

· 导 读 ·

本期主要选择植物生物工程研究及应用进行导读, 内容主要包括功能基因鉴定与克隆、CRISPR 基因编辑与作物改良、病虫害的生物防治、重金属与微塑料污染治理等方面。

功能基因鉴定与克隆

得益于基因组测序技术的快速发展, 生命科学已经进入后基因组时代。许多重要农作物的全基因组测序工作已经完成公布, 如何快速高效地评估验证基因的生物学功能是将这些理论知识转化为生产应用的关键。自 1943 年德国植物学家 Friedrich Laibach 首次提出将十字花科拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)作为模式植物以来^[1], 全球科研团队先后对这一物种展开大量的基础性研究, 并逐步积累建成了一个规模庞大、功能齐全的基因组数据库(The *Arabidopsis* Information Resource, TAIR)。利用 TAIR 数据库, 研究人员可以很方便地提取拟南芥的同源序列信息, 并借助生物信息学手段进行种间比对分析, 从而快速实现兴趣基因的鉴定分类和功能网络预测分析。这一策略极大推动了其他植物的基因研究进程, 尤其对于拥有较复杂基因组的农作物而言。本期学报中, 阳文龙等^[2]利用拟南芥同源序列比对方法, 对异源四倍体芥菜(*Brassica juncea*)的 *WOX* (*WUSCHEL RELATED-HOMEOBOX*)转录因子家族进行了全基因组鉴定分析, 成功获得 51 个 *WOX* 基因家族成员。他们还从进化关系、基因结构、表达特征等方面对这些 *WOX* 同源基因进行系统

性检测分析, 推测该基因家族可能参与芥菜的生长发育和多个胁迫信号响应。此外, 王雪花等^[3]通过比对拟南芥同源序列, 在大白菜(*Brassica rapa* ssp. *Pekinensis*)中共鉴定了 9 个 NHX (Na^+/H^+ antiporter)逆向转运蛋白家族成员, 并对这些成员进行了基因结构分析、亚细胞定位预测和逆境响应表达检测等。这些工作异曲同工, 都为较大基因组作物的基因功能研究提供了范例。

基因克隆是进行新基因功能验证前的重要步骤。随着基因工程和测序技术的快速发展、多种植物分子标记连锁图谱的相继构建, 以及模式生物基因结构知识的不断积累, 多种基因克隆技术得以产生, 如同源序列法、图位克隆法、表达序列标签技术、差异表达基因分离技术等。其中, 同源序列法是根据克隆基因序列的同源性进行的, 其因方法简单、省时省力, 已应用于诸多物种研究。黄烷酮 3-羟化酶(flavanone 3-hydroxylase, F3H)是花青素合成的限速酶。蒋宝鑫等^[4]为分离比利时杜鹃花(*Rhododendron hybridum* Hort.)的 *F3H* 基因, 首先对 *F3H* 蛋白序列的同源性进行比对分析, 并利用简并引物扩增出保守区序列, 随后通过 cDNA 末端快速克隆(rapid-amplification of cDNA ends, RACE)技术将这一保守序列向两端

延伸, 最终获得全长 1 245 bp 的 cDNA 序列。他们还对克隆的 *F3H* 基因分别进行功能位点预测、表达模式检测和异位表达功能验证, 为杜鹃花花色的分子机理研究奠定基础。

CRISPR 基因编辑与作物改良

基因工程是将外源片段引入受体基因组, 对受体生物的遗传特性进行人为改造的技术, 在植物基础研究和分子育种中一直发挥重要效益。进入 21 世纪, 以 CRISPR/Cas (clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR associated) 系统为代表的基因组编辑技术无疑是基因工程领域的一颗璀璨明星。因其设计简单、廉价高效的优势, CRISPR/Cas 系统从开发伊始便受到广泛重视, 并被授予 2020 年诺贝尔化学奖。我国对基因组编辑技术在农业生产上的开发利用一直处在最前沿位置。Li 等^[5]利用 CRISPR/Cas9 系统对小麦感病基因 *TaMLO* (*Triticum aestivum* Mildew resistance locus *O*) 进行定向编辑, 快速获得既广谱抗白粉病又不影响其产量的新种质, 充分体现了该技术在农业科学的巨大应用潜力。本期学报中, 殷文晶等^[6]对 CRISPR/Cas9 系统的发展历程和工作原理进行了详细介绍, 系统综述了该技术在主要粮食作物及野生植物驯化中的应用情况, 并对 CRISPR/Cas9 系统在未来农业中的发展和挑战提出展望。经过 10 年的快速发展, CRISPR/Cas 系统已从最初的基因敲除工具, 进化到碱基编辑和引导编辑, 大大提高了靶点编辑的效率和可控性。相信未来会有更多靶向更精确、功能更齐全的基因编辑技术运用于作物育种改良。

病虫害的生物防治

病虫害是影响作物产量和质量的关键因素, 给世界粮食安全造成严重威胁。挖掘植物自身的抗病基因资源, 并加以对栽培品种进行遗传改良, 是防治田间病虫害问题的一种环保且有效的途径。周涛等^[7]利用病毒介导基因沉默(virus-induced gene silencing, VIGS)技术在大豆(*Glycine max*)中同时沉默了两个 E2 结合酶基因 *GmATG10a* (autophagy-related gene 10a) 和 *GmATG10b*, 发现转化植株在碳饥饿处理后体内自噬标志蛋白 GmATG8 得到积累, 出现叶片早衰。同时, *GmATG10a/10b* 基因沉默还分别增强植株对大豆花叶病毒(soybean mosaic virus, SMV)和大豆斑疹病菌(*Xanthomonas campestris* pv. *glycine*, Xag)等不同病原物的抗性, 表明 *GmATG10a/10b* 是大豆免疫响应的负调控子, 为大豆抗病育种提供新资源。

生物农药的研发利用是另一项重要的病虫害绿色防控策略。源自苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)的 Bt Cry 毒素是目前研究最深、应用最广的抗虫蛋白, 但其相关制剂和转基因作物的长期应用也引发了人们对靶标害虫耐药性及生物安全风险等方面的担忧。徐重新等^[8]依据抗体“免疫网络学说”, 结合噬菌体展示抗体技术, 对 Bt Cry 毒素创新性地探索并实现了抗虫模拟物的靶向设计。本期学报中, 他们系统概述了 Bt Cry 毒素模拟物靶向设计的理论基础、总体思路、存在的技术难点, 以及所在团队的相关研究现状, 为新型抗虫蛋白材料的研发提供思路。本期还刊载了刘霞等^[9]关于水稻白叶枯病生物防治的工作。他们分离鉴定到一株新的

贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)菌株 Bv-303, 经体内测定发现, 该菌株的发酵液对白叶枯病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Xoo*)有拮抗活性, 抑菌率高达 62.7%, 同时发酵液处理并不影响水稻(*Oryza sativa*)种子的萌发和幼苗生长, 展现了 Bv-303 菌株在防治水稻白叶枯病方面的应用潜力。

重金属与微塑料污染治理

随着工业化的持续推进, 重金属污染已成为我国面临的严峻的环境问题之一, 并在包括农业生产等多个领域深刻影响着人类的生活健康。植物在长期适应非生物胁迫中进化出了各种代谢响应途径, 探究这些内源响应机制对重金属环境下农作物的修复治理具有重大意义。苯丙烷代谢途径是植物最重要的次生代谢途径之一, 在机体抵御外界不同逆境中发挥抗氧化作用。葛文佳等^[10]详细综述了苯丙烷代谢途径的核心反应及其关键代谢产物的生物合成过程, 重点探讨了该途径在植物响应重金属胁迫的相关机制, 为重金属污染环境的植物修复策略制定提供指导。贺依琦等^[11]的研究发现, 液泡铁转运蛋白 OsVIT2 (vacuolar iron transporter 2)在水稻胚乳的特异表达会减少成熟期籽粒的铁积累, 但也显著降低了重金属镉在秸秆和籽粒的吸收富集; 同时, OsVIT2 异位表达并不影响植株的主要农艺性状, 为作物降镉提供一定参考。

微塑料污染是另一项全球性的环境问题。2022 年, 荷兰科学家在人体血液中首次检测到微塑料^[12], 引起各国广泛关注。梁榕等^[13]从微塑料与土壤微生物互作的角度探讨了这一污染

的治理方案。他们指出土壤微生物通过形成表面生物膜和群落选择效应来适应微塑料所引起的环境变化, 特别关注了微生物对微塑料的代谢降解机制, 即它们首先定殖于微塑料表面, 通过分泌多种胞外酶将塑料聚合物转化为低聚物或单体, 随后进入胞内进一步分解, 为微塑料的高效生物降解提供理论依据。刘赞等^[14]通过调查分析黄河流域的微塑料污染现状, 发现其污染程度整体呈自上游向下游增加的趋势, 建议加强污染溯源和相关法律法规的完善工作, 提高可降解塑料产能, 拓展工程化塑料降解技术等, 为我国黄河流域的微塑料污染治理提供方案。

REFERENCES

- [1] LAIBACH F. *Arabidopsis thaliana* (L.) Heyhn. als object für genetische und entwicklungs-physiologische untersuchungen. Botanisches Archiv, 1943, 44: 439-455.
- [2] 阳文龙, 徐楚, 韩嘉琪, 张晓辉, 宋江萍, 贾会霞, 王海平. 芥菜 *WOX* 基因家族的全基因组鉴定与分析[J]. 生物工程学报, 2023, 39(2): 537-551.
YANG WL, XU C, HAN JQ, ZHANG XH, SONG JP, JIA HX, WANG HP. Genome-wide identification and characterization of the *WOX* gene family in *Brassica juncea*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(2): 537-551 (in Chinese).
- [3] 王雪花, 韩佳, 马济中, 杨曦婷, 满华丽, 乔亚丽, 高雪琴, 胡琳莉. 大白菜 *NHX* 基因家族的鉴定与表达分析[J]. 生物工程学报, 2023, 39(2): 552-565.
WANG XH, HAN J, MA JZ, YANG XT, MAN HL, QIAO YL, GAO XQ, HU LL. Identification and expression analysis of *NHX* gene family in Chinese cabbage[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(2): 552-565 (in Chinese).
- [4] 蒋宝鑫, 吴泽航, 杨国霞, 吕思佳, 贾永红, 吴月燕, 周若一, 谢晓鸿. 比利时杜鹃花黄烷酮 3-羟化酶基因克隆及功能分析[J]. 生物工程学报, 2023, 39(2): 653-669.

- JIANG BX, WU ZH, YANG GX, LÜ SJ, JIA YH, WU YY, ZHOU RY, XIE XH. Cloning and functional analysis of flavanone 3-hydroxylase gene in *Rhododendron hybridum* Hort.[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(2): 653-669 (in Chinese).
- [5] LI SN, LIN DX, ZHANG YW, DENG M, CHEN YX, LV B, LI BS, LEI Y, WANG YP, ZHAO L, LIANG YT, LIU JX, CHEN KL, LIU ZY, XIAO J, QIU JL, GAO CX. Genome-edited powdery mildew resistance in wheat without growth penalties[J]. Nature, 2022, 602(7897): 455-460.
- [6] 殷文晶, 陈振概, 黄佳慧, 叶涵斐, 芦涛, 路梅, 饶玉春. 基于 CRISPR-Cas9 基因编辑技术在作物中的应用[J]. 生物工程学报, 2023, 39(2): 399-424.
- YIN WJ, CHEN ZG, HUANG JH, YE HF, LU T, LU M, RAO YC. Application of CRISPR-Cas9 gene editing technology in crop breeding[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(2): 399-424 (in Chinese).
- [7] 周涛, 叶梅燕, 刘天瑶, 兰胡娇, Hashimi Said Masoud, 郭威, 刘建中. 沉默 *GmATG10* 导致大豆免疫反应的激活[J]. 生物工程学报, 2023, 39(2): 586-602.
- ZHOU T, YE MY, LIU TY, LAN HJ, HASHIMI Said Masoud, GUO W, LIU JZ. Silencing *GmATG10* results in activation of immune responses in soybean[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(2): 586-602 (in Chinese).
- [8] 徐重新, 刘媛, 张霄, 刘贤金. Bt Cry 毒素抗虫模拟物靶向创新设计[J]. 生物工程学报, 2023, 39(2): 446-458.
- XU CX, LIU Y, ZHANG X, LIU XJ. Targeted innovative design of Bt Cry toxin insecticidal mimics[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(2): 446-458 (in Chinese).
- [9] 刘霞, 陆喆晓, 马紫程, 余婷婷, 陈浩天, 王璐, 陈析丰. 贝莱斯芽孢杆菌 Bv-303 对水稻白叶枯病菌的拮抗活性及其应用[J]. 生物工程学报, 2023, 39(2): 741-754.
- LIU X, LU ZX, MA ZC, YU TT, CHEN HT, WANG L, CHEN XF. Antagonistic activity and application of *Bacillus velezensis* strain Bv-303 against rice bacterial-blight disease caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(2): 741-754 (in Chinese).
- [10] 葛文佳, 辛建攀, 田如男. 植物苯丙烷代谢及其对重金属胁迫的响应研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(2): 425-445.
- GE WJ, XIN JP, TIAN RN. Phenylpropanoid pathway in plants and its role in response to heavy metal stress: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(2): 425-445 (in Chinese).
- [11] 贺依琦, 刘冬, 史玉皎, 郭宝, 周琳, 罗劲松, 张振华. 水稻胚乳过表达 VIT1/VIT2 对 Fe 和 Cd 积累的影响[J]. 生物工程学报, 2023, 39(2): 713-723.
- HE YQ, LIU D, SHI YJ, GUO B, ZHOU L, LUO JS, ZHANG ZH. Effect of VIT1/VIT2 overexpression on Fe and Cd accumulation in rice endosperm[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(2): 713-723 (in Chinese).
- [12] LESLIE HA, van VELZEN MJM, BRANDSMA SH, VETHAAK AD, GARCIA-VALLEJO JJ, LAMOREE MH. Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood[J]. Environment International, 2022, 163: 107199.
- [13] 梁榕, 孙飞虎, 张弛, 张瑞芳, 王红, 王鑫鑫. 微塑料与土壤环境中微生物互作研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(2): 500-515.
- LIANG R, SUN FH, ZHANG C, ZHANG RF, WANG H, WANG XX. Interaction between microplastics and microorganisms in soil environment: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(2): 500-515 (in Chinese).
- [14] 刘赞, 孙中亮, 史良, 王强. 黄河流域微塑料污染现状及防治策略[J]. 生物工程学报, 2023, 39(2): 488-499.
- LIU Z, SUN ZL, SHI L, WANG Q. Microplastics pollution in the Yellow River basin: current status and control strategy[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(2): 488-499 (in Chinese).

(本文责编 郝丽芳)