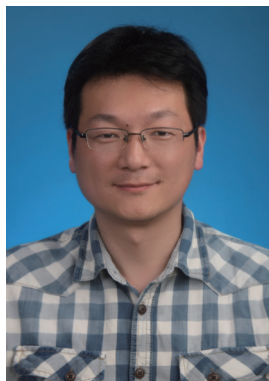


DOI: 10.13376/j.cblls/2016165

文章编号: 1004-0374(2016)10-1279-08



陈浩, 生物化学与分子生物学专业博士, 现为华中农业大学生命科学技术学院副教授、硕士生导师。主要研究领域为水稻基因工程, 研究方向包括水稻抗虫性状改良和水稻营养品质改良。在教学上主要承担《细胞工程》和《基因工程》理论课, 及《细胞培养与遗传转化技术》实验课的教学。在科学研究上, 主持和参加转基因生物新品种培育重大专项、农业部公益性行业科研专项、国家自然科学基金项目、国际科学基金项目等 10 多项; 获得发明专利 4 项, 在 *Curr Opin Plant Biol*、*Plant Biotechnol J*、*PLoS One*、*Theor Appl Genet*、*J Econ Entomol* 等国际学术杂志上发表论文 10 余篇, 参编英文学术著作 2 部。

功能性水稻研究思路和前景分析

陈 浩

(华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070)

摘 要: 以水稻为主食可为日常活动提供热量和蛋白质, 同时避免过多食用动物性食物, 从而预防某些慢性性疾病的发生。功能性水稻除具有一般水稻的特性外, 还具有保健和辅助治疗的功能, 可满足不同消费群体的需求。现对功能性水稻的研究进展和开发策略进行简单总结, 同时对功能性水稻的前景进行展望。

关键词: 功能性水稻; 生物强化; 巨胚米; 抗性淀粉; 黄金水稻; 有色水稻

中图分类号: Q943; S511

文献标志码: A

Research methods and prospects of functional rice

CHEN Hao

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

Abstract: As staple food, rice provides energy and protein for our daily activities, and prevents some chronic diseases by partial substitution of animal food. Functional rice possesses the functions of improving body health and adjunctive therapy for some diseases, meeting requirements from various consumer groups. In this review, the research advances and development strategies of functional rice are summarized, and its application potential is also discussed.

Key words: functional rice; biofortification; giant embryo rice; resistant starch; golden rice; colored rice

水稻是世界一半人口的主要粮食, 被全世界 100 多个国家广泛种植。水稻提供全球所摄入热量的 20% 以上, 而在一些发展中国家水稻提供所摄入热量的 80%。水稻在膳食中主要为人体提供热量并满足部分蛋白质的需求, 此外水稻还含有一些维生素和矿物质等营养成分。根据《中国居民膳食指南 2007》, 以谷类为主的膳食模式, 既可提供充足

的能量, 又避免了摄入过多的脂肪及动物性食物, 对预防相关慢性病的发生具有重要意义。

收稿日期: 2016-07-11

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); 国家转基因重大专项(2016ZX08001-001)

通信作者: E-mail: hchen@mail.hzau.edu.cn

功能性水稻是一类特殊的水稻产品。功能性水稻主要指水稻的胚乳、胚和米糠中含有特殊活性物质，具有保健和辅助治疗的功效，可以满足不同消费群体的需求。长期以来我国水稻育种目标以高产、抗病虫等重要农艺性状为主，功能性水稻的相关研究较少且不受重视。近年来，随着我国社会经济的快速发展和人民群众生活水平的不断提高，大家对于健康越来越重视。“功能食品”和“功能农业”等概念受到越来越多人的关注。事实上，日本、欧美等发达国家一直非常重视稻米中必需成分和生理活性成分的研究。比如日本在 20 世纪 90 年代就开发了针对高血压患者的功能性水稻巨胚米投放市场，受到高血压患者的欢迎^[1]。本文拟对功能性水稻的研究进展进行回顾和梳理，并对其发展前景进行展望。

1 水稻种子的结构、营养成分及发芽糙米

水稻的谷粒是水稻种植的主要收获部分，俗称“种子”，水稻谷粒去壳即为糙米。糙米是水稻真正的果实，称为颖果。糙米的外层包裹着果皮和种皮，但两者合生不易分离。种皮之内为胚乳和胚，其中胚乳的外层为糊粉层，内部是富含淀粉的胚乳细胞。消费者通常在市场上买到的大米为加工过的精米，为糙米去掉糊粉层及其以外的部分所得到的，而去掉部分（果皮、种皮、糊粉层和胚芽）则成为米糠成分，米糠约占糙米总重量的 10%。稻米中的营养成分主要包含碳水化合物、蛋白质、脂类、矿物质（磷、钾、镁、硅）以及部分水溶性维生素等（主要是水溶性的维生素 B 族，包括维生素 B1、维生素 B2、维生素 B6、维生素 B12、烟酸、肌醇和维生素 E 等），不含有脂溶性的维生素 A 和维生素 D。此外，稻米中还含有一些抗营养成分，如植酸、胰蛋白酶抑制剂以及过敏原等^[2]。

虽然人们习惯于消费精米，但糙米的营养价值远高于精米。稻米中 64% 以上的营养元素和生理活性物质集中在胚和种皮中^[1]，在加工中被损失掉。表 1 显示了糙米和精米的主要营养成分的含量对比。除蛋白质含量变化不大外，糙米被加工成精米后其他重要营养成分如脂肪、膳食纤维、维生素 B 族、铁、钙和 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 的损失均十分明显^[3]。比较遗憾的是，由于口感不佳，消费者难以接受糙米。然而，糙米经过发芽处理再食用可能是解决其口感问题的一个办法。所谓发芽糙米是将糙米在一定温度条件下浸水一段时间，再

表1 糙米加工前后部分主要营养成分含量对比^[3]

营养成分	糙米	精米	加工损失
蛋白质(g/100 g)	8.9	8.5	4%
脂肪(g/100 g)	2.1	0.6	71%
膳食纤维(g/100 g)	2.4	0.6	75%
维生素B1(g/100 g)	16.3	4.7	71%
维生素B2(g/100 g)	211.9	90.2	57%
尼克酸(μ g/100 g)	1260.8	1047.9	17%
钙(mg/kg)	82.1	53.6	35%
铁(mg/kg)	26.1	6.04	77%
γ -氨基丁酸(mg/kg)	26	6.6	75%

将其干燥后保存食用。糙米经发芽处理后，其所含大量的酶（蛋白酶、植酸酶、淀粉酶等）被激活，将糙米米糠层酶解，同时将部分蛋白质水解为氨基酸，将淀粉转化为糖类，从而在改善口感的同时，保留矿物质、维生素、膳食纤维等营养成分^[4]。发芽糙米最具保健价值的功能性成分是 GABA。GABA 是一种四碳的非蛋白质氨基酸，广泛分布于从细菌到植物、动物等所有生物体中。在哺乳动物中，GABA 是一种中枢神经系统的抑制性神经递质，具有调节血压的功能^[5]。此外，GABA 还可以改善由于衰老引起的大脑视觉皮层功能的退化^[6]。研究发现，糙米中 GABA 的含量会在浸水后大幅度地上升。因此，相对于未处理的糙米，发芽糙米不仅口感改善，而且保健功能也大幅提高，是一种很好的保健食品。

2 巨胚稻(giant embryo rice)

巨胚稻是通过人工诱变获得的一种特殊水稻种质资源。巨胚稻最突出的特点是胚的大小是普通水稻的 2~3 倍，最高可达 5 倍^[6]。因为水稻的胚含有比胚乳更丰富的营养物质，巨胚米增加了糙米中胚的比重因而提高了其营养价值。1981 年，日本育种家 Satoh 和 Omura^[8]报道了利用化学诱变剂处理水稻品种金南风 (Kinmaze) 的受精卵细胞获得巨胚突变体。2001 年，Maeda 等^[9]报道将金南风的巨胚突变体 EM40 与高产品种 Akenohoshi 杂交培育了首个巨胚稻品种“Haiminori”。早期国内学者通过引入巨胚稻资源转育的方式培育出了巨胚稻品种。比如南京农业大学万建民等引进日本的 Haiminori 与高产品种“武运粳 7 号”杂交，育成巨胚稻品系 W0250。此后通过人工诱变的方式，国内的育种家也培育出了新的巨胚稻品系。比如中国水稻研究所黄大年等以水稻品种“秀水 110”为材料，通过组

织培养和系统选育培育出巨胚稻“伽马-1”(基尔-1)等。目前国内研究小组通过各种诱变方法创制出一批巨胚稻种质资源^[10]。对巨胚稻的遗传学研究表明,巨胚性状由水稻第7号染色体上的一对隐性基因控制^[10]。

研究表明,糙米中的GABA主要存在于胚中。因此巨胚稻的糙米由于胚的增大,GABA的含量也显著增加。巨胚稻Haiminori胚的体积是普通水稻的3~4倍,浸水4h后Haiminori糙米中GABA的含量也大约是普通水稻糙米的4倍^[9]。国内研究表明,普通水稻品种TB糙米中GABA的含量为1.9 mg/100 g,浸水45h达到最高值,为31.5 mg/100 g;TB的巨胚突变体TgeB糙米中GABA的含量为9.4 mg/100 g,浸水45h达到最高值,为61.7 mg/100 g^[11]。糙米浸水后GABA的含量大幅上升与浸水后GABA合成相关的谷氨酸脱羧酶的活性上升有关^[12]。动物实验证实,发芽巨胚糙米可以降低高血压大鼠的血压,而对正常血压的大鼠无降压效果^[13]。这意味着发芽巨胚糙米是高血压患者很好的保健食品,同时对健康人的血压无影响。

除了人工诱变产生巨胚突变体外,利用基因工程的策略也获得了富GABA的水稻。植物中的GABA由谷氨酸脱羧酶(glutamate decarboxylase, GAD)催化谷氨酸而生成。GAD通过其C端的钙和钙调素的结合区域调控自身的酶活从而调控GABA的合成。因此,将GAD的C端去除可大幅提高其酶活。在水稻中组成型过表达C端截短的水稻GAD2蛋白(OsGAD2ΔC)可使转基因水稻愈伤组织中GABA含量提高100倍,但再生转基因植株出现了矮化、白化和不育等异常表型^[14]。随后研究表明,如果仅在水稻种子中组织特异性地表达OsGAD2ΔC,则再生的转基因水稻育性及其他表型与非转基因对照无明显差异,但转基因糙米中GABA的含量最高增加了约30倍^[15]。动物实验表明,连续喂饲富GABA转基因水稻米粉6周,可使高血压大鼠的血压下降20 mmHg,同时对正常血压大鼠的血压无影响。2015年,周露等^[16]报道利用RNAi策略抑制水稻中GABA代谢酶GABA转氨酶1(GABA-T1)的表达,转基因水稻糙米中GABA的含量相对于非转基因对照提高了13倍。

3 高抗性淀粉含量水稻

作为主食的精米具有较高的血糖升高指数。根据《中国居民膳食指南2007》,如果葡萄糖的血糖

指数定为100,精米饭的血糖指数可达83.2。显然精米饭属于高血糖生成指数食物,糖尿病患者不宜多食。水稻具有较高的血糖生成指数是因为其可消化淀粉的含量高,而抗性淀粉含量低。抗性淀粉是指在健康人的小肠中不被吸收,而在大肠中发酵分解的淀粉及其降解物。研究表明,抗性淀粉对人体健康具有诸多益处,比如降低血糖、血脂,控制体重,利于肠道健康和利于矿质吸收等。高抗性淀粉含量的稻米可以增加饱腹感、节制饮食和控制血糖。然而,育种家曾对我国多个稻区的200多个水稻品种进行抗性淀粉含量的分析,发现绝大多数品种含量低于1%,极个别品种的抗性淀粉含量接近3%。由于抗性淀粉含量在不同水稻品种的变异度不大,通过已有水稻种质资源培育高抗性淀粉含量的品种具有较大难度。目前,通过诱变育种技术培育了一批抗性淀粉含量大于10%的高抗性淀粉含量稻米。利用高抗性淀粉含量水稻生产的具有降糖功能的大米已经商业化。高抗性淀粉水稻相关的遗传学研究不多,其抗性淀粉的形成机制不甚清楚^[17]。

利用基因工程的策略培育高抗性淀粉含量的水稻也获得了很好的效果。2012年,Zhu等^[18]利用RNAi策略,在转基因水稻中抑制淀粉分支酶(starch branching enzyme, SBE)SBEI和SBEII的表达,转基因水稻胚乳中直链淀粉含量从27.2%大幅提高到64.8%,抗性淀粉含量也从0显著提高到14.6%,对健康有益的膳食纤维从6.8%提高到15.2%。动物实验表明,这种高抗性淀粉含量的转基因稻米可以显著降低糖尿病大鼠的血糖反应。此外,还可以控制普通大鼠的体重增加,增加排泄物的量、湿度和短链脂肪酸,改善肠道健康^[18]。

4 高赖氨酸含量水稻

精米中蛋白质含量大约占干重的5%~17%。水稻与其他谷物类作物如小麦和玉米相比总蛋白含量不算高,但氨基酸组成却比小麦和玉米合理^[2]。换言之,水稻所含蛋白质的营养价值更高。但是,水稻中人体必需的赖氨酸的含量却较低。赖氨酸是一种重要的氨基酸,人体缺少赖氨酸会限制其他氨基酸的利用,所以赖氨酸甚至被称为“第一必需氨基酸”。通过常规育种培育高赖氨酸水稻品种的研究相对较少。常用的提高稻米赖氨酸含量的基因工程策略是在胚乳中表达富含赖氨酸残基的外源蛋白,如在水稻种子中表达豆类蛋白或马铃薯花粉蛋白^[19-21]。植物中赖氨酸的合成途径可通过反馈抑制

机制来调控游离赖氨酸的积累。2012年, Long等^[22]从赖氨酸合成代谢途径入手提高稻米中游离赖氨酸的含量, 获得了较好的结果。在水稻中过表达细菌来源对赖氨酸反馈抑制不敏感的赖氨酸合成限速酶天冬氨酸激酶 (aspartate kinase, AK) 和二氢吡啶二羧酸合成酶 (dihydrodipicolinate synthase, DHPS)。同时采用 RNAi 技术在胚乳中抑制赖氨酸降解相关的酮戊二酸还原酶/酵母氨酸脱氢酶 (ketoglutaric acid reductase/saccharopine dehydrogenase, LKR/SDH) 的表达。通过同时增加合成和控制降解的策略, 转基因水稻种子中的游离赖氨酸的含量相对于非转基因对照最高增加了 60 倍^[22]。

5 维生素改良的转基因水稻

水稻种子中不含有维生素 A, 因此以水稻为主食的贫困人群中维生素 A 缺乏症十分常见。维生素 A 是人体必需的微量元素, 维生素 A 缺乏的症状常表现为夜盲症、眼球干燥、角膜软化, 严重的甚至导致失明。著名的黄金水稻就是为解决维生素 A 缺乏症而发明的。黄金水稻的胚乳可积累 β -胡萝卜素 (图 1), 而 β -胡萝卜素作为维生素 A 合成的直接前体在人体内极易转化为维生素 A, 因此食用黄金水稻就可以有效缓解维生素 A 缺乏症。第一代黄金水稻中胚乳特异性表达了水仙花来源的八氢番茄红素合成酶和细菌来源的八氢番茄红素去饱和酶, 在水稻胚乳中建立了原本没有的 β -胡萝卜素合成途径, 转基因水稻胚乳中积累的 β -胡萝卜素为 1.6 $\mu\text{g/g}$ ^[23]。由于有反对者认为第一代黄金水稻中 β -胡萝卜素的含量偏低, 即便大量食用也难以补充足够的维生素 A, 随后 β -胡萝卜素含量更大幅提高的第二代黄金水稻被开发出来^[24]。第二代黄金水稻中导入了玉米来源的八氢番茄红素合成酶和细菌来源的八氢番茄红素去饱和酶, 转基因水稻胚乳中积累的

β -胡萝卜素相对于第一代黄金水稻增加了约 23 倍^[24]。

水稻籽粒中水溶性叶酸 (维生素 B9) 的含量较低, 在以水稻为主食的发展中国家的人群叶酸缺乏的情况也比较普遍。叶酸缺乏会导致神经管缺陷, 如婴儿的脊柱裂等先天缺陷以及巨幼红细胞性贫血等问题。植物中的叶酸由蝶呤、氨基苯甲酸和谷氨酸在线粒体中缩合而成。其中蝶呤的合成在细胞质中完成, 第一步反应由 GTP 环化水解酶 I (GTP cyclohydrolase I, GTPCHI) 催化。氨基苯甲酸的合成在质体中完成, 第一步反应由氨基脱氧分支酸酶 (aminodeoxychorismate synthase, ADCS) 催化。2007年, Storozhenko等^[25]在水稻胚乳中特异性地过表达拟南芥来源的 GTPCHI 和 ADCS, 检测发现转基因水稻种子中叶酸的含量相对于野生型对照增加了 15~100 倍。叶酸含量最高的一个转基因水稻家系种子中叶酸的含量为 38.3 nmol/g ^[25]。随后该研究小组又研发了第二代高叶酸水稻。在第二代高叶酸水稻中, 除了导入 GTPCHI 和 ADCS 外, 叶酸结合蛋白被导入水稻胚乳以提高叶酸的稳定性。在增加叶酸结合蛋白后, 转基因水稻种子中叶酸的含量进一步增加到野生对照含量的 150 倍^[26]。

6 铁和锌强化的水稻

铁和锌是两种人体所需要的重要矿质元素, 但稻米中铁和锌的含量普遍偏低。一般水稻品种的精米铁和锌的含量分别约为 2 $\mu\text{g/g}$ 和 16 $\mu\text{g/g}$ ^[27]。国际上针对发展中国家贫困人口微量营养元素缺乏症流行的状况提出了 HarvestPlus 计划。HarvestPlus 计划中针对稻米铁和锌含量的育种目标分别是 13 $\mu\text{g/g}$ 和 28 $\mu\text{g/g}$, 这个含量大约可以提供人体每天必需量的 30%^[27]。相对于普通水稻, HarvestPlus 计划要求水稻中铁的含量提高 6 倍。1999年, Goto等^[28]最先报道在水稻胚乳中特异性地表达大豆来



由左至右: 普通白米(种皮不含任何黄酮类物质)、棕色米(种皮含一些黄酮类物质)、红米(种皮含原花青素)、黑米(种皮含花青素)、黄金大米(种皮及胚乳中含 β -胡萝卜素)。

图1 不同颜色的糙米

源的铁贮存蛋白基因 (*ferritin*), 转基因稻米中铁的含量是原来的 2~3 倍。随后的研究表明, 水稻胚乳中过量表达 *ferritin* 不仅可以提高稻米中铁的含量, 锌的含量也有一定程度的提高^[29]。然而单独表达 *ferritin* 对提高稻米中铁含量效果较为有限, 一般仅可将稻米中铁的含量提高 2~3 倍^[30-31]。2005 年, Qu 等^[32] 的研究证实转 *ferritin* 水稻的稻米中, 铁的含量与 *ferritin* 的表达量不完全正相关。因此通过提升 *ferritin* 的表达量来提高转 *ferritin* 水稻种子中铁的含量是行不通的。

烟酰胺是金属离子螯合剂, 可以在植物中螯合铁和锌, 它对于金属离子在植物中的吸收和保持稳态具有重要作用。研究表明, 水稻中表达大麦的烟酰胺合酶 (nicotianamine synthase, NAS) 基因 *HvNAS*, 可以使精米中铁和锌的含量分别提高 3 倍和 2 倍^[33]。2011 年, Johnson 等^[34] 报道在水稻中组成型表达 3 种烟酰胺合酶基因 *OsNAS1*、*OsNAS2* 和 *OsNAS3*, 其中转 *OsNAS2* 水稻中铁的含量提高最多 (4 倍), 且锌的含量也提高 2 倍。2009 年, Wirth 等^[35] 的研究表明, 烟酰胺合酶与 *ferritin* 蛋白具有协同作用。组成型表达拟南芥 *NAS* 联合胚乳特异性表达菜豆 *ferritin* 的转基因水稻, 转基因精米中铁的含量是对照的 6 倍。2016 年, 国际水稻所 Trijatmiko 等^[27] 报道了一个高铁水稻转化事件 NASFer-274, 其过表达了水稻的 *OsNAS2* 和大豆的 *ferritin* 基因 *SferH-1*。在两个国家的田间试验表明, NASFer-274 的精米中分别含有 15 $\mu\text{g/g}$ 的铁和 45.7 $\mu\text{g/g}$ 的锌, 超过了 HarvestPlus 计划要求的稻米铁和锌含量的育种目标。此外, NASFer-274 水稻的产量与原品种相比未出现产量和品质的改变, 具有较大的商业化潜力^[27]。

7 有色水稻

有色稻米主要由不同色素沉积在水稻种子的种皮内而使得其糙米具有不同的颜色 (图 1)。比如黑米是因为其种皮富含天然色素花青素而呈现紫色或黑色, 而大多数普通水稻品种的种皮中不含有花青素。花青素是黄酮类的天然植物色素, 具有极强的抗氧化和自由基清除功能, 因而具有抗癌、抗炎症、抗菌、保护视力、预防心血管疾病和糖尿病等重要生理功能。含有花青素的黑米在我国有两千多年的种植历史。在古代黑米作为珍稀贡品进贡给皇帝享用。

植物中花青素的合成途径研究得相对清楚, 其

代谢调控主要发生在合成基因的转录水平上。通过一个或多个转录因子与合成途径的结构基因启动子上相应的顺式元件结合, 从而激活或抑制其表达^[36]。研究发现, 对花青素代谢途径中的结构基因起调控作用的主要是 MYB、bHLH 和 WD40 重复蛋白三类转录因子。一般认为花青素的生物合成由 WD40-bHLH-MYB 复合物控制, 但不同的调节复合物控制花青素生物合成的具体机制仍有待研究^[37]。相对于拟南芥和玉米等植物, 水稻中花青素合成调控基因的研究相对落后。

1996 年, Hu 等^[38] 报道利用玉米 *Lc* 基因 (bHLH 类转录因子) 的序列在水稻中找到 2 个同源基因, 命名为 *Ra* 和 *Rb*, 其中 *Ra* 与 *Lc* 有较高的同源性。瞬时转化证实 *Ra* 在玉米糊粉层中表达可激活花青素合成途径, *Rb* 是否有功能有待验证。2000 年, Hu 等^[39] 报道从紫稻品种 Purple522 中找到第二个具有生物学功能的 *Rb* 基因 *Rb2*。瞬时转化 *Rb2* 与 *OsCl1*, 可激活玉米悬浮细胞的花青素合成, 但是玉米的 *Lc*、*Cl* 以及水稻的 *Rb2* 都不能单独激活玉米悬浮细胞花青素的合成。此外, 作者还发现了一个新的 *Ra* 同源基因, 命名为 *Ra2*, 将之前发现的 *Ra* 命名为 *Ra1*。2001 年, Sakamoto 等^[40] 在水稻中发现了与玉米 *B-Peru* 同源的两个基因 *OsB1* 和 *OsB2*。*OsB2* 在 *OsB1* 基因下游 10 kb 左右, 遗传学分析表明 *OsB1* 和 *OsB2* 与紫色叶片的性状共分离。*OsB1* 的核酸序列与 *Ra1* 几乎完全一致, 但 2 个碱基的缺失导致 C 端 44 个氨基酸与 *Ra1* 不同。2013 年, Rahman 等^[41] 通过遗传分析阐明, 黑米种皮颜色由两个基因 *Pp* (purple pericarp A) 和 *Pb* (purple pericarp B) 决定。功能分析表明, *Pb* 决定种皮颜色的有无, *Pp* 决定种皮颜色的深浅。如果有 *Pb* (无论纯合还是杂合), *PpPp* 种皮为深紫, *Pbpb* 种皮中等紫色, *pbpb* 种皮棕色。如果没有 *Pb*, 无论 *Pp* 什么状态, 种皮均为白色。四种颜色的种皮, 深紫含最多的矢车菊素-3-O-葡萄糖苷, 中等紫色含少量矢车菊素-3-O-葡萄糖苷, 棕色和白色种皮不含花青苷。其中 *Pb* 定位于第 4 染色体, 确定为 *Ra* 基因 (即 *OsB1*)。2015 年, Oikawa 等^[42] 报道了 bHLH 类的转录因子基因 *kala4* (即 *OsB2*) 的启动子区域发生变异导致表达模式改变, 从而使得水稻胚乳中积累花青素, 是黑米形成的重要机制。水稻中参与花青素调节的 WD40 转录因子目前尚无相关研究报道。

除了黑米, 红米是另外一类具有食疗和保健功效的有色稻米。与黑米不同, 红米种皮呈现红色是

富含另外一种黄酮物质——原花青素(又称为缩合单宁)。原花青素同样具有极强的抗氧化、消除自由基的功能,因而具有与花青素类似的保健功效。遗传学研究表明,红米中原花青素的合成主要受一个具有bHLH结构的Myc类转录因子基因*Rc*调控。白米中不能合成原花青素的原因是*Rc*基因的第6外显子内存在一个14 bp缺失,该缺失导致移码突变从而使*Rc*基因失去功能^[43]。

已有一些报道尝试利用基因工程策略来调控水稻胚乳中类黄酮的合成。2006年,Shin等^[44]将玉米来源的*CI*和*R-S*在水稻胚乳中表达,转基因水稻糙米中积累了多种类黄酮物质,糙米颜色从白色转变为深褐色。随后,从该转基因水稻种子中分离到4种已知和4种未知的类黄酮物质。DPPH和ABTS自由基清除测试表明,相对于非转基因原品种和转基因杂交种,转基因水稻种子抽提物自由基清除能力大幅上升^[45]。2013年,Song等^[46]报道在白米品种Chao2-10和紫米品种Qingjiaozidao胚乳中特异性地表达玉米*Lc*基因,转基因Chao2-10的种皮变成了深褐色,转基因白米和紫米的糙米中总类黄酮含量均显著上升,但种子粒厚和粒重有轻微下降。与上述导入调控基因的策略不同,2013年,Ogo等^[47]报道在水稻品种Kita-ake的种子中导入水稻、拟南芥、大豆、西芹(parsley)和蓝堇(blue viola)等植物来源的类黄酮合成的结构酶,得到了一系列积累特定类黄酮物质的转基因水稻。柚皮素(naringenin)是类黄酮物质合成的通用前体,在水稻种子中对柚皮素合成相关的基因*OsPAL*、*OsC4H*、*Os4CL*、*OsCHS*和*OsCHI*进行测试,显示*OsPAL*和*OsCHS*是水稻种子积累柚皮素所必需的。因此,进一步的研究均以含有*OsPAL*和*OsCHS*的转基因水稻为基础。在导入*OsPAL*和*OsCHS*的基础上,若导入拟南芥的*AtFLS*(黄酮醇合酶基因)和*AtF3H*(黄酮醇3羟化酶基因),转基因水稻种子主要积累黄酮醇山奈酚(kaempferol);若导入大豆的*IFS*(异黄酮合酶基因),主要积累异黄酮染料木黄酮(genistein);若导入西芹的黄酮合酶基因*PoFNSI*和*PoFNSII*,主要积累黄酮芹菜素(apigenin)、金圣草黄素(chrysoeriol)和小麦黄素(tricin)。为了验证是否可以通过转基因系统对内源类黄酮进行修饰,在含有芹菜素的水稻中导入蓝堇的*F3'5'H*(类黄酮3'5'羟化酶基因)和水稻的*OsOMT*(O-甲基转移酶基因),种子按预期积累小麦黄素。基于上述研究结果,Ogo等^[47]认为水稻种子的内源酶对类黄

酮代谢与修饰的影响很小,导入外源酶容易得到预期的黄酮产物,因此水稻种子是一种生产类黄酮产物的理想材料。

8 前景分析

随着我国社会经济的发展,健康问题越来越受到广大群众的关注,“吃饱更要吃好”成为共识。可以预见随着人民群众生活水平的提高,与健康相关的功能水稻的培育必将成为作物育种的重要方向。中医在中国有数千年的历史,其提倡“药食同源”的观点在国内也早已深入人心。相对于提取食物中的活性成分制成的保健产品,功能性食品显得更“天然”,也更易于为国内消费者所接受。

对功能性水稻的前景分析,需要考察其潜在的消费群体。功能性水稻针对的消费对象可以大致分为三类。第一类是营养摄入不足的贫困人口,改良的目标是水稻中没有或含量较低的一些重要营养元素,这种改良也称为生物强化(biofortification)。比如HarvestPlus国际项目,提出的主要改良目标是主粮作物中的维生素A(β -胡萝卜素)、铁和锌。第二类潜在消费群体的情况恰恰相反。对于富裕人群来说,营养过剩导致的各类慢性疾病如高血压、糖尿病、冠心病、肥胖和癌症等是主要威胁。随着世界经济的发展,全世界范围内慢性病的发病率都在上升。以往老年人才患的慢性病在年轻人群变得常见,对慢性病具有保健和辅助治疗的功能性水稻产品更受这部分消费群体的关注。根据世界卫生组织的《全球糖尿病报告》,2014年全球糖尿病患者达4.22亿,成人患病率从1980年的4.7%上升到8.5%。而国内高血压的发病率则更为惊人,一个近期的全国性调查显示,中国大于18岁的成人中高血压的发病率达到29.6%^[48]。显而易见,对糖尿病有辅助治疗作用的高抗性淀粉含量水稻以及对高血压有辅助治疗作用的巨胚水稻在国内有着巨大的市场前景。第三类功能性水稻则可能适用所有人群。比如有色稻米(黑米或红米)中富含对人体健康有益的花青素和原花青素等黄酮类物质。这些营养物质对所有的人群均具有保健和促进健康作用。但是,有色稻米中对健康有利的天然色素仅积累在种皮部位,种子内部的胚乳没有积累。因此,有色水稻只能以糙米的形式食用,由于口味不佳通常只能熬粥,很大程度上限制了有色稻米的消费需求。如果能够通过育种的方式让水稻胚乳中积累更多的营养,必将具有更大的市场前景。

[参 考 文 献]

- [1] 胡培松. 功能性稻米研究与开发. 中国稻米, 2003, 5: 3-5
- [2] OECD. Consensus document on compositional considerations for new varieties of rice: Key food and feed nutrients and anti-nutrients. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, 2004, 10
- [3] 于巍, 周坚, 徐群英, 等. 糙米与精米的营养价值与质构特性比较研究. 食品科学, 2010, 31: 95-8
- [4] 李勇. 发芽糙米的储藏特性及其GABA含量测定方法的研究[D]. 成都: 西华大学, 2014
- [5] Takahashi H, Tiba M, Iino M, et al. The effect of γ -aminobutyric acid on blood pressure. Jpn J Physiol, 1955, 5: 334-41
- [6] 魏振承, 张名位, 池建伟, 等. 引进巨胚稻与普通稻的米质和营养成分分析比较. 植物遗传资源学报, 2005, 6: 386-9
- [7] Leventhal AG, Wang Y, Pu M, et al. GABA and its agonists improved visual cortical function in senescent monkeys. Science, 2003, 300: 812-5
- [8] Satoh H, Omur T. New endosperm mutations induced by chemical mutagens in rice *Oryza sativa* L. Japan J Breed, 1981, 31: 316-26
- [9] Maeda H, Nemoto H, Iida S, et al. A new rice variety with giant embryos, "Haiminori". Breed Sci, 2001, 51: 211-3
- [10] 张祥喜, 袁林峰, 刘凯, 等. 富含 γ -氨基丁酸(GABA)的巨胚功能稻研究进展. 江西农业学报, 2007, 19: 36-9
- [11] 张艳华. 巨胚稻生物学特征及营养成分研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2010
- [12] 刘玲珑, 江玲, 刘世家, 等. 巨胚水稻W025糙米浸水后 γ -氨基丁酸含量变化的研究. 作物学报, 2005, 10: 1265-70
- [13] 周鑫. "上师大5号"巨胚糙米对缓解大鼠高血压效应分析[D]. 上海: 上海师范大学, 2015
- [14] Akama K, Takaiwa F. C-terminal extension of rice glutamate decarboxylase (OsGAD2) functions as an autoinhibitory domain and overexpression of a truncated mutant results in the accumulation of extremely high levels of GABA in plant cells. J Exp Bot, 2007, 58: 2699-707
- [15] Akama K, Kanetou J, Shimosaki S, et al. Seed-specific expression of truncated OsGAD2 produces GABA-enriched rice grains that influence a decrease in blood pressure in spontaneously hypertensive rats. Transgenic Res, 2009, 18: 865-76
- [16] 周露, 沈贝贝, 白苏阳, 等. 以RNA干扰 γ -氨基丁酸转氨酶1基因(OsGABA-T1)表达提高稻米 γ -氨基丁酸(GABA)含量. 作物学报, 2015, 41: 1305-12
- [17] 方长云, 胡贤巧, 卢林, 等. 稻米抗性淀粉的研究进展. 核农学报, 2015, 29: 513-20
- [18] Zhu L, Gu M, Meng X, et al. High-amylose rice improves indices of animal health in normal and diabetic rats. Plant Biotechnol J, 2012, 10: 353-62
- [19] 唐俐, 刘巧泉, 邓晓湘, 等. 无抗性选择标记的转高赖氨酸蛋白(LRP)基因籼稻恢复系的获得. 作物学报, 2006, 32: 1248-51
- [20] 王为民, 赵倩, 余静娟, 等. 水稻转高赖氨酸蛋白质基因(sb401)植株的获得及种子中蛋白质和氨基酸的含量分析. 作物学报, 2005, 31: 603-7
- [21] 李科, 王世全, 吴发强, 等. 农杆菌介导的转高赖氨酸蛋白基因(*sb401*)水稻T4代分析. 中国水稻科学, 2008, 22: 131-6
- [22] Long X, Liu Q, Chan M, et al. Metabolic engineering and profiling of rice with increased lysine. Plant Biotechnol J, 2012, 11: 1-12
- [23] Ye X, Al-Babili S, Klöti A, et al. Engineering the pro-vitamin A (β -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. Science, 2000, 287: 303-5
- [24] Paine JA, Shipton CA, Chaggar S, et al. A new version of golden rice with increased pro-vitamin A content. Nat Biotechnol, 2005, 23: 482-7
- [25] Storozhenko S, Brouwer VD, Volckaert M, et al. Folate fortification of rice by metabolic engineering. Nat Biotechnol, 2007, 25: 1277-9
- [26] Blancaquart D, Van Daele J, Strobbe S, et al. Improving folate (vitamin B9) stability in biofortified rice through metabolic engineering. Nat Biotechnol, 2015, 33:1076-8
- [27] Trijatmiko KR, Dueñas C, Tsakirpaloglou N, et al. Biofortified indica rice attains iron and zinc nutrition dietary targets in the field. Sci Rep, 2016, 6: 19792
- [28] Goto F, Yoshihara T, Shigemoto N, et al. Iron fortification of rice seed by the soybean ferritin gene. Nat Biotechnol, 1999, 17: 282-6
- [29] Vasconcelos M, Datta K, Oliva N, et al. Enhanced iron and zinc accumulation in transgenic rice with the ferritin gene. Plant Sci, 2003, 164: 371-8
- [30] Lucca P, Hurrell R, Potrykus I. Genetic engineering approaches to improve the bioavailability and the level of iron in rice grains. Theor Appl Genet, 2001, 102: 392-7
- [31] 刘巧泉, 姚泉洪, 王红梅, 等. 转基因水稻胚乳中表达铁结合蛋白提高稻米铁含量. 遗传学报, 2004, 31: 518-24
- [32] Qu LQ, Yoshihara T, Ooyama A, et al. Iron accumulation does not parallel the high expression level of ferritin in transgenic rice seeds. Planta, 2005, 222: 225-33
- [33] Masuda H, Usuda K, Kobayashi T, et al. Overexpression of the barley nicotianamine synthase gene *HvNAS1* increases iron and zinc concentrations in rice grains. Rice, 2009, 2: 155-66
- [34] Johnson AA, Kyriacou B, Callahan DL, et al. Constitutive overexpression of the *OsNAS* gene family reveals single-gene strategies for effective iron- and zinc-biofortification of rice endosperm. PLoS One, 2011, 6: e24476.
- [35] Wirth J, Poletti S, Aeschlimann B, et al. Rice endosperm iron biofortification by targeted and synergistic action of nicotianamine synthase and ferritin. Plant Biotechnol J, 2009, 7: 631-44
- [36] Ramsy NA, Glover BJ. MYB-bHLH-WD40 protein complex and the evolution of cellular diversity. Trends Plant Sci, 2005, 10: 63-70
- [37] Xu W, Dubos C, Lepiniec L. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis by MYB-bHLH-WDR complexes. Trends Plant Sci, 2015, 20: 176-85
- [38] Hu J, Anderson B, Wessler SR. Isolation and characterization of rice *R* genes: evidence for distinct evolutionary paths in rice and maize. Genetics, 1996, 142:

- 1021-31
- [39] Hu J, Reddy VS, Wessler SR. The rice *R* gene family: two distinct subfamilies containing several miniature inverted-repeat transposable elements. *Plant Mol Biol*, 2000, 42: 667-78
- [40] Sakamoto W, Ohmori T, Kageyama K, et al. The purple leaf (Pl) locus of rice: the Plw allele has a complex organization and includes two genes encoding basic helix-loop-helix proteins involved in anthocyanin biosynthesis. *Plant Cell Physiol*, 2001, 42: 982-91
- [41] Rahman MM, Lee KE, Lee ES, et al. The genetic constitutions of complementary genes *Pp* and *Pb* determine the purple color variation in pericarps with cyanidin-3-O-glucoside depositions in black rice. *J Plant Biol*, 2013, 56: 24-31
- [42] Oikawa T, Maedab H, Oguchia T, et al. The birth of a black rice gene and its local spread by introgression. *Plant Cell*, 2015, 27: 2401-14
- [43] Sweeney MT, Thomson MJ, Pfeil BE, et al. Caught red-handed: *Rc* encodes a basic helix-loop-helix protein conditioning red pericarp in rice. *Plant Cell*, 2006, 18: 283-94
- [44] Shin YM, Park HJ, Yim SD, et al. Transgenic rice lines expressing maize *C1* and *R-S* regulatory genes produce various flavonoids in the endosperm. *Plant Biotechnol J*, 2006, 3: 303-15
- [45] Cho JG, Song NY, Nam TG, et al. Flavonoids from the grains of *C1/R-S* transgenic rice, the transgenic *Oryza sativa* spp. *japonica*, and their radical scavenging activities. *J Agric Food Chem*, 2013, 61: 10354-9
- [46] Song YE, Wang X, Shen ZW, et al. Expressing the maize anthocyanin regulatory gene *Lc* increased flavonoid content in the seed of white pericarp rice and purple pericarp rice. *Russ J Genet*, 2013, 49: 1127-33
- [47] Ogo Y, Ozawa K, Ishimaru T, et al. Transgenic rice seed synthesizing diverse flavonoids at high levels: a new platform for flavonoid production with associated health benefits. *Plant Biotechnol J*, 2013, 11: 734-46
- [48] Wang J, Zhang L, Wang F, et al. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in China: results from a national survey. *Am J Hypertens*, 2014, 27: 1355-61