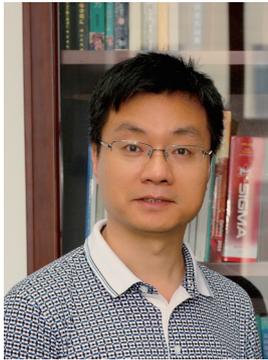


DOI: 10.13376/j.cbls/2016149

文章编号: 1004-0374(2016)10-1113-09



吴昌银, 华中农业大学教授、博士生导师, 国家杰出青年基金获得者, 科技部中青年科技创新领军人才。担任 *Plant Genome*、《植物学报》等杂志编委。先后承担国家自然科学基金项目、国家“863”计划等多项课题。主要从事水稻功能基因组、植物发育生物学方面的研究, 已在 *PNAS*、*Plant Cell* 等杂志发表 20 多篇高水平论文, 获授权专利 11 项。获湖北省自然科学奖二等奖 1 项、上海市科技进步奖一等奖 1 项。

中国水稻基因组学研究历史及现状

符德保, 李 燕, 肖景华, 张启发, 吴昌银*

(华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室及国家植物基因研究中心(武汉), 武汉 430070)

摘 要: 水稻既是重要的粮食作物, 又是功能基因组研究的模式植物。水稻基因组测序的完成及种质资源的基因组重测序, 为水稻功能基因组研究奠定了基础。现综述我国水稻基因组测序和功能基因组研究历史, 重点介绍功能基因组组学研究的平台和重要农艺性状解析的成果, 并指出未来水稻功能基因组研究的方向。

关键词: 水稻; 基因组测序; 功能基因组; 研究历史; 研究趋势

中图分类号: S511 文献标志码: A

The history and current status of rice genomics research in China

FU De-Bao, LI Yan, XIAO Jing-Hua, ZHANG Qi-Fa, WU Chang-Yin*

(National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, National Center of Plant Gene Research (Wuhan), Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Rice (*Oryza sativa* L.) is a major crop feeding about half of the population of the world. Meanwhile, rice represents a model for functional genome research among the crop plants. The completion of the whole genome sequencing of rice and genome resequencing of germplasm resources laid the foundation for rice functional genomics research. This review summarizes the history of rice genome sequencing and functional genomic research in China, highlighting the establishment of functional genomics platforms and molecular network characterization on important agronomic traits in rice. It also prospects the future development of rice functional genomics research.

Key words: rice; genome sequencing; functional genomics; research history; research trends

收稿日期: 2016-07-18

基金项目: 国家重点研发计划“水稻功能基因组研究与应用”项目(2016YFD0100900); 国家自然科学基金项目(31425018); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2662015PY003, 2013PY062)

*通信作者: E-mail: cywu@mail.hzau.edu.cn; Tel: 027-87281887

进入 21 世纪, 随着全球化、市场化农业产业发展和全球贸易一体化格局的逐步形成, 我国种业正面临前所未有的严峻挑战, 主要表现在: 依靠传统育种技术难以大幅度提高粮食单产; 土地资源短缺, 农业环境污染日益突出; 种质资源发掘、基因组育种技术亟需创新等。水稻不仅是重要的粮食作物, 由于其基因组较小且与其他禾本科作物基因组存在共线性, 以及具有成熟高效的遗传转化体系, 已成为作物功能基因组研究的模式植物。因此, 水稻基因组研究对发展现代农作物育种技术、提升种业国际竞争力和保障粮食有效供给具有重大战略意义。

1 水稻基因组测序的开启

自动化测序技术的发展为解码生物基因组密码提供了契机。继“人类基因组计划”、“拟南芥基因组计划”提出之后, 各国科学家为抢夺下一个生物学科前沿, 将水稻基因组计划提上日程。1991 年日本将水稻基因组制图列入研究规划。我国于 1990 年开始研讨水稻基因组测序, 并于 1992 年正式宣布开展水稻基因组测序, 同时在上海成立了中国科学院国家基因研究中心。历时 4 年, 中国在国际上率先完成了水稻(粳稻)基因组物理图的构建, 为水稻基因组测序提供了材料基础。1997 年 9 月, 日本和中国作为主要参与国牵头发起“国际水稻基因组测序计划”(International Rice Genome Sequencing Project, IRGSP)。1998 年 2 月, IRGSP 正式启动, 主要内容是开展水稻遗传图和物理图的绘制, 完成基因组序列的测定及基因序列的注释分析等工作^[1-2]。IRGSP 确定以主要栽培品种——粳稻“日本晴”作为测序对象, 基于基因组物理图谱进行测序。水稻 12 条染色体的测序工作分别由日本(6 条)、美国(3 条)、中国(1 条)、中国台湾(1 条)、法国(1 条)承担, 其中印度、韩国、巴西等参与了部分染色体的测序工作。中国科学院上海生命科学研究院国家基因研究中心作为中国大陆的参加单位, 承担第 4 号染色体的测序工作。

粳稻是亚洲广为种植的主要水稻亚种, 同时也为我国杂交水稻所利用。2001 年, 中国科学院启动了“水稻基因组测序和重要农艺性状功能基因组研究”的重大项目, 主要利用全基因组霰弹法对超级杂交稻亲本粳稻品种“9311”进行基因组测序以及精细遗传图谱绘制。2002 年 4 月 5 日, 北京华大基因研究中心和美国的 Syngenta 公司分别在 *Science*

杂志上发表粳稻品种 9311 和粳稻品种日本晴的全基因组工作框架图^[3-4], 其中中国科学家《水稻(粳稻)基因组的工作框架序列图》一文以封面文章形式发表。2002 年 *Nature* 杂志同时发表了中国科学家完成的第 4 号染色体精确测序和日本科学家完成的第 1 号染色体精确测序的论文。*Nature* 杂志审稿人认为这两篇论文是“水稻基因组测序项目里程碑性的事件”^[5-6]。难能可贵的是, 中国科学家在进行粳稻日本晴 4 号染色体测序的同时, 还对粳稻品种“广陆矮 4 号”同一染色体序列进行了测定, 通过对两个品种 DNA 序列的同源分析, 首次分析了粳稻与粳稻间的基因组成、顺序及 DNA 水平上的一些异同, 揭示了栽培稻间的一些亲缘关系^[5]。2002 年 12 月 12 日, 中国科学院、国家科技部、国家发展计划委员会和国家自然科学基金委联合举行新闻发布会, 宣布中国水稻(粳稻)基因组“精细图”已经完成, 标志着我国水稻基因组学研究迈入世界前列。2002 年 12 月 18 日, 国际水稻基因组测序计划工作组在日本东京宣布水稻基因组测序工作结束, “水稻基因组草图”绘制完成。2003 年 6 月 6 日, 美国科学家完成第 10 号染色体序列的精确测定, 相关结果在 *Science* 杂志发表^[7]。2004 年, “水稻基因组精细图谱”全部绘制完成。2005 年 8 月 11 日, 文章《水稻基因组精细图》在 *Nature* 杂志的刊登发表标志着“国际水稻基因组测序计划”圆满完成^[8], 同时也标志着水稻成为第一个完成基因组测序的作物。基于粳稻品种日本晴已获得的精确测序结果, 水稻基因组大小为 373 Mb。根据水稻基因组最新注释, 其全基因组包含 55 986 个位点, 预计编码 66 433 个基因^[9](MSU Rice Genome Annotation Project Release 7, <http://rice.plantbiology.msu.edu/>)。不过直到 2016 年, 才真正获得高质量的粳稻参考基因组序列^[10]。基因组测序的完成为开展水稻基因功能研究提供了蓝本。

由于水稻种质资源丰富且控制重要农艺性状的基因存在大量的序列变异, 随着新一代测序技术的发展及测序成本降低, 近年来开展了大量种质的基因组重测序。2011 年, 我国科学家对 50 个水稻品种进行基因组重测序并构架遗传变异数据库, 首次对野生稻和栽培稻的基因组进行大规模的遗传多样性分析, 为挖掘野生稻优良基因, 加快高产、优质水稻品种培育奠定了理论基础^[11]。近期, 中国农业科学院作物科学研究所联合华大基因研究院和国际水稻研究所, 对从 89 个国家收集的 3 000 份水稻品

种进行了深度重测序, 命名为 3 000 份水稻重测序项目 (3K Rice Genome Project, 3K 水稻基因组项目), 得到了平均 14 倍覆盖深度的基因组测序数据, 通过与日本晴基因组比对共发现了约 1 890 万个 SNP 和 InDel (insertion-deletion, 插入缺失) 信息^[12], 基因序列变异的发掘对研究水稻基因功能和指导全基因组育种具有重大的科学意义和实用价值。此外, 国际同行也开展了野生稻基因组研究, 如 2005 年美国亚利桑那大学启动了“稻属基因组计划”项目 (*Oryza* Map Alignment Project, OMAP)^[13]。该项目通过对选择的 11 个野生稻种及非洲栽培稻基因组构建 BAC 文库、末端测序和酶切获得指纹图谱, 从而建立一个研究稻属进化、基因组结构、驯化和基因调控网络的系统。

长期以来, 人们对栽培稻的起源和驯化, 以及籼稻和粳稻是否独立起源的过程一直存有争论。随着二代测序技术的发展, 通过分析水稻种质资源基因组变异的程度可以帮助科学家加深对水稻驯化的了解。Xu 等^[11]对 40 个亚洲栽培稻品种和 10 个野生稻的基因组进行重测序, 获得了高质量的水稻 SNP 数据, 结果表明栽培品种中 76% 的 SNP 在野生稻中也存在, 表明栽培品种的大多数遗传变异来自野生稻, 进一步分析表明粳稻是由中国普通野生稻驯化而来。Huang 等^[14]在对一个包括地理和表型差异的野生稻和栽培稻的样本群的多样性研究中构建了一个高密度的基因型图谱, 并进行了详细的遗传和地理位置的起源鉴定, 发现粳稻最先起源于中国南方, 之后在与南亚和东南亚的普通野生稻的杂交中进一步形成了籼稻。

2 我国水稻功能基因组研究计划

水稻基因组序列的获得为基因功能研究奠定了

基础。“功能基因组学”的主要任务是解析这些序列的功能及组装结构, 并在此基础上揭示各种生命现象所涉及的基因及其表达调控的机理, 最终阐明基因组的功能^[15]。我国在水稻基因组测序取得进展的同时, 适时启动了水稻功能基因组研究。1999 年, 科技部通过国家重点基础研究发展计划 (“973”项目) 和国家高技术研究发展计划 (“863”计划) 开始资助中国水稻功能基因组研究。起初, 中国水稻功能基因组研究主要包括 3 部分内容: (1) 建立功能基因组研究平台; (2) 开展重要农艺性状功能基因组研究; (3) 重要基因的分离克隆和功能分析^[16]。随着水稻功能基因组研究的深入, 逐步拓展了功能基因组学研究平台, 主要包括: 种质资源、转录组、表观组、代谢组、表型组及生物信息数据库等组学平台。重要农艺性状功能基因组研究主要包括功能基因和调控因子的分离克隆、重要农艺性状形成的调控网络解析。功能基因组研究的最终目标是应用于基因组技术育种, 培育高产、优质、多抗的水稻新品种 (图 1)。

回顾我国水稻功能基因组研究的历史 (图 2), “九五”末开始水稻突变体库的构建工作, “十五”期间科技部启动“功能基因组和生物芯片”重大科技专项, 在国际上率先独立完成了籼稻 9311 全基因组测序和粳稻日本晴第 4 号染色体精确测序, 结果分别在 *Science* 和 *Nature* 上发表。克隆鉴定了水稻脆秆、抗病 (白叶枯病、稻瘟病)、耐盐、抗旱、氮磷高效利用等有潜在应用前景的重要农艺性状基因 18 个、功能明确基因 107 个、候选基因近 1 200 个。建立了含 27 万株独立转化子水稻突变体库和近 4 万条 cDNA 文库^[17]。

“十一五”期间水稻功能基因组研究在国家“863”计划现代农业技术领域“主要动植物功能基

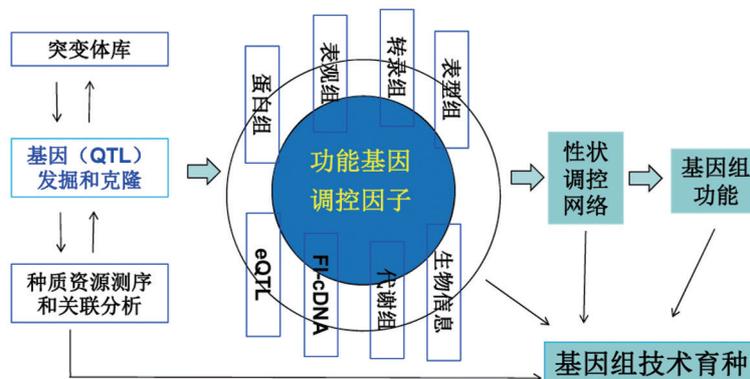


图1 中国水稻功能基因组研究总体思路

中国水稻功能基因组研究历史坐标



图2 中国水稻功能基因组研究历程

基因组研究”项目方面继续获得支持, 主要研究目标是利用“十五”建立的水稻功能基因组的技术平台, 系统开展水稻产量、品质、抗病抗逆、营养高效性状的功能基因组研究, 克隆验证新基因和调控因子, 应用芯片技术建立水稻重要农艺性状的全基因组表达谱, 取得了较大进展。据统计, 2008至2010年的3年间, 国际相关重要学术刊物 ($IF \geq 9.0$) 共发表水稻基因论文69篇, 其中来自中国大陆的高水平研究论文有28篇, 占40.6%^[18]。

“十二五”期间, “863”计划现代农业技术领域“水稻等主要农作物功能基因组研究”重大项目于2012年启动, 该项目针对我国主要粮食作物水稻、小麦、玉米功能基因组研究的前沿科学问题, 从分子、细胞和生物体等多个层次上全面揭示农业生物生命现象的本质, 发掘控制重要农艺性状的功能基因及其性状调控网络, 用基因组技术提升育种水平。2014年, 《国家中长期科学和技术发展规划纲要(2006—2020年)实施情况中期评估》“农业领域专题评估报告”中, “水稻等主要农作物功能基因组学”的研究成果被列为农业领域重大标志性成果之首^[19]。

2015年1月在北京召开了主题为“水稻功能基因组研究的现状和未来”的香山科学会议。会议主要围绕以下中心议题进行了深入探讨: (1) 水稻基因组测序及注释: 现状和发展方向; (2) 水稻重要性状的调控网络; (3) 水稻多组学(表观组、蛋白质组、代谢组、表型组等)研究; (4) 水稻基因组解析: 从1D到4D基因组。与会专家达成两点共识: 首先, 继续推动“水稻2020”研究计划(RICE2020)的实施, 启动水稻4D基因组学等新的研究生长点; 其次, 功能基因组研究要推动和保障水稻育种目标的实现。逐步搭建功能基因组与育种应用的桥梁,

将功能基因组的研究成果应用于育种技术、育种平台和育种体系, 培育绿色超级稻新品种, 服务于资源节约、环境友好的两型农业生产体系。

3 我国水稻功能基因组研究主要成绩

水稻功能基因组研究计划的长远目标是弄清水稻基因组中全部基因的功能, 将研究成果应用于作物品种改良, 带动农业生命科学的全面发展。我国在水稻全基因组测序的基础上, 系统构建了水稻功能基因组组学平台, 在发展和完善水稻功能基因组组学平台的同时, 开展了重要农艺性状的功能基因组研究。

3.1 水稻功能基因组组学研究平台

突变体是研究基因功能最主要的途径和基础, 国际上有10余所科研单位构建了水稻大型T-DNA插入突变体库, 如韩国的POSTECH研究所、法国的Genoplant研究所和我国台湾地区的植物研究院^[20-22]。中国在2000年末启动了水稻大型突变体库的创建计划, 由华中农业大学、中国科学院遗传与发育生物学研究所、中国科学院上海植物生理研究所等单位采用带有Enhancer trap的T-DNA标签共创建插入突变体约27万株系, 分离得到T-DNA和Tos17的有效侧翼序列总数已达到49 538条, 建成了相应的数据库(<http://rmd.ncpgr.cn>)^[23], 供世界水稻科研工作者共享。由于T-DNA在基因组上的整合不均匀且分离T-DNA侧翼序列困难, 难以实现水稻基因组上每个编码基因带有T-DNA标签。为获得基因组上包括非编码基因在内的每个基因的突变, CRISPR-Cas9基因编辑技术已开始成功应用于水稻基因突变体的创制^[24]。

为发掘基因的时空表达模式, 通过研究其在不

同细胞类型、发育阶段与环境条件下的表达模式来高通量研究基因的功能, 水稻功能基因组研究平台建立了全长 cDNA 文库。以粳稻品种日本晴为材料, 日本科学家建立的全长 cDNA 文库包括 38 000 条序列, 全长 cDNA 序列信息被收录于 KOME (Knowledge-Based Oryza Molecular Biological Encyclopedia) 数据库中供全球共享。中国科学家主要致力于籼稻品种的全长 cDNA 分离^[25-26]。中国科学院国家基因研究中心公布了籼稻品种广陆矮 4 号的 10 081 条全长 cDNA 序列和明恢 63 的 12 727 条全长 cDNA 序列, 均被收录于 RICD (Rice Indica cDNA Database) 数据库 (<http://www.ncgr.ac.cn/ricd/>) 中, 该数据库同时还收录了非洲栽培稻 2 045 条全长 cDNA 序列。利用 Affymetrix 全基因组表达芯片, 中国科学家系统地完成了优良杂交稻汕优 63 及其亲本珍汕 97 和明恢 63 全生育期不同组织或器官的特异性表达谱以及不同胁迫条件 (低氮、低磷、干旱和低温等) 的全基因组表达谱分析, 建成了表达谱数据 CREP (collection of rice expression profiles) 的信息平台 (<http://crep.ncpgr.cn/>)^[27]。

我国科学家率先开发了基于新一代测序技术的高通量基因型鉴定方法, 与目前广泛应用的分子标记相比, 新方法在速度上加快了 20 倍, 在精度上提高了 35 倍^[28]。完成了明恢 63 和珍汕 97 的全基因组重测序, 构建了包含 25 万个 SNP 标记的明恢 63 和珍汕 97 杂交分离群体 238 个重组自交系的超高密度遗传连锁图^[29]。基于高通量基因型分析平台, 我国科学家成功开展了水稻全基因组关联分析工作。中国科学院国家基因研究中心完成了中国水稻 517 个地方品种的低丰度测序, 构建了一套高密度的水稻单倍型图谱, 结合性状考察分析, 对 14 个重要农艺性状进行了全基因组关联分析, 并以高分辨率定位了农艺性状相关基因的候选位点^[30]。2010 年, *Nature Genetics* 配发专评《水稻全基因组关联分析的时代终于来临》。2011 年底, 我国科学家又完成了 950 份较有代表性的水稻品种的重测序, 利用构建的水稻高密度基因型图谱在粳稻群体、籼稻群体和整个水稻群体中进行了全基因组关联分析^[31]。RiceVarMap (<http://ricevarmap.ncpgr.cn/>) 整合了来自全世界 73 个国家的 1 479 份栽培稻的测序数据, 鉴定了 6 551 358 个 SNP 位点和 1 214 627 个 InDel 位点^[32]。经评估, 数据库中 SNP 数据的整体缺失率小于 1%, 准确性大于 99%, 已得到国内外研究人员的广泛使用。

植物代谢物是植物生长发育及逆境适应的物质基础, 代谢组研究对于作物抗逆和养分、品质功能基因组研究极为重要。建立了基于广泛定向代谢组分析的作物代谢组学研究平台^[33]。对珍汕 97 与明恢 63 重组自交群体的代谢组进行分析, 共检测到了近千种代谢物。以高密度遗传连锁图进行了代谢数量性状位点 (mQTL) 的分析, 其中 932 个代谢物定位到 2 800 多个 mQTL, 获得了大量高精度、大效应的位点^[34]。利用自然变异群体分析了水稻代谢组在种内及亚种间的巨大差异, 揭示出逆境应答代谢组在亚种分化中的可能作用。利用全基因组关联分析, 定位了数百个控制代谢物含量自然变异的位点^[35]。

随着高通量测序技术和功能基因组学的快速发展, 传统的植物表型检测手段已难以满足高通量研究的要求, 建立高效、精准的表型组分析平台已成为作物功能基因组学新的研发领域。华中农业大学联合华中科技大学研发了一套具有完全自主知识产权的全生育期高通量植物表型检测平台。该平台可容纳 5 472 盆水稻种植, 自动提取株高、叶面积、分蘖数、单株产量等 15 个重要性状的表型数据, 连续工作测量通量可达 1 920 盆 / 天。该系统能够准确客观地获取作物生长信息, 做到多种性状无损、实时测量, 提供的表型信息完备可靠, 实现了作物表型检测的高通量。相关论文发表在 *Nat Commun*^[36] 和 *Curr Opin Plant Biol*^[37] 等杂志上, 并被国际遗传学研究领域顶尖综述杂志 *Nat Rev Genet* 评选为亮点研究工作。目前, 该表型平台已试用于玉米、油菜、棉花等作物的表型鉴定。

利用基因组测序和功能基因组研究的成果, 我国研制出具有自主知识产权的水稻全基因组育种芯片, 达到国际领先水平。针对水稻基因组序列和公共资源中大量的 SNP 信息, 设计制造了具有自主知识产权的水稻中等密度芯片 RICE6K^[38]。该芯片是基于 Infinium 技术开发的, 芯片上的标记是从 500 多份水稻农家品种重测序数据中发掘的 400 多万 SNP 中挑选的代表性 SNP。RICE6K 包含 5 102 个 SNP 和 InDel 标记, 其中大约有 4 500 个高质量标记在测试的水稻样品中表现出很高的重复性。在 RICE6K 的基础上, 在对 801 份水稻品种的重测序数据中发掘的 10 000 000 个 SNP 位点进行筛选之后, 设计制作了 60K 基因芯片 RICE60K^[39]。经过测试表明, 这种芯片在基因分型上有着很高的准确性, 并且可以用于不同的检测目的。这种芯片已经成功

用于品种鉴定和性状基因导入的检测。水稻 6K 和 60K 全基因组育种芯片为全球首创，水稻全基因组育种芯片及其应用已申请国家发明专利和国际发明专利。

3.2 重要农艺性状基因功能解析

一直以来，我国水稻功能基因组研究瞄准重要农艺性状形成的分子调控网络开展工作，并正将其应用于重要农艺性状的分子改良。水稻重要农艺性状主要包括：产量、品质、抗病虫、养分利用、抗非生物逆境及生殖发育等。目前已定位、克隆水稻功能基因 2 103 个 (<http://www.ricedata.cn/gene>)。Zuo 和 Li^[40] 综述了在 2013 年以前我国科学家在水稻重要农艺性状基因的克隆及分子网络解析方面的主要成就，相关优秀成果发表在 *Science* (2 篇)、*Nature* (2 篇)、*Nat Genet* (13 篇)、*Nat Biotechnol* (2 篇)、*Mol Cell* (1 篇)、*Dev Cell* (1 篇)、*Genes Dev* (2 篇) 等系列顶级杂志上，表明我国在水稻功能基因组研究方面处于国际引领地位。

肖景华等^[41]总结了近 1 年来我国在水稻重要农艺性状基因功能解析方面取得的突出成果，结合 Zuo 和 Li^[40] 的报道，我国科学家在 IF \geq 9.0 的杂志上发表的控制重要农艺性状的功能基因共 97 个，其中生殖发育、产量和株型相关基因占 73%。回顾近 5 年我国水稻重要功能基因克隆的亮点工作，多篇论文已在 *Science*、*Nature*、*Cell* 等系列顶级杂志上发表。2013 年，*Nature* 杂志同期发表了我国的两篇文章。相关研究发现，D53 蛋白作为一种抑制因子，负调控独角金内酯信号转导^[42]，该项研究为农作物的株型改良提供了重要的理论基础。在产量性状功能基因克隆方面，分离克隆了控制粒长和粒重的 *GS3* 基因^[43-44]、正调控种子大小的基因 *GSS5*^[45]、影响千粒重的基因 *GW8*^[46]、控制粒长的基因 *GL3.1*^[47] 等，而 *DST* 基因通过控制细胞分裂素的合成影响水稻产量^[48]。籼粳亚种间存在强大的杂种优势，但杂种表现为不育，我国科学家发现 *S5* 是控制籼粳不育的一个主效位点，通过控制胚囊的发育调控杂种育性，提出了“杀手-保护者”互作的生殖隔离体系，解释了不同等位基因之间的互作引起生殖隔离，研究结果发表在 *Science* 杂志上^[49-50]。在两系育种中光温敏不育机理方面也取得重要研究进展，分离克隆了光敏雄性不育基因 *pms3*^[51]、短日照条件下的不育基因 *CSA*^[52]、温敏雄性不育基因 *TMS5*^[53]，通过对光敏和温敏雄性不育系进行转录组及甲基化组学分析，得到了大量参与该过程的基因，这些数据

对于进一步解析和拓展光、温敏雄性不育的机理提供了很好的参考。2014 年，我国科学家分离克隆了第一个水稻抗条纹叶枯病基因 *STVII*^[54]。前期分离克隆了抗白叶枯病主效基因 *xa13*、*xa25* 和 *xa23* 等，研究发现 *AvrPiz-t* 是水稻广谱抗稻瘟病基因 *Piz-t* 相对应的稻瘟病效应蛋白，*OsBB1* 基因正调控抗病反应，对多个稻瘟病菌生理小种表现为广谱抗性^[55]。鉴定出 *LYP4*、*LYP6* 具有感知肽聚糖和几丁质的双重作用，可作为细胞膜受体引发水稻天然免疫^[56]。从野生稻和栽培稻种质资源中鉴定了大量的抗褐飞虱材料，于 2009 年分离克隆了第一个抗褐飞虱基因 *Bph14*，并相继定位了 *Bph15*、*Bph6*、*Bph7*、*Bph27(t)* 等一批抗褐飞虱基因。2014 年在 *Nat Biotechnol* 上发表论文^[57]，完成了 *Bph3* 的图位克隆，相关研究表明该位点为一个编码四个植物凝集素类受体激酶 (*OsLecRK*) 的基因簇。水稻对低温胁迫非常敏感，我国科学家发现 QTL 基因 *COLD1* 及其人工驯化选择的 SNP 赋予粳稻耐寒性的新机制，研究结果发表在 2015 年 *Cell* 杂志上^[58]。同年，成功分离克隆了控制非洲稻高温抗性的主效 QTL *OgT1* (*Thermo-Tolerance1*)，论文发表在 *Nat Genet* 上^[59]。此外，还分离克隆了抗旱基因 *DWAI*^[60]、抗盐基因 *SITI* 等一批抗逆基因^[61]。*Nat Genet* 杂志还报道了我国科学家发现的氮磷高效利用基因，如氮利用基因 *DEP1*^[62]、*NRT1.1B*^[63] 等。2014 年，两个稻米品质基因 *Chalk5* 和 *OsAAP6* 相继被克隆，研究结果分别发表在 *Nat Genet*^[64] 和 *Nat Commun*^[65] 上。

据统计，2011—2015 年间，全世界科学家在 IF \geq 9 的刊物上共发表水稻相关论文 328 篇，其中中国大陆的论文数为 140 篇，占 43%，贡献最大。一大批的控制水稻高产、优质、抗逆和营养高效等重要农艺性状的功能基因，为绿色超级稻的培育储备了良好的基因资源。可以预见，水稻功能基因组学的研究成果将使得作物改良由过去的以机遇性为主的育种发展到设计性育种，继而实现传统育种向生物技术育种的转型。

4 未来水稻功能基因组学的发展趋势

我国水稻功能基因组研究计划实施以来，分离克隆了一批在育种中具有重要应用前景的功能基因，解析了多个重要生物学性状的分子机理，突破了一系列基因组育种技术，逐步确立了我国水稻功能基因组研究在国际上的优势地位和领先水平。随着人类等大量生物基因组测序计划的全部或部分完成，

一些针对 DNA、RNA (mRNA 与 noncoding RNAs)、蛋白质、代谢产物、表观遗传修饰等不同层次分子信息的新高通量技术不断涌现, 例如全基因组 SNP 芯片、表达谱芯片、蛋白质芯片、SAGE 测序、串联质谱等。高通量分析技术、生物计算机软件的开发和应用催生了一系列组 (-ome) 与组学 (-nomics) 新概念。在以高通量技术为代表的组学的带动下, 正逐渐形成多学科、多层次、多角度、多时空 (发育和进化) 的整体研究格局。水稻作为作物基因研究的模式植物, 其功能基因组的研究内容需要不断拓展, 变得更加趋于系统化和规模化。此外, 水稻功能基因组的研究成果亟需向基因组育种转化, 发展相关的生物技术育种体系, 建立基础研究应用于新品种培育的链条。

4.1 水稻2020研究计划(RICE 2020)

RICE 2020 计划是我国科学家基于全球水稻功能基因组研发现状和生物技术手段的不断创新, 适时提出的关于水稻功能基因组研究中长期发展的国际合作计划^[66], 包括以下主要内容: 建立国际共享的水稻功能基因组研究的技术平台和基因资源; 解码水稻全部基因的生物学功能; 开展系统的表观基因组学和基因表达分析研究, 明确基因的调控网络; 建立蛋白质组和蛋白质互作组; 挖掘栽培稻和野生稻的自然变异和基因组多样性; 发展生物信息学, 建立海量数据搜索和分析的数据库平台; 建立以基因组研究成果为基础的分子设计育种技术。我国水稻功能基因组在 RICE 2020 计划的指导下已取得傲人成果, 但考虑到水稻基因组的复杂性, RICE 2020 计划的总体目标仍然是下一阶段水稻功能基因组研究的灯塔。

4.2 重要农艺性状形成的分子网络解析

我国水稻功能基因组研究始终以水稻重要农艺性状的分子网络剖析和基因组遗传改良对技术和基因资源的需求为导向。经过几轮水稻功能基因组项目的实施, 我国在水稻产量、品质、抗病虫、抗逆、养分高效利用等重要农艺性状功能基因解析方面取得突破性进展, 相关的功能基因及其调控机制表现出较好的育种应用前景。由于重要农艺性状形成的分子网络的复杂性, 目前获得的功能基因仍然屈指可数, 相关的分子调控机制了解还不透彻。因此, 重要农艺性状形成的分子网络解析在相当长的一段时期内仍然是水稻功能基因组研究的重点。未来水稻功能基因组研究将进一步发掘种质资源的多样性, 拓展转录组学、表观组学、蛋白质组学和代谢

组学等组学研究平台, 分离克隆控制水稻重要农艺性状的功能基因及调控元件, 应用于水稻重要农艺性状的遗传改良。

4.3 水稻4D基因组学(RICE 4Dome)

基于水稻基因组测序技术的革新及已有的功能基因组研究平台, 从整体上开展水稻 4D 基因组学研究已成为今后水稻功能基因组研究新的增长点。针对水稻重要性状的生物学问题 (产量、抗逆、品质、杂种优势等), 系统研究水稻基因组三维空间结构及其动态变化对基因转录、复制、调控等生物过程的作用机制, 对解析水稻生长发育和环境适应的分子机理, 指导水稻的遗传改良有重大意义。

4.4 全基因组育种技术

充分利用高通量测序技术获得的大量水稻品种重测序结果, 将世界上最先进的分子标记检测技术和我国 10 多年的水稻基因组研究成果积累结合起来, 开展水稻全基因组选择育种技术, 搭建了水稻全基因组育种芯片技术平台, 有望实现育种过程的科学控制: 有目的地选择优良性状相关位点进行组合, 创造优良基因型; 在导入目标性状, 使受体亲本主要缺点得到改良的情况下, 高度保持其原有优良性状。该技术将对促进我国育种行业转型, 从传统育种向以基因组信息为依据的科学育种起到重要影响, 提高我国种业创新能力以及与国际种业巨头竞争的实力。水稻全基因组选择育种技术平台的建设和育种应用将为我国其他作物的全基因组选择育种技术提供示范和经验。

[参 考 文 献]

- [1] Sasaki T. The rice genome project in Japan. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 2027-8
- [2] Sasaki T, Burr B. International rice genome sequencing project: the effort to completely sequence the rice genome. Curr Opin Plant Biol, 2000, 3: 138-41
- [3] Yu J, Hu S, Wang J, et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). Science, 2002, 296: 79-92
- [4] Goff SA, Ricke D, Lan TH, et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). Science, 2002, 296: 92-100
- [5] Feng Q, Zhang Y, Hao P, et al. Sequence and analysis of rice chromosome 4. Nature, 2002, 420: 316-20
- [6] Sasaki T, Matsumoto T, Yamamoto K, et al. The genome sequence and structure of rice chromosome 1. Nature, 2002, 420: 312-6
- [7] The rice chromosome 10 sequencing consortium. In-depth view of structure, activity, and evolution of rice chromosome 10. Science, 2003, 300: 1566-9

- [8] International rice genome sequencing project. The map-based sequence of the rice genome. *Nature*, 2005, 436: 793-800
- [9] Kawahara Y, La Bastide MD, Hamilton JP, et al. Improvement of the *Oryza sativa* Nipponbare reference genome using next generation sequence and optical map data. *Rice (N Y)*, 2013, 6: 4
- [10] Zhang J, Chen LL, Xing F, et al. Extensive sequence divergence between the genomes of two elite *indica* rice varieties Zhenshan 97 and Minghui 63. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: E5163-71
- [11] Xu X, Liu X, Ge S, et al. Resequencing 50 accessions of cultivated and wild rice yields markers for identifying agronomically important genes. *Nat Biotechnol*, 2011, 30: 105-11
- [12] 3,000 rice genomes project. The 3,000 rice genomes project. *Gigascience*, 2014, 3: 7
- [13] Wing RA, Ammiraju JS, Luo MZ, et al. The *Oryza* Map Alignment Project: The golden path to unlocking the genetic potential of wild rice species. *Plant Mol Biol*, 2005, 59: 53-62
- [14] Huang X, Kurata N, Wei X, et al. A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. *Nature*, 2012, 490: 497-501
- [15] Hieter P, Boguski MS. Functional genomics: it's all how you read it. *Science*, 1997, 278: 601-2
- [16] Han B, Xue Y, Li J, et al. Rice functional genomics research in China. *Philos Trans R Soc B*, 2007, 362: 1009-21
- [17] 新闻集锦. 中国稻米, 2006, 12: 60
- [18] 鲁伟, 范敬群. 主要动植物功能基因组研究获系列突破[N/OL]. 科学时报, 2011-06-17. <http://news.sciencenet.cn/sbhtmlnews/2011/6/245511.html>
- [19] 张启发. 我国水稻功能基因组研究跻身领先行列[N/OL]. 科技日报, 2016-03-13. http://digitalpaper.stdaily.com/http_www.kjrb.com/kjrb/html/2016-03/13/content_333704.htm?div=-1
- [20] Jeon J, An G. Gene tagging in rice: a high throughput system for functional genomics. *Plant Sci*, 2001, 161: 211-9
- [21] Jeong D, An S, Kang M, et al. T-DNA insertional mutagenesis for activation tagging in rice. *Plant Physiol*, 2002, 130: 1636-44
- [22] Hsing YC, Chern C, Fan M, et al. A rice gene activation/knockout mutant resource for high throughput functional genomics. *Plant Mol Biol*, 2007, 63: 351-64
- [23] Wu C, Li X, Yuan W, et al. Development of enhancer trap lines for functional analysis of the rice genome. *Plant J*, 2003, 35: 418-27
- [24] Ma X, Zhang Q, Zhu Q, et al. A robust CRISPR/Cas9 system for convenient, high-efficiency multiplex genome editing in monocot and dicot plants. *Mol Plant*, 2015, 8: 1274-84
- [25] Liu X, Lu T, Yu S, et al. A collection of 10,096 *indica* rice full length cDNAs reveals highly expressed sequence divergence between *Oryza sativa indica* and *japonica* subspecies. *Plant Mol Biol*, 2007, 65: 403-15
- [26] Lu T, Huang X, Zhu C, et al. RICD: a rice *indica* cDNA database resource for rice functional genomics. *BMC Plant Biol*, 2008, 8: 118
- [27] Wang L, Xie W, Chen Y, et al. A dynamic gene expression atlas covering the entire life cycle of rice. *Plant J*, 2010, 61: 752-66
- [28] Huang X, Feng Q, Qian Q, et al. High-throughput genotyping by whole-genome resequencing. *Genome Res*, 2009, 19: 1068-76
- [29] Xie W, Feng Q, Yu H, et al. Parent-independent genotyping for constructing an ultrahigh-density linkage map based on population sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 10578-83
- [30] Huang X, Wei X, Sang T, et al. Genome-wide association studies of 14 agronomic traits in rice landraces. *Nat Genet*, 2010, 42: 961-7
- [31] Huang X, Zhao Y, Wei X, et al. Genome-wide association study of flowering time and grain yield traits in a worldwide collection of rice germplasm. *Nat Genet*, 2012, 44: 32-9
- [32] Zhao H, Yao W, Ouyang Y, et al. RiceVarMap: a comprehensive database of rice genomic variations. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43: D1018-22
- [33] Chen W, Gong L, Guo Z, et al. A novel integrated method for large-scale detection, identification and quantification of widely-targeted metabolites: application in study of rice metabolomics. *Mol Plant*, 2013, 6: 1769-80
- [34] Gong L, Chen W, Gao Y, et al. Genetic analysis of the metabolome exemplified using a rice population. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 20320-5
- [35] Chen W, Gao Y, Xie W, et al. Genome-wide association analyses provide genetic and biochemical insights into natural variation in rice metabolism. *Nat Genet*, 2014, 46: 714-21
- [36] Yang W, Guo Z, Huang C, et al. Combining high-throughput phenotyping and genome-wide association studies to reveal natural genetic variation in rice. *Nat Commun*, 2014, 5: 5087
- [37] Yang W, Duan L, Chen G, et al. Plant phenomics and high-throughput phenotyping: accelerating rice functional genomics using multidisciplinary technologies. *Curr Opin Plant Biol*, 2013, 16: 180-7
- [38] Yu H, Xie W, Li J, et al. A whole-genome SNP array (RICE6K) for genomic breeding in rice. *Plant Biotechnol J*, 2014, 12: 28-37
- [39] Chen H, Xie W, He H, et al. A high-density SNP genotyping array for rice biology and molecular breeding. *Mol Plant*, 2014, 7: 541-53
- [40] Zuo J, Li J. Molecular dissection of complex agronomic traits of rice: a team effort by Chinese scientists in recent years. *Natl Sci Rev*, 2014, 1: 253-76
- [41] 肖景华, 吴昌银, 袁猛, 等. 中国水稻功能基因组研究进展与展望. *科学通报*, 2015, 60: 1711-22
- [42] Jiang L, Liu X, Xiong G, et al. DWARF 53 acts as a repressor of strigolactone signalling in rice. *Nature*, 2013, 504: 401-5
- [43] Fan C, Xing Y, Mao H, et al. *GS3*, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and

- thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein. *Theor Appl Genet*, 2006, 112: 1164-71
- [44] Mao H, Sun S, Yao J, et al. Linking differential domain functions of the GS3 protein to natural variation of grain size in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 19579-84
- [45] Li Y, Fan C, Xing Y, et al. Natural variation in *GS5* plays an important role in regulating grain size and yield in rice. *Nat Genet*, 2011, 43: 1266-9
- [46] Wang S, Wu K, Yuan Q, et al. Control of grain size, shape and quality by *OsSPL16* in rice. *Nat Genet*, 2012, 44: 950-4
- [47] Qi P, Lin Y, Song X, et al. The novel quantitative trait locus *GL3.1* controls rice grain size and yield by regulating Cyclin-T1;3. *Cell Res*, 2012, 22: 1666-80
- [48] Li S, Zhao B, Yuan D, et al. Rice zinc finger protein *DST* enhances grain production through controlling *Gn1a/OsCKX2* expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 3167-72
- [49] Chen J, Ding J, Ouyang Y, et al. A triallelic system of *S5* is a major regulator of the reproductive barrier and compatibility of *indica-japonica* hybrids in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 11436-41
- [50] Yang J, Zhao X, Cheng K, et al. A killer-protector system regulates both hybrid sterility and segregation distortion in rice. *Science*, 2012, 337: 1336-40
- [51] Ding J, Lu Q, Ouyang Y, et al. A long noncoding RNA regulates photoperiod-sensitive male sterility, an essential component of hybrid rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 2654-9
- [52] Zhang H, Xu C, He Y, et al. Mutation in *CSA* creates a new photoperiod-sensitive genic male sterile line applicable for hybrid rice seed production. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 76-81
- [53] Zhou H, Zhou M, Yang Y, et al. RNase ZS1 processes UbL40 mRNAs and controls thermosensitive genic male sterility in rice. *Nat Commun*, 2014, 5: 4884
- [54] Wang Q, Liu Y, He J, et al. *STVII* encodes a sulphotransferase and confers durable resistance to rice stripe virus. *Nat Commun*, 2014, 5: 4768
- [55] Li W, Zhong S, Li G, et al. Rice RING protein OsBB11 with E3 ligase activity confers broad-spectrum resistance against *magnaportheorizae* by modifying the cell wall defence. *Cell Res*, 2011, 21: 835-48
- [56] Liu B, Li J, Ao Y, et al. Lysin motif-containing proteins LYP4 and LYP6 play dual roles in peptidoglycan and chitin perception in rice innate immunity. *Plant Cell*, 2012, 24: 3406-19
- [57] Liu Y, Wu H, Chen H, et al. A gene cluster encoding lectin receptor kinases confers broad-spectrum and durable insect resistance in rice. *Nat Biotechnol*, 2015, 33: 301-5
- [58] Ma Y, Dai X, Xu Y et al. *COLD1* confers chilling tolerance in rice. *Cell*, 2015, 160: 1209-21
- [59] Li X, Chao D, Wu Y, et al. Natural alleles of a proteasome $\alpha 2$ subunit gene contribute to thermotolerance and adaptation of African rice. *Nat Genet*, 2015, 47: 827-33
- [60] Zhu X, Xiong L. Putative megaenzyme DWA1 plays essential roles in drought resistance by regulating stress-induced wax deposition in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 17790-5
- [61] Li C, Wang G, Zhao J, et al. The receptor-like kinase SIT1 mediates salt sensitivity by activating MAPK3/6 and regulating ethylene homeostasis in rice. *Plant Cell*, 2014, 26: 2538-53
- [62] Sun H, Qian Q, Wu K, et al. Heterotrimeric G proteins regulate nitrogen-use efficiency in rice. *Nat Genet*, 2014, 46: 652-6
- [63] Hu B, Wang W, Ou S, et al. Variation in *NRT1.1B* contributes to nitrate-use divergence between rice subspecies. *Nat Genet*, 2015, 47: 834-8
- [64] Li Y, Fan C, Xing Y, et al. *Chalk5* encodes a vacuolar H⁺-translocating pyrophosphatase influencing grain chalkiness in rice. *Nat Genet*, 2014, 46: 398-404
- [65] Peng B, Kong H, Li Y, et al. OsAAP6 functions as an important regulator of grain protein content and nutritional quality in rice. *Nat Commun*, 2014, 5: 4847
- [66] Zhang Q, Li J, Xue Y, et al. Rice 2020: a call for an international coordinated effort in rice functional genomics. *Mol Plant*, 2008, 1: 715-9