

大豆脂肪氧化酶鉴定技术与无腥味高蛋白大豆创制

一、申报奖励类型：省技术发明奖

二、推荐单位：河北省农林科学院

三、项目简介：

大豆是人类最大的植物蛋白来源。由于大豆籽粒中抗营养因子脂肪氧化酶（Lox）的存在，不仅降低了大豆营养品质、且产生豆腥味影响食用。“加热脱腥”是大豆产品生产必须的加工工序，不仅造价高耗能大，且破坏部分营养成分。培育无腥大豆品种是消除豆腥味、解决加工中烦琐脱腥工序最经济、最有效的途径，使大豆及其制品象小麦、稻米一样成为一日三餐的主食之一。培育无腥味高蛋白大豆，提高国民蛋白质营养水平，具有重要意义。

本项目首先通过创新脂氧酶检测方法解决无腥大豆育种及其产业应用的技术瓶颈。通过分子水平、生态表现等方面研究基因互作与重组，建立高蛋白无腥大豆育种技术体系，解决了培育高蛋白大豆品种难、培育无腥味高蛋白大豆更难的问题。

（一）发明 3 项脂氧酶检测技术，研发了可以随时随地脂氧酶同功酶检测试剂盒，解决了无腥大豆资源鉴定、品种选育、至加工利用产业链各环节籽粒脂氧酶检测的技术瓶颈（授权发明专利 3 项）。①首次通过非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳与电洗脱相结合，分离纯化获得 3 种大豆脂氧酶同功酶蛋白；②利用免疫学原理创新了单克隆抗体制备技术，解决了同功酶间高同源性问题；③首次将消减免疫法引入植物单克隆抗体制备，解决关键致腥酶 Lox2 免疫原性弱的问题，并为植物同功酶单克隆抗体制备开辟了新途径。④建立脂氧酶同功酶双抗体夹心法检测技术，发明了随时随地脂氧酶检测的 ELISA 试剂盒，不仅实现了无腥大豆品种选育过程中低世代定向籽粒选择，并解决了资源材料的批量检测、良种繁育、生产储运以及加工利用等环节的大豆脂氧酶检测技术瓶颈问题。

（二）建立了高蛋白无腥大豆育种技术体系，实现了脂氧酶缺失与高蛋白高产多抗广适的结合（软件著作权 1 项）。①在改进蛋白品质选择方法基础上，发现了可调节 20 个蛋白 QTL 位点的 4 个优异连锁群区段，创立了高蛋白分子聚合选择技术。②研究明确了 Lox 基因与蛋白、产量等性状的相互关系，开发了植物重组分析软件，解决了低世代目标性状和多性状同时选择提高难的问题，实现了脂氧酶缺失与蛋白、产量、抗性等性状的同步选择。③结合一年多代异地异季产量与适应性穿梭选择，田间诱发与室内抗病性鉴定，解决了无腥味高蛋白大豆育成品种的产量、抗性与适应性问题。

（三）创新了一批高蛋白无腥大豆新种质，创制出 2 个无腥味高蛋白大豆品种（植物新

品种权 1 项)。①创新了 31 份高蛋白无腥大豆种质，包括既脂氧酶缺失又具高抗病且蛋白高达到 48%的种质；②创制出国内外第一个脂氧酶全缺失的高蛋白无腥味大豆品种五星 4 号、以及蛋白质含量最高的无腥大豆品种五星 3 号。

四、推广应用及经济社会效益情况

本项目获得授权知识产权 5 项，其中发明专利权 3 项，植物新品种保护权 1 项，软件著作权 1 项；发表论文 36 篇。本项目发明的脂氧酶联合检测试剂盒被国内多家单位利用，并先后为 20 多家单位检测大豆材料 3 万多份，为试剂盒生产企业带来直接经济效益 151.3 万元。选育出的五星 3 号和五星 4 号高蛋白无腥大豆品种推广面积 1662 万亩，新增社会总产值 16.16 亿元。

五、代表性论文专著目录

序号	论文题目	期刊	作者
1	非变性 PAGE 在鉴定大豆脂肪氧化酶类型中的应用	华北农学报	马志民, 蒋春志, 杨春燕, 马峙英, 张孟臣
2	Population structure and association analysis of agronomic and qualitative traits in summer soybeans.	Journal of Crop Improvement	Qin J, Zhang JN, Gu F, Wang JH, Wang FM, Yang CY, Zhang MC
3	大豆百粒重 QTL 定位及多样性评价	中国农业科学	陈强, 闫龙, 冯燕, 邓莹莹, 侯文焕, 刘青, 刘兵强, 杨春燕, 张孟臣
4	大豆脂肪氧化同工酶 (Lox1) 单克隆抗体的制备	植物遗传资源学报	刘渊, 张孟臣, 张彩英, 马峙英
5	大豆脂肪氧化酶同工酶抗原的快速纯化方法	大豆科学	马志民, 刘渊, 蒋春志, 杨春燕, 马峙英, 张孟臣
6	大豆公共遗传连锁图谱 C1 连锁群 SSR 标记空白区段的填补	华北农学报	雷亚坤, 闫龙, 杨春燕, 宋晓昆, 张孟臣, 黄占景
7	大豆开花落花及时空分布的观察研究	中国农业科学	赵双进, 唐晓东, 赵鑫, 冯燕, 赵聪聪, 张孟臣
8	河北地区大豆花叶病毒株系的组成与分布	大豆科学	杨永庆, 侯文焕, 边全乐, 张梅申, 孟小莽, 刘丽娟, 林静, 智海剑, 张孟臣

六、主要知识产权证明目录

1、已授权发明专利

序号	已授权项目名称	国家 (地区)	专利号	专利权人	发明人

1	大豆脂肪氧化酶同工酶的单克隆抗体杂交瘤细胞株及其抗体和应用	中国	ZL200110219334.4	河北省农林科学院粮油作物研究所	张孟臣, 马志民, 蒋春志, 邱锐, 杨春燕, 赵双进, 秦君, 闫龙, 刘兵强, 赵青松, 唐晓东, 史晓蕾, 李亚璞
	大豆脂肪氧化酶Lox2的单克隆抗体杂交瘤细胞及其抗体和应用	中国	ZL201210556450.x	河北省农林科学院粮油作物研究所	张孟臣, 邱锐, 杨春燕, 赵双进, 蒋春志, 闫龙, 马志民, 史晓蕾
	大豆脂肪氧化酶Lox3的单克隆抗体杂交瘤细胞及其抗体和应用	中国	ZL201210554907.3	河北省农林科学院粮油作物研究所	马志民, 张孟臣, 秦君, 闫龙, 李亚璞, 蒋春志, 张梅申, 邱锐, 唐晓东, 许宁

2、已登记计算机软件著作权

序号	软件名称	登记号	著作权人	权利取得方式	首次发表日期	证明材料	所支持发明点
1	模拟植物重组软件 V1.0	2015SR053265	赵青松, 张梅申, 杨春燕	原始取得	2015年01月13日		

七、主要完成人情况表（限 6 人）

姓 名	张孟臣	性 别	男	排 名	1
出生年月	1956. 10. 20	出生地	河北衡水	民 族	汉
身份证号	13010219561020065X	党 派	中共党员	国 籍	中国
工作单位	河北省农林科学院粮油作物研究所	二级单位	大豆中心	办公电话	0311-87670653
完成单位	河北省农林科学院粮油作物研究所	单位性质	事业单位	所在地	河北石家庄
归国人员		归国时间		行政职务	主任
通讯地址	河北省石家庄市高新区恒山街 162 号			邮政编码	050035
电子信箱	Hbdadou@163. com			移动电话	13784399802
毕业学校	河北农业大学	文化程度	研究生	毕业时间	1982. 3
技术职称	研究员	专业、专长	大豆遗传育种	最高学位	硕士
曾获科学技术奖励情况		<p>曾获奖励：先后获得国家科技进步二等奖、河北省省长特别奖、河北省科技进步一等奖等。</p> <p>荣誉称号：省管优秀专家、国务院特殊津贴、国家五一劳动奖章、河北省优秀专业技术人才、河北省优秀留学回国人员、河北省院士后备人才。</p>			
参加本项目起止时间		自 1994-12-31 至 2016-12-31			
<p>对本项目技术创造性贡献（对第几项发明点做出贡献，要细致说明本人独立于合作者的具体贡献并列个人贡献证明材料）：（限 300 字）</p>					
<p>(1)本项目总体方案的设计及实施；(2)创新脂氧酶检测技术，解决了无腥大豆产业化应用的瓶颈问题；(3)提出 Lox 缺失种质的引进、鉴定、创新及快速检测早代选育以及生物技术与常规技术相结合的选育技术路线；(4)主持育成五星系列无腥大豆品种 2 个，并配套栽培技术进行推广示范。</p>					
<p>声明：本人同意完成人排名，遵守《河北省科学技术奖励办法》及其《实施细则》和省科技厅推荐工作通知明确的具体要求，如实提供了本推荐书及相关材料，且不存在任何违反《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》等相关法律法规及侵犯他人知识产权的情形。该项目是本人本年度被推荐的唯一项目。如有虚假，本人愿意承担相应责任并接受相应处理。如产生争议，保证积极配合调查处理工作。</p>			<p>完成单位声明：本单位确认该完成人情况表真实有效，且不存在任何违反《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》等相关法律法规及侵犯他人知识产权的情形。如发生争议，愿意积极配合调查处理工作。</p> <p>工作单位声明：本单位对该完成人报奖无异议。</p>		
<p>本人签名：_____</p> <p style="text-align: right;">年 月 日</p>			<p>单位（公章）</p> <p style="text-align: right;">_____ 年 月 日</p>		
<p>第一完成人签名：_____</p> <p style="text-align: right;">_____ 年 月 日</p>					

七、主要完成人情况表（限 6 人）

姓名	马志民	性别	男	排名	2
出生年月	1980. 8. 23	出生地	河北隆尧	民族	汉
身份证号	130525198008230733	党派	中共党员	国籍	中国
工作单位	河北省农林科学院粮油作物研究所	二级单位		办公电话	0311-87670657
完成单位	河北省农林科学院粮油作物研究所	单位性质	事业单位	所在地	河北石家庄
归国人员		归国时间		行政职务	主任
通讯地址	河北省石家庄市高新区恒山街 162 号			邮政编码	050035
电子信箱	hbmazhimin@sohu.com			移动电话	13785181259
毕业学校	河北农业大学	文化程度	硕士	毕业时间	2007. 7
技术职称	副研究员	专业、专长	作物育种及栽培技术	最高学位	硕士
曾获科学技术奖励情况	获河北省山区创业奖 1 项；获河北省科技进步一等奖 1 项；获农业部中华农业科技奖 1 项				
参加本项目起止时间	自 2004-12-31 至 2016-12-31				
<p>对本项目技术创造性贡献（对第几项发明点做出贡献，要细致说明本人独立于合作者的具体贡献并列个人贡献证明材料）：（限 300 字）</p> <p>(1)作为主研人利用免疫学技术创新脂氧酶检测技术，解决了无腥大豆产业化应用的瓶颈问题；(2) 参与系列脂氧酶缺失种质创新工作中的缺失类型检测鉴定；(3) 创新无腥大豆育种技术体系工作中参与部分工作。</p>					
<p>声明：本人同意完成人排名，遵守《河北省科学技术奖励办法》及其《实施细则》和省科技厅推荐工作通知明确的具体要求，如实提供了本推荐书及相关材料，且不存在任何违反《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》等相关法律法规及侵犯他人知识产权的情形。该项目是本人本年度被推荐的唯一项目。如有虚假，本人愿意承担相应责任并接受相应处理。如产生争议，保证积极配合调查处理工作。</p> <p>本人签名：_____年 月 日</p>			<p>完成单位声明：本单位确认该完成人情况表真实有效，且不存在任何违反《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》等相关法律法规及侵犯他人知识产权的情形。如发生争议，愿意积极配合调查处理工作。</p> <p>工作单位声明：本单位对该完成人报奖无异议。</p> <p>单位（公章）_____年 月 日</p>		
<p>第一完成人签名：_____年 月 日</p>					

七、主要完成人情况表（限 6 人）

姓名	邱锐	性别	男	排名	3
出生年月	1982. 7. 9	出生地	石家庄市	民族	汉
身份证号	130102198207092410	党派	中共党员	国籍	中国
工作单位	河北省农林科学院粮油作物研究所	二级单位	大豆中心	办公电话	0311-87670626
完成单位	河北省农林科学院粮油作物研究所	单位性质	事业单位	所在地	河北石家庄
归国人员		归国时间		行政职务	
通讯地址	河北省石家庄市高新区恒山街 162 号			邮政编码	050035
电子信箱	13933860560@163. com			移动电话	13933860560
毕业学校	河北师范大学	文化程度	本科	毕业时间	2005. 7
技术职称	副研究员	专业、专长	大豆科研	最高学位	学士
曾获科学技术奖励情况	获河北省山区创业奖 2 项；获河北省科技进步一等奖 1 项；获河北省科技进步三等奖 1 项；获农业部中华农业科技奖 1 项				
参加本项目起止时间	自 2005-7-31 至 2016-12-31				
对本项目技术创造性贡献（对第几项发明点做出贡献，要细致说明本人独立于合作者的具体贡献并列个人贡献证明材料）：（限 300 字）					
<p>(1) 作为主研人参与了脂氧酶检测技术研发；(2) 参与系列脂氧酶缺失种质创新工作中的缺失类型检测鉴定；(3) 创新无腥大豆育种技术体系工作中参与部分工作；(4) 参与了无腥大豆品种的选育。</p>					
<p>声明：本人同意完成人排名，遵守《河北省科学技术奖励办法》及其《实施细则》和省科技厅推荐工作通知明确的具体要求，如实提供了本推荐书及相关材料，且不存在任何违反《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》等相关法律法规及侵犯他人知识产权的情形。该项目是本人本年度被推荐的唯一项目。如有虚假，本人愿意承担相应责任并接受相应处理。如产生争议，保证积极配合调查处理工作。</p>			<p>完成单位声明：本单位确认该完成人情况表真实有效，且不存在任何违反《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》等相关法律法规及侵犯他人知识产权的情形。如发生争议，愿意积极配合调查处理工作。</p> <p>工作单位声明：本单位对该完成人报奖无异议。</p>		
本人签名：			单位（公章）		
_____ 年 月 日			_____ 年 月 日		
<p>第一完成人签名：</p>					
_____ 年 月 日					

七、主要完成人情况表（限 6 人）

姓 名	张彩英	性 别	女	排 名	4
出生年月	1960.05	出生地	河北深泽	民 族	汉
身份证号	130604196005101228	党 派	中共党员	国 籍	中国
工作单位	河北农业大学	二级单位	生命科学学院	办公电话	0312-7521558
完成单位	河北省农林科学院粮油作物研究所	单位性质	事业单位	所在地	河北保定
归国人员		归国时间		行政职务	
通讯地址	河北农业大学生命科学学院			邮政编码	071001
电子信箱	Cyzhang_60@126.com			移动电话	18331160098
毕业学校	河北农业大学	文化程度	博士研究生	毕业时间	2010.11
技术职称	研究员	专业、专长	作物遗传育种	最高学位	博士
曾获科学技术奖励情况	教育部科技进步一等奖，河北省政府特殊津贴专家				
参加本项目起止时间	自 2003-7-31 至 2016-12-31				
对本项目技术创造性贡献（对第几项发明点做出贡献，要细致说明本人独立于合作者的具体贡献并列个人贡献证明材料）：（限 300 字）					
(1)参与了项目总体方案的设计及实施；(2) 作为指导教师，与了脂氧酶检测技术研发工作。					
<p>声明：本人同意完成人排名，遵守《河北省科学技术奖励办法》及其《实施细则》和省科技厅推荐工作通知明确的具体要求，如实提供了本推荐书及相关材料，且不存在任何违反《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》等相关法律法规及侵犯他人知识产权的情形。该项目是本人本年度被推荐的唯一项目。如有虚假，本人愿意承担相应责任并接受相应处理。如产生争议，保证积极配合调查处理工作。</p> <p>本人签名：_____年 月 日</p>			<p>完成单位声明：本单位确认该完成人情况表真实有效，且不存在任何违反《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》等相关法律法规及侵犯他人知识产权的情形。如发生争议，愿意积极配合调查处理工作。</p> <p>工作单位声明：本单位对该完成人报奖无异议。</p> <p>单位（公章）_____年 月 日</p>		
<p>第一完成人签名：_____年 月 日</p>					

七、主要完成人情况表（限 6 人）

姓名	蒋春志	性别	女	排名	5
出生年月	1964. 2. 1	出生地	河北阜城	民族	汉
身份证号	130102196402012448	党派	无	国籍	中国
工作单位	河北省农林科学院粮油作物研究所	二级单位		办公电话	0311-87670610
完成单位	河北省农林科学院粮油作物研究所	单位性质	事业单位	所在地	河北石家庄
归国人员		归国时间		行政职务	
通讯地址	河北省石家庄市高新区恒山街 162 号			邮政编码	050035
电子信箱	Jiangchunzhi64@163.com			移动电话	13582171180
毕业学校	河北农业大学	文化程度	大学	毕业时间	1987. 7. 1
技术职称	研究员	专业、专长	作物遗传育种	最高学位	硕士
曾获科学技术奖励情况		获河北省科技进步 1 项、三等奖 2 项。			
参加本项目起止时间		自 2003-3-31 至 2016-12-31			
<p>对本项目技术创造性贡献（对第几项发明点做出贡献，要细致说明本人独立于合作者的具体贡献并列个人贡献证明材料）：（限 300 字）</p> <p>(1) 作为主研人参与了脂氧酶检测技术研发；(2) 参与系列脂氧酶缺失种质创新工作中的缺失类型检测鉴定；(3) 创新无腥大豆育种技术体系工作中参与部分工作；(4) 参与了无腥大豆品种的选育。</p>					
<p>声明：本人同意完成人排名，遵守《河北省科学技术奖励办法》及其《实施细则》和省科技厅推荐工作通知明确的具体要求，如实提供了本推荐书及相关材料，且不存在任何违反《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》等相关法律法规及侵犯他人知识产权的情形。该项目是本人本年度被推荐的唯一项目。如有虚假，本人愿意承担相应责任并接受相应处理。如产生争议，保证积极配合调查处理工作。</p> <p>本人签名：_____</p> <p style="text-align: right;">_____年 月 日</p>			<p>完成单位声明：本单位确认该完成人情况表真实有效，且不存在任何违反《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》等相关法律法规及侵犯他人知识产权的情形。如发生争议，愿意积极配合调查处理工作。</p> <p>工作单位声明：本单位对该完成人报奖无异议。</p> <p>单位（公章）_____</p> <p style="text-align: right;">_____年 月 日</p>		
<p>第一完成人签名：_____</p> <p style="text-align: right;">_____年 月 日</p>					

完成人合作关系说明

本项目各完成人在项目实施过程中的合作关系如下：

马志民作为主研人研发了大豆脂肪氧化酶检测技术体系，并对在脂氧酶缺失种质创制中参与了检测工作，并且与张孟臣、邸锐、蒋春志、赵青松等共同申请了脂氧酶检测技术专利；邸锐作为主研人参与选育了五星系列无腥大豆品种；张彩英在大豆脂肪氧化酶检测技术研发过程中，作为指导教师指导马志民完成了题为《大豆脂肪氧化酶单克隆抗体的制备及其检测应用》的毕业论文。

第一完成人签名：

知情同意报奖证明

本项目下列论文的通讯作者和第一作者秦君、陈强、刘渊、雷亚坤、赵双进、杨永庆、黄占景、马峙英未在本成果中排名：

1、Population structure and association analysis of agronomic and qualitative traits in summer soybeans，第一作者秦君；

2、大豆百粒重 QTL 定位及多样性评价，第一作者陈强

3、大豆脂肪氧化同工酶（Lox1）单克隆抗体的制备，第一作者刘渊和通讯作者马峙英

4、大豆公共遗传连锁图谱 C1 连锁群 SSR 标记空白区段的填补，第一作者雷亚坤和通讯作者黄占景；

5、大豆开花落花及时空分布的观察研究，第一作者赵双进；

6、河北地区大豆花叶病毒株系的组成与分布，第一作者杨永庆。

以上论文是在有关课题资助下项目组在完成单位河北省农林科学院粮油作物研究所合作完成的。未排名者同意将上述论文提供此次报奖利用。

特此证明。

2017年5月3日