验技术到发展方向有一个较全面的了解。

细胞工程是一门综合性的生物技术学科。细胞工程的研究对象是所有以细胞为基础的生物体，其研究目标是在细胞、组织和器官水平上对生物进行遗传改良，生长发育调控，或进行特殊产物的生产。由于生物的遗传、生长发育、物质代谢等是生命科学研究的基础范畴，因此，细胞工程学科的发展速度也随着分子生物学、细胞生物学、发育生物学、生理学、遗传学及其他生物类学科的飞速发展而加快，同时也与计算机科学、材料科学等应用学科的进步密切相关。细胞工程学科的发展反过来又为其他生命学科提供了桥梁和载体，促进了这些学科的发展与进步。植物细胞工程是细胞工程的主要分支，在这样一种多学科相互渗透的背景下，要建立一个相对独立而又与其他学科有机联系的植物细胞工程学科的知识体系，既是本书试图解决的重点，同时由于这是一门正处于快速发展阶段的新兴学科，因此也是本书编写过程中所一直面临的一个难点。

植物细胞工程的理论基础是细胞全能性学说，其研究技术涉及细胞器、细胞、组织和器官水平上利用工程技术原理和手段所进行的各种体外操作。因此，本书以基本原理介绍为切入点，以不同类型的技术范畴为骨架，构建成基本结构。在各章节编写时，编者力求理论阐述与技术介绍并重，使本书在作为教材使用的同时，也具备工具书的属性；注重现有技术归纳与发展趋势介绍相结合，以客观反映本学科相关领域的重点和尚待研究解决的科学问题，使之能对专业人士具有一定的参考作用；强调本学科知识的系统性与其他相关学科相辅相成的关系，以体现细胞工程作为一门综合性的技术学科所存在的多学科渗透融合的内涵，以帮助正确理解和解释本学科所涉及的科学现象。

本书由绪论和另外十章组成。绪论重点介绍了植物细胞工程的概念，发展历史及与其他学科的相互关系，论述了细胞工程在现代生物技术中的地位与作用。前三章的内容是细胞工程的基本技术和原理，相当于总论。第一章从植物细胞工程的理论基础出发，介绍了细胞全能性的概念和离体条件下器官发生的机制，从理论上认识细胞工程技术产生、发展和应用的原理。第二章重点阐述了离体条件下的遗传变异与调控，以了解和科学分析植物细胞工程技术应用过程中的生命现象，为后面介绍专门技术奠定基础。第三章是植物细胞工程研究的基本技术介绍，重点讨论了离体培养对环境和营养条件的要求等一些共性问题。因为细胞工程从广义上讲包括细胞、组织和器官培养，而细胞培养与其他培养在目的和应用的技术上都存在差异，因此第四章专门论述了主要的植物组织和器官培养技术，包

括植物茎尖分生组织培养及病毒脱除与快速繁殖、花药与花粉培养、胚胎与子房培养等。第五章至第七章分类介绍了目前研究较多、应用较广泛的主要植物细胞培养技术；包括植物细胞培养与次生代谢产物生产，植物原生质体培养和体细胞杂交等，这些是植物细胞工程技术在遗传改良和代谢调控方面取得了重要成就的领域，属于典型的单细胞培养与操作技术范畴。第八章和第九章分别介绍了细胞工程在植物人工种子生产和遗传种质保存方面的应用原理与技术，属于离体培养与其他技术综合应用的领域。作为基因工程下游技术的重要环节，植物遗传转化体系的建立从技术上说属于细胞工程的范畴，从应用上讲又是现代生物学各个领域在分子水平上从事研究工作的重要技术途径。为使读者充分了解本学科技术在遗传转化方面的应用，明确基因工程对作为转基因载体的细胞工程技术的特殊要求，第十章专门介绍了植物遗传转化受体系统的建立。

植物细胞工程的知识体系还需要不断发展和完善。为方便读者对本书所涉及的科学和技术问题进行更深入的分析与探讨，书中较详尽地列出了所引用资料的来源，其中的主要部分以参考文献形式列于书后，以便查阅。对于所涉及的专门名词，书中尽可能地附上相应的英文名称，并以中英文名词对照的形式汇总于书后。由于细胞工程技术的研究和应用目前还受到植物物种和品种的限制，本书还同时给出了所涉及的植物材料的中文和拉丁文植物学名称，且集中录于书后，以供读者参考。

本书由谢从华和柳俊主编，相关高校从事细胞工程教学和科研的中青年教师参加了本书的编写。除此之外，华中农业大学园艺林学学院蔡兴奎博士帮助进行了体细胞杂交一章中部分资料和图片的整理，博士研究生张迟参与了原生质体培养一章中部分示意图的绘制，胡建斌协助收集了有关形态发生的部分资料。同时，本书还被惠许使用了华中农业大学马铃薯实验室的有关图片资料。因此，本书的完稿是集体劳动的结果。

编写国家“十五”规划教材对于编写组来说是一个尝试与挑战，尤其是在生命科学和生物技术快速发展的今天。虽然各位同仁努力想将最新的学科进展全面而系统地介绍出来，但受知识、经验和时间的限制，恐挂一漏万；对科学现象的认识亦或木林相淆；在内容和形式上的疏漏也在所难免。我们殷请使用本书的师生和读者不吝指正，以便今后不断修改完善。

编 者

2003年7月于武昌

目 录

绪论	1	第二节 器官发生	28
第一节 细胞工程在生物技术领域中的地位	1	一、离体培养中器官发生的方式	28
一、生物技术概述	1	二、器官分化过程	29
二、细胞工程的概念及研究范畴	2	三、起始材料对器官分化的影响	31
三、细胞工程与其他相关学科的关系	2	四、激素对器官分化的调控	33
四、细胞工程在现代生物技术中的地位及其实践意义	3	五、光照对器官分化的影响	35
第二节 植物细胞工程的发展与现状	4	六、器官发生的基因调控	36
一、植物细胞工程的发展	4	第三节 体细胞胚胎发生	37
二、我国植物细胞工程的研究进展	7	一、体细胞胚的形成	38
第三节 植物细胞工程技术的类别及其应用	9	二、体细胞胚的结构与发育特点	40
一、植物细胞工程的类别	9	三、影响体细胞胚发生的因素	42
二、植物细胞工程的应用	9	四、体细胞胚胎发生的生化与分子基础	46
第一章 细胞全能性与形态发生	13	第二章 离体培养下的遗传与变异	51
第一节 细胞全能性及其表达	13	第一节 离体培养中的遗传与变异特点	51
一、细胞全能性概述	13	一、离体培养中的遗传稳定性	51
二、培养条件下的细胞脱分化	15	二、离体培养条件下遗传变异的特点	52
三、细胞分化	21	三、影响体细胞遗传与变异的因素	55
		第二节 体细胞变异的细胞遗传学基础	58
		一、DNA核内重复复制	58
		二、染色体断裂与重组	59
		三、非正常有丝分裂	60

第三节 体细胞变异的分子遗传学		第四章 植物组织和器官培养	99
基础	60	第一节 植物脱毒与快速繁殖	99
一、碱基突变	61	一、植物脱毒和快速繁殖的意义	99
二、DNA序列的选择性扩增与丢失	61	二、植物脱毒的原理和技术	101
三、转座子活化	62	三、离体繁殖	107
四、DNA甲基化	63	第二节 花药及花粉培养	111
第四节 体细胞无性系变异的诱导		一、基本概念	111
与选择	64	二、花药培养	113
一、体细胞变异诱导材料的选择	65	三、花粉及小孢子培养	116
二、培养细胞的自发变异	65	四、影响花药和花粉培养的因素	118
三、培养细胞的诱变	65	五、花药和花粉培养中单倍体植株	
四、体细胞突变体的筛选	67	形成的途径	124
五、体细胞无性系变异的利用	69	六、花粉植株的倍性及染色体加倍	127
第三章 植物细胞工程技术原理	73	七、花药和花粉培养中的白化苗	128
第一节 实验室设置	73	八、单倍体的应用	129
一、实验室组成	73	第三节 植物胚胎培养	132
二、基本设备配置	75	一、植物胚培养	132
三、培养容器与用具	78	二、子房培养	137
第二节 细胞工程的基本技术	79	三、被子植物胚乳培养	139
一、洗涤技术	79	第五章 植物细胞培养及次生	
二、灭菌技术	81	代谢产物生产	144
第三节 培养基组成及配制	82	第一节 悬浮培养	144
一、培养基成分	83	一、愈伤组织诱导	144
二、培养基配方及培养基选择	87	二、悬浮系的建立与继代培养	145
三、培养基配制	90	三、悬浮细胞的生长动态	146
第四节 外植体取材及培养条件的		四、悬浮培养细胞的同步化	147
控制	92	第二节 单细胞培养	148
一、植物材料的培养与外植体取材	93	一、平板培养	149
二、外植体灭菌	93	二、看护培养	150
三、接种培养及其培养条件的控制	95	三、微室培养	150
		四、其他单细胞培养技术	151

第三节 植物细胞的规模培养	152	第五节 原生质体培养的细胞 生理学问题	192
一、概述	152	一、逆境反应	192
二、植物细胞规模化培养体系的建立	152	二、修复机制	193
三、生物反应器类型及其特点	155	三、脱分化与细胞分裂	193
四、植物细胞规模化培养中的有关工程 技术问题	161	四、原生质体粘连	194
第四节 培养细胞的次生代谢及 产物积累	163	五、原生质体出芽	194
一、植物次生代谢产物的主要类型	163	第六节 性细胞原生质体研究进展	194
二、培养条件下的植物细胞次生代谢产物 积累的特性	165	一、花粉原生质体	195
三、提高细胞次生代谢产物产量的途径	166	二、配子原生质体	197
第六章 原生质体培养	171	第七节 原生质体培养的应用	199
第一节 原生质体研究概况	171	一、基础理论研究的实验系统	199
第二节 原生质体分离	172	二、体细胞杂交	200
一、材料的选择	172	三、作为遗传转化的受体	200
二、酶	173	四、无性系变异及突变体的筛选	201
三、渗透压稳定剂	174	五、分离细胞器的理想材料	201
四、原生质体的游离	175	第七章 植物体细胞杂交	202
五、原生质体的纯化	176	第一节 植物体细胞杂交的概念	202
六、原生质体活力的测定	177	一、植物原生质体融合技术的发展	202
第三节 原生质体培养	178	二、植物细胞杂交的类型	203
一、培养基	178	第二节 原生质体融合	205
二、原生质体培养方法	182	一、融合方法	205
三、原生质体的发育和植株再生	187	二、原生质体融合的细胞学过程	208
四、影响原生质体培养效果的因素	189	三、影响原生质体融合的因素	208
第四节 原生质体再生植株的 遗传变异	190	第三节 杂种细胞的选择和体细胞 杂种的鉴定	209
一、再生植株的倍性及染色体结构变异	191	一、原生质体的融合产物	209
二、再生植株的性状变异	191	二、杂种细胞的选择系统	209
		三、杂种植株的鉴定	213
		四、体细胞杂种的遗传特性	216

第四节 细胞质杂种	217	第四节 人工种子的发展和 应用前景	244
一、细胞质杂种的概念	217	一、微器官人工种子可能最先用于 无性繁殖植物	244
二、细胞质杂种产生的途径	217	二、人工种子可用于天然种子繁殖 后代群体变异大的植物	245
第五节 原生质体的遗传饰变	218	三、以体细胞胚为繁殖体应用的可能性 及需要注意的问题	245
一、细胞核移植	218	第九章 植物种质资源离体保存	247
二、叶绿体移植	219	第一节 概述	247
三、染色体的摄取	221	第二节 植物资源的慢生长保存	248
四、外源DNA的摄取	222	一、培养环境调节	248
五、微生物移植	222	二、培养基渗透压调节	249
第六节 体细胞杂交技术的应用	223	三、添加适当的生长抑制剂降低 生长速率	249
一、通过体细胞杂交合成新物种	223	第三节 植物资源的超低温保存	250
二、通过体细胞杂交培育作物新种质 和新品种	224	一、植物资源超低温保存概述	250
三、通过体细胞杂交转移细胞质基因 控制的性状	225	二、超低温保存原理	251
第七节 体细胞杂交研究的趋势	227	三、超低温保存方法	252
一、增强体细胞杂交目标性	227	四、影响超低温保存效果的主要因素	253
二、逐渐消除体细胞杂交的局限性	228	第四节 离体保存过程中的遗传变异 及其检测	256
三、不断改进和完善体细胞杂交 技术体系	228	第十章 植物基因转化受体系统	258
第八章 人工种子	230	第一节 植物基因转化受体系统的 条件	258
第一节 人工种子的概念	230	一、高效稳定的再生能力	258
第二节 繁殖体的类型及其生产	233	二、较高的遗传稳定性	259
一、不同类型繁殖体比较	233	三、具有稳定的外植体来源	259
二、繁殖体的生产	236	四、筛选条件的敏感性	259
第三节 人工种子包被	240	五、农杆菌敏感性	260
一、繁殖体的预处理	241		
二、繁殖体的包埋	241		
三、人工种皮的研制	243		

第二节 植物基因转化受体系统的类型 及其特性	260	第四节 受体系统常见的问题及其 解决途径	267
一、经过愈伤组织的受体系统	261	一、再生能力及其遗传稳定性	267
二、不经过愈伤组织的受体系统	261	二、培养物褐化	268
三、原生质体受体系统	262	三、再生植物玻璃化	268
四、体细胞胚受体系统	263	主要参考文献	270
五、生殖细胞受体系统	264	中英文名词对照	273
第三节 植物基因转化受体系统 的建立	264	植物学名称对照	278
一、高频再生系统的建立	264		
二、抗生素敏感性	266		
三、农杆菌敏感性实验	267		



绪 论

第一节 细胞工程在生物技术领域中的地位

一、生物技术概述

生物技术一词来自于英文复合单词biotechnology。英文前缀bio表示生物学过程的利用，而technology则表示用以解决问题或制造新产品的技术，因此生物技术的基本定义是利用生物学过程解决人类生存和发展所面临的问题。

人类利用生物学过程始于万年以前，早在公元前8000年，人类就已开始驯化动植物，马铃薯在那个时代就已开始作为食用作物栽培，这是最早的原始生物技术应用例子。19世纪法国微生物学家巴斯德揭示了发酵原理，从此开始了以微生物发酵技术为特征的近代生物技术的研究和利用。随着20世纪60年代，尤其是70年代以来人们对生命活动过程认识的不断深入，人类已开始能够利用除整个生物个体以外的更小的生物器官、组织、细胞，甚至是分子的生物学过程，这样就赋予生物技术定义的新内涵，且在发展阶段上称现在的生物技术为现代生物技术，它是在分子生物学和细胞生物学基础上结合现代工程学的方法和原理而发展起来的一门综合性科学技术，是一个复杂的由多学科相互渗透融合所形成的新型学科。

关于生物技术的定义，常因研究领域不同而有所差异。联合国《生物多样性公约》(Convention on Biological Diversity)对生物技术的定义是：“利用生物系统、活生物体或者其衍生物为特定用途而生产或改变产品或过程的任何技术应用”。多数学者认为，生物技术是以生物科学为基础，利用生物个体或生物器官、组织、细胞的特性和功能，设计构建具有预期性状的新物种或新品系(包括细胞系)，以及与工程原理相结合进行产品加工生产的综合性技术体系。由此可见，生物技术的内涵主要是：运用现代生物学理论与科学技术改造细胞的遗传物质，培育出人们需要的生物新品种；工业规模地利用现有生物体系，制备生物产品；模拟生物体系，以生物化学工程代替化学工程，制备工业产品；发展相应的科学理论与工程技术。其主要技术范畴包括：基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程及生化工程等。

现代生物技术始于20世纪70年代，由于现代生物科学的迅速发展，在分子、亚细胞、细胞、组织和个体等不同水平层次上揭示生物结构和功能的关系，从而使人们得以运用生

物理学的方法及现代工程学所开拓的新技术和新工艺,对生物体进行不同层次的设计、控制、改造或模拟,构成巨大的生产力。不仅生物技术领域的研究日新月异,其生物技术产业也可谓一日千里,成为代表21世纪发展方向、具有远大发展前景的新型产业。联合国粮食与农业组织(简称粮农组织)2010年在《发展中国家作物生物技术现状与选择》的报告中指出,当今世界经济衰退和气候变化更需要进一步强化作物改良与管理的有效性,以保障粮食安全,保护自然环境,生物技术正在和必将发挥更大的作用。据联合国粮农组织统计,2008年全球25个国家种植转基因农作物达到8亿 hm^2 (包括10个发达国家和15个发展中国家),转基因作物的种植面积较2000年增长了18倍,其中抗除草剂大豆占53%,转基因玉米占30%,转基因棉花占12%,转基因油菜占5%。除农业外,生物技术已在医药、轻工业、食品、环保、海洋及能源等多方面广泛应用。同时,一大批以生物技术为依托的新型产业也正在迅速形成。

现代生物技术的最大特征是多学科性。现代生物技术的产生和发展涉及许多学科的理论和技术进步,包括分子生物学、细胞生物学、生物化学、遗传学、微生物学、动物学、植物学及工程学、电子学和计算机科学等基础和应用学科。此外,现代生物技术的另一个特征是它的商业性。生物技术的最终目标是产品,因此,与其他学科研究不同,现代生物技术的发展在某种程度上说是由经济基础和社会要求所推动的。继基因技术公司(Genetech)1982年被正式批准生产和销售世界上第一种基因工程蛋白药物——重组胰岛素以来,人们对现代生物技术的投资热情日益高涨,进一步促进了现代生物技术的产业化进程。

二、细胞工程的概念及研究范畴

细胞工程(cell engineering)是以细胞学、遗传学、发育学及分子生物学等理论为基础,借助工程学的试验方法或技术,在细胞水平上研究改造生物遗传特性和生物学特性,以获得特定的细胞、细胞产品或新生物体的有关理论和技术方法的学科。广义的细胞工程包括所有的生物组织、器官及细胞离体操作和培养技术,狭义的细胞工程则是指细胞融合和细胞培养技术。

根据研究对象不同,细胞工程可分为动物细胞工程和植物细胞工程。动物细胞工程包括:细胞培养技术(包括组织培养和器官培养),细胞融合技术,胚胎工程技术(核移植和胚胎分割等),克隆技术(单细胞系克隆、器官克隆和个体克隆)。植物细胞工程包括:植物组织、器官培养技术,细胞培养技术,原生质体融合与培养技术,亚细胞水平的操作技术等。

三、细胞工程与其他相关学科的关系

细胞工程是生物技术的重要组成部分,细胞工程既是一门相对独立的学科,同时又与其他生物学科有着紧密的联系。

(一) 细胞工程学科的建立依赖于相关学科理论的发展

细胞工程的重要理论基础是细胞生物学、分子生物学和生物化学。可以说,没有这些

基础学科理论的指导,就不可能建立细胞工程学科。只有对生物细胞的结构、机能及发育特性等有了深入地了解,才有可能对其进行控制培养。只有在对细胞遗传物质本质具有清楚认识的前提下,才有可能对其进行定向改造。而这一切均取决于相关基础学科的发展水平。此外,现代化学工程、应用物理及电子学的理论和技术,在细胞工程实验技术体系的建立中也起到重要的指导作用。当然,从事细胞工程学领域的工作还必须具备遗传学、微生物学、动物学及植物学等基础学科的知识,因为它们是一切生物科学的基础。

(二) 为生物学研究提供新的实验体系

细胞培养技术使多细胞生物的单细胞生命活动研究成为可能,从而促进了人类对生命活动本质的认识。细胞融合和核移植等技术为人类定向改造生物遗传性状提供了有效技术途径。植物离体培养技术使人们可以在人工控制和模拟条件下对植物进行研究和改造,这不仅免除了自然环境中不可预测性因素的干扰,还可大大缩短研究周期,从而加速相关学科的研究进程。

(三) 细胞工程必须与其他生物技术相结合才能更好地发挥作用

细胞工程是一个综合性的实验技术体系,它的每一项技术均要涉及其他有关领域。因此,细胞工程的研究和利用绝不可能是单一的、孤立的。一方面它需要相关技术的协作和补充(如通过细胞培养生产有效次生代谢产物(简称次生产物),需要与生化工程相结合),另一方面它也可能是其他生物技术的一个必不可少的环节(如基因工程的下游工程基本上是属于细胞工程的范畴)。

不仅如此,细胞工程还应与传统的育种技术、相关的加工技术等相结合才能加速其应用步伐,使其更好地为人类服务。

四、细胞工程在现代生物技术中的地位及其实践意义

现代生物技术是典型的高技术密集型的综合技术体系。一个生物技术产品或技术的形成,往往需要涉及生物学、信息学和工程学等多学科领域知识和技术的应用。同时,细胞工程本身作为生物技术的重要组成部分,它在现代生物技术领域中也发挥着技术载体和桥梁的作用,是现代分子技术向产品过渡的中间链接技术,如经分子重组技术改造后的基因,必须通过细胞工程的途径,才能培养成新个体或生产新产品。

另外,细胞工程技术也可作为独立的生物技术在现代生物学研究与应用中发挥重要作用,如利用植物离体快速繁殖技术大量生产健康种苗,已在无性繁殖中获得广泛应用;离体培养中体细胞胚胎发生,已成为植物胚胎发育研究的重要试验体系等。

(一) 改善农业生产技术

“民以食为天”,粮食安全是人口持续增长的21世纪人类所必须解决的首要问题。1900年世界总人口为16亿,2000年为53亿,按目前的增长速度,到2030年将达到100亿。联合国粮农组织预测,要满足人口增长对食物的需求,2030年的粮食产量必须在现有基础上增

加一倍。然而,全球的耕地面积却在逐年减少,农业生态环境也在不断恶化。因此,如何利用有限的农业资源养活更多的人口,将是一个长期而艰巨的任务。其中最有效的方法是培育优良的农作物新品种,提高单位面积的粮食产量。而细胞工程技术能有效地利用远缘有利基因,或创造遗传变异,或作为基因工程 and 传统育种方法的桥梁,从而大大加快育种步伐,为植物育种开辟新的生物技术途径。此外,利用细胞工程技术对优良品种进行大量快速的繁殖,实行农业生产工业化,不仅能大大加快新品种的应用速度,同时还可以节约耕地、提高种子质量,这一领域已经或正在形成一个新型的高新技术产业。可以相信,这一技术必将在未来农业中发挥巨大作用。

动物细胞工程技术与植物细胞工程一样,在动物品种改良中具有广阔的应用前景,特别是与动物胚胎工程、基因工程等相结合,它将在动物品质改良、性别控制等领域实现广泛的应用,为人类提供优质高产的动物食品。

(二) 保护自然资源,维护生态平衡

在我们日常生产生活中,许多产品传统上均依赖于化学工业生产,如农药和医药等,而传统的化学工业往往带来大气及环境污染,同时消耗大量的资源和能源。以细胞工程技术为主体的新型生物工业,可以代替传统的化学工业,从而有效地保护生态环境。近年来,应用细胞工程技术生产的生物农药、天然轻化工产品 and 天然药物已有许多成功的报道,有的已投入大规模生产,如日本的紫草宁细胞工业化生产,Phyton Catalytic 公司利用红豆杉细胞培养生产紫杉醇等。Bt 等生物农药已在全球广泛应用,有效地减少了化学农药对环境 and 健康带来的负面影响。我国在人参皂苷、长春花碱 and 紫杉醇等产物的细胞生产研究中也取得长足进步。利用细胞工程生产天然产物,不仅避免了工业污染,同时减少了由于从自然资源中提取天然产物而带来的资源破坏,因而也有利于自然资源的保护。

(三) 生物医药开发

利用细胞工程技术不仅可以生产天然产物,它与基因工程相结合还可以开发制造新型的医药产品。利用动物细胞生产人类必需的各种生物活性物质,可以满足某些有相应缺陷症的患者需要。利用单克隆技术生产各种诊断试剂盒,可用于疾病的快速诊断。利用动植物作为生物反应器可以生产廉价的疫苗等,目前这一领域已成为世界各国新型医药产业的重点,美国大约每年以 15% 的幅度递增。

第二节 植物细胞工程的发展与现状

一、植物细胞工程的发展

植物细胞工程是一门以植物组织和细胞的离体操作为基础的实验性学科,对于植物细胞工程的定义,一般认为,以植物组织细胞为基本单位,在离体条件下进行培养、繁殖或

人为的精细操作,使细胞的某些生物学特性按人们的意愿发生改变,从而改良品种或创造新物种,或加速繁殖植物个体,或获得有用物质的过程统称为植物细胞工程。植物细胞工程是在植物组织培养的基础上发展起来的,因此,植物细胞工程也是广义概念上的植物组织培养。

如前所述,植物细胞工程作为一门技术学科,它是在植物组织培养技术的基础上发展和完善起来的。因此,它的发展历史实际上也就是植物组织培养的发展历史,其发展过程可以大致划分为3个阶段。

(一) 探索阶段

在这一阶段中,细胞学说的产生和细胞全能性学说的提出为组织培养技术的产生奠定理论基础。在这些理论的指导下所开展的有关试验,对组织培养技术的建立进行有益的探索。

细胞学说(cell theory)是Schleiden和Schwann分别于1838年和1839年提出的,其核心内容是,细胞是有机体,也是生物体的基本结构单位,由它构成整个生物个体。同时,植物细胞又是在生理和发育上具有潜在全能性的功能单位。随后,Schwann在1839年更明确地指出:“如果具有与有机体内一样的条件时,每个细胞应该可以独立生活和发展”,这一学说是植物组织培养的理论基础。

细胞全能性学说是德国著名植物学家G. Haberlandt在细胞学说的基础上于1902年提出的。他认为,高等植物的组织和器官可以不断分割,直到单个细胞。如果每个细胞都有植物个体一样的性质和能力,那么,可以通过植物细胞培养使单个细胞发育成为一个新个体。为了论证这一观点,Haberlandt对高等植物的叶肉细胞、髓细胞、腺毛细胞、气孔保卫细胞和表皮细胞等材料进行离体无菌培养,虽然某些细胞存活了很长时间,但始终没能发生细胞分裂和增殖。Haberlandt试验失败的原因有两点:一是取材不当,二是培养基中不含诱导激素(当时还没发现生长激素)。然而,作为植物组织培养的先驱者,Haberlandt的贡献不仅在于首次进行了离体细胞培养试验,而且在其1902年发表的“植物离体细胞培养试验”的报告中,还提出了胚囊液在组织培养中的作用和看护培养法等可行性的预见。

此后,Hanning在1904年进行萝卜和辣根菜的胚培养时,发现离体胚可以充分发育,并且提前萌发形成小苗,这是世界上胚胎培养最早获得成功的一例。1922年,Kotte和Robbins分别报道了根尖离体培养获得成功的试验。Laibach于1925年通过培养亚麻种间杂种幼胚,成功获得了种间杂种。1933年,我国的李继侗等进行银杏离体胚培养,发现3 mm以上大小的胚即可正常地生长成小植株,并发现胚乳提取物能促进银杏离体胚的生长。在这一时期,一些植物的幼胚培养获得成功,离体器官培养有了一定进展。

(二) 培养技术建立阶段

作为一门技术,它必须具有一定的程序性。也就是说,它应该具有一定的技术模式。从20世纪30年代开始至50年代末期,植物组织培养建立了两个与培养技术有关的重要模式,一是培养基模式,二是激素调控模式。它们的建立是许多科学家长期研究的结果,现将其中具有重要影响的代表人物和试验分述如下。