高二年级生物学第8课时《选修3专题2植物细胞工程（1）》拓展资源

**1.植物组织培养中的愈伤组织是如何形成及再分化的？**

植物组织培养中使用的外植体一般是高度分化了的细胞，在植物体中是不会再分裂繁殖的，只是执行某种功能直至死亡。这些细胞在培养基上培养时会由原来的分化状态，变成分生状态的细胞，分裂产生愈伤组织，这个过程称为脱分化（dedifferentiation）过程。这种转变在细胞的形态结构和生理生化上都会产生一系列变化。组织培养的研究结果表明分化细胞的脱分化需要两个条件，即创伤和外源激素。

目前人们对于脱分化过程的本质还不清楚。分化细胞在细胞周期中是处于一种相对静止状态的细胞（G0期细胞），脱分化是要打破这种状态，使细胞进入细胞周期中的G1期，并沿着G1期→S期→G2期→M期的循环进行细胞分裂，形成愈伤组织。现在发现细胞周期受基因调控，一种称为编码细胞周期依赖性激酶CDK（cycilin dependent kinase）的基因和一种细胞周期蛋白（cyclin）可能与植物细胞脱分化的第一次分裂启动有关。那么，什么因素诱导细胞周期调控基因的作用，培养实践证明与外源激素有关。至于激素如何诱导以及诱导作用的过程目前仍不清楚，有待深入研究。分化细胞脱分化后细胞结构有两点明显的变化：一是在细胞内出现液泡蛋白；二是叶绿体转变成原质体。

当细胞脱分化形成愈伤细胞后，经过一段时期的分裂，细胞群体变成不是一种细胞类型的均一群，又会产生分化，形成分生细胞或分生细胞团，由此再生成植株有两条途径：一是形成体细胞胚（功能类似于受精过程产生的胚），通过体细胞胚形成再生植株。二是走器官发生的途径再生植株，分生细胞在一定的诱导条件下重建芽的分生组织，分化出芽后再生根，成为完整的植株。

**2.植物体细胞杂交的过程是怎样的？**

体细胞杂交是克服植物有性杂交不亲和性、打破物种之间的生殖隔离、扩大遗传重组范围的一种手段。操作过程包括： 原生质体制备、原生质体融合、杂种细胞筛选、杂种细胞培养、杂种植株再生以及杂种植株鉴定等步骤。 原生质体制备是用纤维素酶、半纤维素酶和果胶酶将植物细胞壁分解掉，只留下细胞膜（质膜）包裹着细胞内含物。原生质体融合是指两个原生质体的质膜重新组合排列形成一个质膜，其中含有两个细胞核。在细胞工程中一般是诱导融合，形成的融合细胞中所含有的两个细胞核是来自不同的物种，称之为异核体（heterokaryon）。诱导融合的手段有化学诱导和物理诱导。在诱导因素的作用下形成的融合细胞进一步产生核融合，进行第一次有丝分裂。 杂种细胞的筛选方法有： ①细胞系互补的选择方法，包括叶绿素缺失互补、营养缺陷互补和抗性互补等； ②利用物理特异性差异的选择方法：这是利用两个原生质体物理特异性差异的一种选择，包括原生质体的大小、颜色、浮密度等的不同来选择； ③利用生长特异性差异的选择方法。需要注意的是上述选择方法只适合部分杂交细胞的情况，有时无法选择，就不加选择地进行培养和再生成植株，然后对再生植株的杂种性状进行鉴定。 杂种细胞培养方法与原生质体的培养方法相似。 体细胞杂种的鉴定方法有： ①形态学鉴定。利用杂种植株与双亲在表现型上的差异进行比较分析，如叶片大小与形状，花的形状与颜色、叶脉、叶柄、花梗及表皮毛有无等； ②细胞学鉴定。杂种植株细胞中的染色体数目是否比任何一方亲本细胞中的染色体数目增多？理论上讲如果染色体不丢失，杂种细胞中染色体数目应为双亲染色体数目之和。也可以用基因组原位杂交的分子细胞学方法进行鉴定； ③同功酶鉴定。同功酶是功能相同的酶的多重分子形态，它们是特异基因的产物。杂种细胞中的同功酶谱一般是双亲酶谱之和，但有时也会出现双亲没有的新带； ④分子生物学鉴定。常用的方法有限制性片段长度多态性（RFLP）、随机扩增多态性（RAPD）和扩增片段长度多态性（AFLP）等。 值得注意的是体细胞杂交尚存在一些问题： ①亲缘关系越远，染色体排斥丢失的现象就越严重； ②由于是两个物种的全部遗传物质的合并，各种基因都在其中，选择符合需要的个体难度大； ③有时缺乏选择杂种细胞的有效方法。因此目前整体对称融合的工作比较少，而是采用非对称融合，即一方亲本包括了全部遗传物质，另一方亲本只取一部分遗7a6431333332636335传物质，如用不具有核的原生质体与之进行融合。

**3.对称融合与非对称融合**

细胞融合在植物上可以克服有性杂交的不亲和性，打破物种之间的生殖隔离，是扩大遗传重组范围的一种有效手段，也称之为体细胞杂交，由此再生出来的植株是体细胞杂种。

进行细胞融合的方式有两种：一是将两个物种的细胞除去细胞壁后，将完整的原生质体融合在一起。在融合的细胞中含有两个细胞核和两种细胞质，这种融合方式叫做对称融合（symmetric fusion）。对称融合往往由于细胞核分裂不同步而产生染色体排斥丢失，同时也由于两个物种的全套基因组合在一起，好坏基因共处于一个杂种中，往往需要多次回交才能除去杂种中的不利基因，耗时长，效率低。为了较好的解决对称融合所带来的问题，产生了另外一种融合方式──非对称融合（asymmetric fusion）。非对称融合是指融合双方的亲本一方为完整的原生质体（包括细胞核和细胞质），而另一方只有部分染色体和细胞质，或者无染色体只有细胞质。这种融合方式可以较好的减少不利基因的重组，所得杂种只需要数次回交就可以达到改良作物的目的，耗时短，效率较高。除去染色体的方法可以用γ射线、χ射线、紫外线等物理方法，也可以用纺锤毒素等化学方法。