

叶绿体基因工程的研究进展

桂腾琴^{1, 2, 3}, 孙敏^{2, 3*} (1. 黔东南民族师范高等专科学校化学生物系, 贵州兴义 562400; 2. 西南大学生命科学学院, 重庆 400715; 3. 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400715)

摘要 介绍了叶绿体基因工程的特点、叶绿体转化方法、转化中存在的问题及解决策略以及前景展望等, 重点阐述了叶绿体基因工程的研究新进展。

关键词 叶绿体基因工程; 叶绿体转化; 同质化

中图分类号 S188 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)08-03429-03

Progress of Studies on Chloroplast Genetic Engineering

GUI Teng-qin et al (Department of Chemistry & Biology, Southwest Guizhou Teachers College for Nationalities, Xingyi, Guizhou 562400)

Abstract This paper aimed to review the characteristics, methods, some questions, solving strategies and the prospect of the chloroplast genetic engineering. Research progress of chloroplast genetic engineering was elaborated as a key point.

Key words Chloroplast genetic engineering; Chloroplast transformation; Homogenization

叶绿体普遍存在于陆地植物、藻类和部分原生物中, 是细胞内具有自主遗传信息的重要细胞器。1988年, Boynton等首次对衣藻叶绿体成功进行遗传转化, 标志着叶绿体基因工程的开始^[1]。在此后的近20年中, 叶绿体基因工程发展十分迅速。许多物种如烟草^[2]、拟南芥、马铃薯、番茄、油菜、胡萝卜、大豆和莴苣^[3]等的叶绿体转化都获得了成功。目前, 叶绿体基因工程已经成为基础研究和应用领域一门独特的转基因新技术。

1 叶绿体基因工程的特点

1.1 叶绿体简介 叶绿体是绿色植物进行光合作用的重要细胞器, 同时也是一个半自主性的细胞器, 含有自身的DNA和蛋白质合成体系, 能进行自我复制。大部分叶绿体DNA都是共价闭合的双链环状分子, 少数为线状分子。叶绿体DNA分子一般长120~160 kb。叶绿体基因组不仅比核基因组小得多, 就连大肠杆菌基因组也比它大出10~20倍, 这无疑给叶绿体基因的克隆与遗传操作带来了许多方便。另外, 大多数植物的叶绿体DNA都有一个突出的特点, 即环状DNA分子上均存在2个反向重复序列(Inverted repeat sequence) IR_A和IR_B, 2个反向重复序列之间有一个大单拷贝区(Large single-copy region, LSC)和一个小单拷贝区(Small single-copy region, SSC)。不同物种叶绿体基因组大小不同, 这些不同主要表现在IR区域的长度和方向变化上, 其次是SSC。豌豆和蚕豆等植物的叶绿体DNA中无反向重复序列^[4]。

1.2 叶绿体作为基因工程受体的优点 叶绿体基因工程同细胞核转化相比, 具有以下优点: 高效表达目的基因; 可实现外源基因的定点整合, 避免位置效应和基因沉默; 遗传表达具有原核性; 安全性好, 叶绿体属于母系遗传, 后代材料稳定; 目的基因产物对植物的影响小。

2 外源基因导入叶绿体的方法

目前, 叶绿体转化方法主要有: 基因枪法、显微注射法、PEG法、花粉管导入法和电融合法等, 除基因枪法外, 其余几种方法转化效率很低, 基因枪法因其转化频率高, 安全性好,

而成为最成功的叶绿体遗传转化方法。但价格昂贵, 一般实验室很难具备。因此, 通过离体叶绿体转化和细胞融合技术实现植物的转化, 因其价廉、简单可行而成为可能。

3 叶绿体基因工程的研究进展

1984年世界上第一株转基因植物诞生的同时, 人们开始探讨与尝试外源基因在植物叶绿体中表达的可能性。最早有关叶绿体转化的报道是离体叶绿体的转化, 1987年基因枪转化法确立使植物叶绿体转化成为可能。1988年 Boynton等首次成功地利用基因枪法, 用带有 *atpB* 野生型基因的叶绿体DNA直接轰击3个含 *atpB* 突变型基因的衣藻细胞, 使其完全恢复了光合能力, 标志着叶绿体基因工程的开始^[1]; 1990年, Svab等首次在高等模式植物烟草叶绿体中使外源基因获得瞬间表达, 但该试验中, 150次轰击只得到3个叶绿体转化株^[2]。在随后的改进试验中, Svab等用已在衣藻中成功应用的筛选标记基因 *aadA* 基因应用于烟草中, 烟草叶绿体转化效率提高了100倍左右^[5]。

虽然烟草叶绿体转化技术在之后的发展中日趋成熟, 但该技术在新物种中的应用并不顺利, 直到2000年前后, 才在拟南芥^[6]、马铃薯^[7]、番茄^[8]等植物中相继实现质体的转化和同质化。如 Sidorov 等用 GFP 作为可视性的选择标记, 得到高效表达的马铃薯叶绿体转基因植株。Ruf 等建立了一个良好的番茄叶绿体基因组转化体系, 使得外源蛋白基因在果实的特化叶绿体有色体内大量表达。此外, 在水稻、油菜等植物中, 虽没有解决转基因叶绿体的同质化或培育正常可育转基因植株等, 但也取得了一些突破性进展。利用多基因工程(Multigene engineering)生产出富含维他命A原(β -胡萝卜素)的水稻称为金水稻, 水稻种子中含有丰富的维他命A原, 将来可治疗该类营养成分缺失引起的疾病。维他命A原是在质体上合成, 因此通常采用将核转化基因表达的肽转运到质体中合成蛋白。2004年开始, 用体细胞胚作为外植体的叶绿体转基因方法在胡萝卜^[9]、大豆^[10]和莴苣^[11]中取得了突破, 掀起了植物叶绿体基因工程的新高潮。现对叶绿体基因工程在生产医用蛋白、在植物耐性和光合调控等方面的研究进展作一综述。

3.1 叶绿体基因工程在生产医用蛋白上的进展 许多例子证明, 叶绿体基因工程生产的大多数蛋白质可完成二硫键交

作者简介 桂腾琴(1977-), 女, 贵州兴义人, 硕士, 讲师, 从事植物生物技术研究。*通讯作者, 教授, 博士生导师。

收稿日期 2008-12-31

联、正确折叠等后转录修饰,具有正确的空间构象和生物活性,为商业化生产医用蛋白奠定了基础。Staub 等将人的生长素基因导入烟草叶绿体基因组中,转基因烟草表达出的人生长素比核系统高 300 倍,具有正常的生物学活性^[12]。胰岛素生长因子(IGF-1)不仅可引发神经蛋白质反应,促进骨的愈合,而且在调节肌肉生长和其他组织生长方面具有医疗价值。2004 年 Daniell 等将 IGF-1 基因转入烟草叶绿体中,得到成熟的 IGF-1,表达量占可溶蛋白的 32%,重要的是在叶绿体内 IGF-1 可以形成正确的二硫键,而在大肠杆菌内不能形成^[13]。 γ 干扰素能抑制病毒在细胞内的增殖,加强巨噬细胞的吞噬作用和对癌细胞的杀伤作用。Leelavathi 等于 2003 年尝试将编码干扰素 γ 的 IFN-g 基因转入烟草叶绿体中,结果表达量占可溶蛋白的 0.1%,是核转基因植物的 100 倍。为进一步提高表达水平,他们将 IFN-g 与 GUS 基因融合后进行叶绿体转化,IFN-g 与 GUS 融合蛋白的表达水平是单独表达 IFN-g 的 60 倍^[14]。Liz 等将乙肝表面抗原的基因转入马铃薯叶绿体基因组中,用转基因马铃薯块茎喂养小鼠,发现小鼠对 HbsAg 产生抗性^[15]。Molinua 等将 2L21 多肽与霍乱毒素 B 以融合的形式导入烟草叶绿体基因组。试验证明,转基因植物的叶片提取物能够对鼠和兔产生抗体^[16]。这是通过叶绿体基因工程表达动物疫苗的首例报道。此外,人血清蛋白、人白细胞介素等也相继在叶绿体中得到高效表达。

在生产可食疫苗或口服疫苗方面,Ruf 等用 *aadA* 基因转化番茄叶绿体,在果实中有高达 0.5% 的茶多糖(TSP)蛋白质积累,证明了叶绿体转化在食用疫苗生产中应用的可行性^[8]。Kumar 等将三甲铵乙内酯乙醛脱氢酶基因(BADH)转入胡萝卜体细胞胚胎中,用培养的转基因愈伤组织表达 BADH,与没有基因转化的细胞相比,浓度 100 mmol/L NaCl 使转基因胡萝卜细胞中 BADH 的酶活性提高了 7 倍。经检测转质体胡萝卜组培的细胞,根和叶都表现出高耐盐性^[9]。由于胡萝卜体细胞胚胎来自于单个细胞、细胞分裂速度快,携带治疗性蛋白的胡萝卜细胞不需烹饪等特点,因此,胡萝卜是生产药用蛋白和疫苗的理想材料。

3.2 叶绿体基因工程在植物耐性方面的研究

3.2.1 抗除草剂。多数除草剂都是通过抑制叶绿体中光合作用酶来杀灭植物的,当叶绿体中大量积累某种除草剂作用的酶时,可以提高植物对这种除草剂的抗性。Daniell 等首次将抗除草剂基因 *EPSPS* 转入烟草叶绿体,获得的转化体对除草剂的抵抗力提高 10 倍,且不会出现“基因逃逸”现象^[17]。随后,张中林等和 Lutz 等将除草剂抗性基因 *bar* 转入烟草叶绿体中,其表达比传统的核基因表达高,且转化植株对草甘膦(Phosphinothricin, PPT)具有抗性^[18-19]。

3.2.2 耐旱性。Lee 将酵母的海藻糖磷酸合酶基因(*TPS1*)分别转入烟草叶绿体和核基因组中,以改善烟草的耐旱性。结果显示,在烟草叶绿体中表达的 *TPS1* 酶的活性比植物核基因组的高且植株能正常生长,而转入核基因组的植株发育不良和不育^[20]。

3.2.3 抗虫性。Mcbride 等将苏云金芽胞杆菌(Bt)毒蛋白基因和启动子 *P_{rrn}* 的嵌合基因导入烟草叶绿体,得到毒蛋白占原可溶性蛋白的 3%~5%,该表达量比植物核基因组的最

高表达量高出 50 倍,这为叶绿体作为生物反应器奠定了基础^[21]。Kota 等将 Bt *cry2Aa2* 基因转入烟草叶绿体,发现毒蛋白在烟草中的表达量很高,转基因烟草对具有 330~390 倍 *Cry2Aa2* 抗性的烟青虫、棉铃虫和甜菜蛾表现出 100% 的毒杀作用^[22],为解决农业害虫逐渐对 Bt 蛋白产生抗性从而导致其失效这一难题提供一条可行途径。随后,张中林等将 Bt 晶体毒蛋白基因转入烟草叶绿体中,并在烟草叶绿体中表达。侯丙凯等构建了用于油菜叶绿体转化的载体 pNRAB 和苏宁等利用基因枪法获得双价抗虫基因的叶绿体转基因烟草,具有显著的杀虫性,这些说明 Bt 基因的叶绿体表达可以提高植物的抗虫性。

3.3 叶绿体基因工程对农作物代谢途径的改造 叶绿体基因工程应用的另一个有效的方法是通过引入外源基因来改变生化反应途径,引起代谢产物向设计者期待的方向变化。

叶绿体中类胡萝卜素生物合成途径的改造是一个重要的领域。Susanne 等将细菌编码的八氢番茄红素脱氢酶(Pds)的 *CrtI* 基因引入番茄中,大大提高了 β 类胡萝卜素在番茄果实中的含量,比正常值高出约 3 倍^[23]。另外,Varda 等^[24]从一种鞭毛藻中提取编码 β 类胡萝卜素酮酶的 cDNA,从番茄中提取 Pds 启动子,共同转入烟草叶绿体中。结果改变了烟草叶绿体中类胡萝卜素生物合成途径,获得较高商业价值的变胞藻红素(Astaxanthin)。在其他作物上该类研究也正在大力展开,并取得不小的成果。

另一个重要的领域是对光合作用的改造,叶绿体的主要功能是进行光合作用。在光合作用中起固定 CO_2 作用的关键酶核酮糖二磷酸缩合酶(Rubisco)对光合作用的效率起主要的影响,植物光合效率取决于 Rubisco 的丰富度。通过叶绿体转化,改变或替换与光合作用调控有关的基因,可提高作物的光合效率,提高产量。Kanevski 等将向日葵的 *rbcl* 基因转入烟草叶绿体中,以取代烟草自身的 *rbcl*,发现在转基因烟草中由向日葵的 Rubisco 大亚基和烟草的 Rubisco 小亚基构成完整而具有活性的酶,这项工作为优化 Rubisco 的结构,提高光合性能奠定了基础^[25]。目前全球有很多研究群体都在致力提高光合效率,虽然还没有一个试验能够产生好的 Rubisco,但是这些试验数据却提供了 Rubisco 的重要机能和调控过程。拟南芥和水稻的定点整合试验取得了重大突破,证明叶绿体基因工程是生产高光合效率作物最有价值的方法。

4 叶绿体基因工程中存在的问题及解决对策

4.1 叶绿体转化的同质化问题 同质化问题是叶绿体转化所面临的一个关键问题。由于高等植物的每个细胞中有 10~100 个叶绿体,每个叶绿体内有 10~100 个叶绿体基因组拷贝,因此转化的叶绿体和未转化的野生型叶绿体同时存在于转基因植株中,这种杂合体在遗传上是不稳定的。在转化外源基因之前,目前可采用降低叶绿体拷贝数、高筛选压和选用致死突变体作为外源基因的受体等方法是转基因植株易于同质化。获得同质化最常用、最有效的方法是在一定的筛选压力下进行多代筛选。在这一过程中,筛选标记基因的选择起着非常重要的作用。目前叶绿体转化中常用的选择标记大多为抗生素选择标记,在烟草叶绿体转化中所用到的十

分有效的选择标记基因是壮观霉素基因 (*aadA*), 虽然该选择标记对许多植物的遗传转化都有效, 但禾本科植物对 *aadA* 具有天然抗性, 使得该选择标记无法应用于一些重要的禾本科粮食作物, 另外, 抗生素抗性基因对人类存在潜在的威胁。因此, 非抗生素选择标记如菠菜的甜菜碱醛脱氢酶基因 (*BADH*) 和选择标记的删除体系的研究已取得了一定的进展。非抗生素选择标记方法的应用不仅避免了导入抗性基因, 还消除了抗生素等物质对植物组织生长的不利影响, 使叶绿体基因工程产生的转基因作物更加“绿色”。

4.2 叶绿体基因的表达调控机制有待弄清 外源基因在叶绿体中表达的水平比核转基因植物高出几十倍至几百倍, 但是, 不同蛋白表达水平差异很大。为了使外源基因在叶绿体中高效表达, 在构建载体时一般选用叶绿体来源的启动子和终止子。常用的启动子为叶绿体 16S rRNA 基因的启动子 *Prrn* 和光系统II作用中心的启动子 *PpsbA*; 常用的终止子为 *psaA* 基因的终止子 *TpsbA* 和 *rps16* 基因的终止子 *Trps16*, 可以保证外源基因在叶绿体中正常表达。叶绿体转基因主要在 5' PL (启动子和前导序列) 和 3'-T 盒 (终止子) 中表达。PL 盒包括启动子和翻译控制序列。翻译控制序列是 mRNA 5' - 翻译控制区 (5' - translation control region, TCR) 或 5' - 非翻译区 (5' - untranslated region, UTR), TCR 包括 5' - UTR 和编码 N-末端部分。5' - UTR 包括一个颈环结构, 颈环结构是 mRNA 稳定和促进 mRNA 结合到核糖体上的序列所必需的。T 盒编码 mRNA 3' - UTR, 3' - UTR 也包括一个颈环结构, 也是 mRNA 稳定所必需的。研究表明, 5' - UTR 对于蛋白质积累非常重要。蛋白质通过 mRNA 被编码, 相同蛋白质的表达水平在一个表达盒中很高, 而在另一个盒中则很低。因此, 为得到高效而稳定的蛋白表达水平, 应该加强对叶绿体基因表达和调控机制的研究。

4.3 植物种类的扩展 叶绿体基因工程只在少数的几种植物中获得成功, 大部分研究仅在烟草中进行的, Kota 等认为, 限制高等植物叶绿体转化的主要瓶颈是大多数植物的叶绿体基因组序列不清楚, 因此无法确定用于载体构建的同源重组片段和外源基因的插入位点。这种仅基于烟草的研究成果其适用性还值得商榷, 在新的植物种类中推广这项技术仍是当前和今后一段时间内探讨的方向。近年来, 番茄、油菜、大豆、胡萝卜、莴苣等转化体系相继建立但仍处于开发阶段, 应该尝试利用这些植物进行生物反应器的开发, 特别是可食疫苗的生产。另外, 主要作物水稻的叶绿体转化方面有了突破, 尽管没有得到完全同质化的转化材料, 但外源基因能够表达并可以传递给后代。但如小麦、玉米等作物还未真正实现叶绿体转化, 因此探索和建立这些作物的叶绿体转基因体系也是当务之急。

5 展望

叶绿体基因工程不仅为人们从分子水平研究植物叶绿体提供了一种前所未有的手段, 为植物细胞器的研究开辟了一个新的方向, 也为今后作物产量、抗性、品质改良、生物制药等众多领域研究开创了新的机会, 尤其是生物安全方面的优势, 将很快成为今后生物技术领域的主导力量。尽管最新研究表明, 外源基因可以通过花粉“泄漏”, 但几率极低, 可

以使污染的风险从根本上得到解决, 消除公众的心理影响。另外, 利用叶绿体转化的高效率表达, 在疫苗生产、医用蛋白和生物制剂方面具有广阔的应用前景。此外, 在提高农作物光合作用效率、研究光合作用机制上, 都是叶绿体基因工程未来的应用方向。虽然叶绿体转基因技术的应用已经取得可喜的成绩, 但是叶绿体基因工程要成为生物技术的常规手段还需要一段时间, 技术上的局限还应得到逐步完善。随着科学技术的日趋成熟以及在新的植物种类如油菜、小麦、番茄等上应用的成功, 必将为遗传工程带来新的生机和活力, 也将为工农业、医药业和作物遗传改良等的发展带来一场新的“绿色革命”。

参考文献

- [1] BOYNTON J E, GILLHAM N W, HARRIS E H, et al. Chloroplast transformation in *Chlamydomonas* with high velocity microprojectiles [J]. *Science*, 1988, 240: 1534 - 1538.
- [2] SVAB Z, HAJDUKIEWITZ P, MALIGA P. Stable transformation of plastids in higher plants [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87: 8526 - 8530.
- [3] 张清俊. 高等植物叶绿体的基因转殖与植物生物技术 [J]. *科学农业*, 2002, 50 (5/6): 243 - 248.
- [4] KOLLER B, DELIUS H. *Vicia faba* chloroplast DNA has only one set of ribosomal RNA genes as shown by partial denaturation mapping and R-loop analysis [J]. *Mol Gen Genet*, 1980, 178: 261 - 269.
- [5] SVAB Z, MALIGA P. High-frequency plastid transformation in tobacco by selection for a chimeric *aadA* gene [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 913 - 917.
- [6] SIKDAR S R, SERINO G, CHAUDHURI S, et al. Plastid transformation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell Rep*, 1998, 18 (1): 20 - 24.
- [7] SIDOROV V A, KASTEN D, PANG S Z, et al. Stable chloroplast transformation in potato: Use of green fluorescent protein as a plastid marker [J]. *Plant J*, 1999, 19 (2): 209 - 216.
- [8] RUF S, HERMANN M, BERGER I, et al. Stable genetic transformation of tomato plastids and expression of a foreign protein in fruit [J]. *Nat Biotechnol*, 2001, 19 (9): 870 - 875.
- [9] KUMAR S, DHINGRA A, DANIELL H. Plastid expressed betaine aldehyde dehydrogenase gene in carrot cultured cells, roots, and leaves confers enhanced salt tolerance [J]. *Plant Physiol*, 2004, 136 (1): 2843 - 2854.
- [10] DUFOURMANTEL N, PELISSIER B, GARCON F, et al. Generation of fertile transplastomic soybean [J]. *Plant Mol Biol*, 2004, 55: 479 - 489.
- [11] LELIVELT C L, MCCABE M S, NEWELL C A, et al. Stable plastid transformation in lettuce (*Lactuca sativa* L.) [J]. *Plant Mol Biol*, 2005, 58 (6): 763 - 774.
- [12] STAUB J M, GARCIA B, GRAVES J, et al. High-yield production of a human therapeutic protein in tobacco chloroplast [J]. *Nat Biotechnol*, 2000, 18: 333 - 338.
- [13] DANIELL H, COHILL P R, KUMAR S, et al. Chloroplast genetic engineering [C]//Daniell H, Chase C. *molecular biology and biotechnology of plant organelles* dordrecht. Springer, 2004: 443 - 490.
- [14] LEELAVATHI S, REDDY V S. Chloroplast expression of Histagged GUS-fusions: a general strategy to overproduce and purify foreign proteins using transplastomic plants as bioreactors [J]. *Mol Breed*, 2003, 11: 49 - 58.
- [15] LIZ J R, YASMIN T, CHARLES J A. Production of hepatitis B surface antigen in transgenic plants for oral immunization [J]. *Nat Biotechnol*, 2000, 18: 1167 - 1171.
- [16] MOLINA A, VERAMENDI J, HERVAS-STUBBS S. Induction of neutralizing antibodies by a tobacco chloroplast-derived vaccine based on a B cell epitope from canine parvovirus [J]. *Virology*, 2005, 34 (2): 266 - 275.
- [17] DANIELL H, DATTA R, VARMA S, et al. Containment of herbicide resistance through genetic engineering of the chloroplast genome [J]. *Nat Biotechnol*, 1998, 16: 345 - 348.
- [18] 张中林, 山松, 陈曦, 等. 除草剂抗性基因 (*bar*) 导入烟草叶绿体 [J]. *作物学报*, 1999, 25 (4): 574 - 578.
- [19] LUTZ K A. Expression of *bar* in the plastid genome confers herbicide resistance [J]. *Plant Physiol*, 2001, 125: 1585 - 1590.
- [20] LEE S B. Drought tolerance conferred by the yeast trehalose-6 phosphate

为:主频 2.43 GHz; 频带宽度 200 kHz; 时钟频率 26 MHz; 输出功率绝对值 0 dBm。

测试条件:将其中一个标签设置为接收模式,即可为系

统的读写器使用;其余标签设置为发送模式,即可为系统的电子标签使用;设置不同通讯参数条件时,系统测试结果如表 1 所示,部分参数比较图如图 5 所示^[9]。

表 1 电子标签测试结果

Table 1 The results of active tags detection

| 组别 Group | 数据传输率//kbps Data transmission rate | 调制方式 Modulation | 滤波带宽//kHz Filtering band width | 丢包率//% Frame loss rate | CRC 校验错误率//% CRC test error rate | RSSI 强度//dBm RSSI intensity | 通讯距离//m Communication distance |
|-------------|---------------------------------------|--------------------|-----------------------------------|---------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 500 | MSK | 812 | 3.0 | 5 | -73.31 | 12 |
| 2 | 250 | MSK | 540 | 1.5 | 2 | -73.38 | 22 |
| 3 | 120 | MSK | 540 | 0.5 | 1.5 | -82.01 | 40 |
| 4 | 60 | MSK | 540 | 0 | 0 | -82.90 | 50 |
| 5 | 10 | 2-FSK | 232 | 0 | 0 | -85.27 | 64 |
| 6 | 2.4 | 2-FSK | 203 | 0.5 | 1 | -92.92 | 90 |

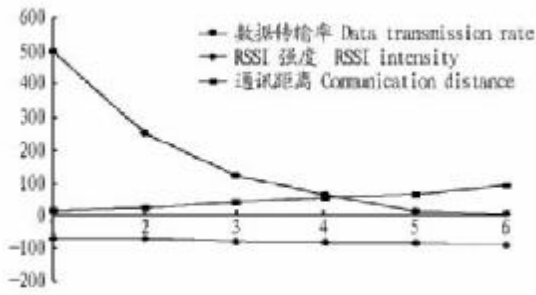


图 5 参数比较图

Fig. 5 Comparison chart of parameters

从表 1 和图 5 可以看出:随着数据传输率呈倍数的减小,通讯距离和 RSSI 强度都逐渐增加;采用 60 或 10 kbps 数据传输率时,都能达到较好的通讯效果。

在实际应用时,如果对数据传输要求高,可选择数据传输率为 60 kbps,调制方式 MSK,滤波带宽 540 kHz 这组参数,能达到 50 m 范围准确识别;如果要求通讯距离远,可选择数据传输率为 10 kbps,调制方式 2-FSK,滤波带宽 232 kHz 这组参数,能达到 64 m 范围准确识别。

3 结语

随着生活水平的提高,人们对畜产品质量提出了更高要求;另外,我国加入 WTO 后,一些发达国家高筑技术“贸易壁垒”,提高畜产品市场准入门槛,从而使畜产品质量和安全面临着国内消费市场和国际贸易市场的双重压力和挑战。

在生猪养殖阶段使用自行设计的高频有源电子标签,可以提高猪肉产品的安全性,并为彻底实现食品的“源头”追踪和食品安全的透明化管理提供了技术支撑。随着电子标签国家标准的推出和电子标签的广泛应用,我国畜牧产品物流管理能力、质量监督能力、可跟踪能力以及在国际贸易中的竞争力将大大提高,同时畜牧产品市场也将得到进一步规范和净化^[10]。因此,在动物食品安全监管中使用有源电子标签,将促进我国畜牧业向更高层次发展。

参考文献

[1] 富江. 中国肉类工业发展的现状与前景 [EB/OL]. (2007-09-17) <http://news.tom.com>.

[2] 郎为民. 射频识别 (RFID) 技术原理与应用 [M]. 北京: 机械工业出版社, 2006: 47-49.

[3] 文汉云, 金升藻. 基于 RFID 技术的动物识别与跟踪管理系统研究 [J]. 计算机系统应用, 2006 (3): 73-75.

[4] 卢瑞文. 自动识别技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 84-85.

[5] 王玉林, 曹金荣, 先锋, 等. 声表面波射频识别无源电子标签 [J]. 半导体电子学研究与进展, 2007 (2): 109-114.

[6] 陈力颖, 吴顺华, 毛陆虹, 等. 无源 UHF RFID 电子标签模拟前端设计 [J]. 半导体学报, 2007 (5): 687-692.

[7] 胡志勇. 满足高性能多层印制板的设计 [J]. 印制电路信息, 2007 (10): 18-21.

[8] 潘宇倩, 白东炜. 电磁干扰的产生及 PCB 设计中的抑制方案 [J]. 航天器工程, 2007, 5: 125-129.

[9] 赵金燕. 动物食品可溯源“RFID-条码”标识技术的研究 [D]. 昆明: 云南农业大学, 2008.

[10] 钱平, 熊本海, 王众, 等. 射频识别技术及其在农业上应用 [J]. 农业图书情报学刊, 2005 (2): 16-19.

(上接第 3431 页)

synthase gene engineered via the chloroplast genome [J]. Transgenic Res, 2002, 96: 1840-1845.

[21] MCBRIDE K E, SVAB Z, SCHAAF D J, et al. Amplification of a chimeric *Bacillus* gene in chloroplasts leads to an extraordinary level of an insecticidal protein in tobacco [J]. Bio/Technology, 1995, 13: 362-365.

[22] KOTA M, DANIELL H, VARMA S, et al. Overexpression of the *Bacillus thuringiensis* (Bt) Cry2Aa2 protein in chloroplasts confers resistance to plants against susceptible and Bt-resistant insects [J]. Proc Nati Acad

Sci USA, 1999, 96: 1840-1845.

[23] SUSANNE R, PAULD F, JOY W K. Elevation of the provitamin A content of transgenic tomato flowers [J]. Nat Biotechnol, 2000, 18: 666-669.

[24] VARDA M, MARK H, IRIS P. Metabolic engineering of astaxanthin production in tobacco flowers [J]. Nat Biotechnol, 2000, 18: 888-892.

[25] KANEVSKI I, MALIGA P, RHOADES D F. Plastome engineering of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in tobacco to form a sunflower large subunit and tobacco small subunit hybrid [J]. Plant Physiol, 1999, 119: 133-141.