

种子蛋白质基因工程及其在分子育种工作中的应用

The Gene Engineering of Seed Proteins and Its Application to Molecular Breeding

赵文明

(西安交通大学生命科学与技术学院, 教授 西安 710049)

本世纪全世界将面临三大不可逆转的压力, 这就是人口递增、粮食消耗量增加和农田耕地面积减少。我国是一个人口众多的农业大国, 人口已达 13 亿, 耕地面积却在加速减少, 我国受到的压力也将更为沉重。为了解决粮食生产中所面临的三大严峻挑战, 创造优质、高抗、高产的超级农作物新品种将是我国粮食生产的主攻方向。重视农业生物高科技产业, 迅速发展种子蛋白质基因工程分子育种技术已是一项紧迫的任务。

一、开展种子蛋白质基因工程研究的紧迫性

近几年来, 生命科学的发展日新月异, DNA 重组技术的建立使人们不但可以从生物体内分离出某种基因, 并在生物体外进行基因的拼接重组; 而且还可以进行基因的人工合成、修饰与拼接。细胞的全能性为细胞的组织培养及基因转化提供了前提条件。在植物组织培养基础上发展起来的一系列

将外源基因导入植物细胞的遗传转化技术已基本成熟。自 1983 年首次获得转基因烟草植株以来, 植物基因工程研究便进入了蓬勃发展阶段。目前一个完整的植物基因工程的理论和技术体系已逐渐形成, 并开始走向商品化。例如, 美国加利福尼亚戴维斯一家应用植物公司研究出一种基因工程水稻, 用这种基因工程水稻来生产生物蛋白—— α -1 抗胰蛋白酶, 这种酶蛋白是治疗肝病出血的人体蛋白质; 澳大利亚科学家将豆科植物蛋白基因转移到牧草(如苜蓿)中, 提高了牧草的营养价值, 使吃这种牧草的奶牛所产的奶中含有较多人体必需氨基酸; 还有人合成了一段富含各种氨基酸的 DNA 序列, 通过 Ti 和 Ri 质粒将该 DNA 片段转移到马铃薯中, 并获得表达, 有效地改善了马铃薯贮藏蛋白质的氨基酸组成。据统计, 1999 年全球转基因作物商品化种植面积达到 3 990 万公顷, 年销售量已达 12~23 亿美元。预计到 2005 年, 转基因作物的年销售量将达到 80 亿美元, 2015 年将达到 250 亿美元。

显、重复建设的格局。质检机构的设置要走“少、精、强”之路。

(2) 打假治劣, 加大对市场的产品质量监督抽查力度。要继续安排好每年对全国水稻种子质量的国家或行业监督抽查工作, 加大对不合格产品、假冒伪劣产品生产企业的处罚力度。针对目前全国市场大米质量优劣混杂、假冒泛滥、“毒米事件”等老百姓心有余悸的状况, 立即安排对大米产品质量的国家或行业监督抽查, 增加随机监督抽查的次数。

(3) 尽快启动稻米产品的质量安全监测与认证工作, 提高食用稻米的安全性。当前要立即着手对稻米类绿色食品的冠名产品或自行命名为“无公害大米”、“生态大米”, 以及“富硒大米”、“竹香米”、“枣香米”等营养强化或有色大米产品进行质量安全跟踪监测。凡通过质量安全监测与认证的稻米产品, 可由农业部授权允许使用专用标志。

6. 强化信息服务

(1) 加强稻米产业市场信息体系建设, 发挥其促进稻米产业发展的重要作用。要利用现有的信息资源, 由国家有关部门统一组织安排, 在现中国水稻研究所内建设“国际稻米产业信息中心”和“国家水稻品种与品质信息中心”; 利用农业部稻米及制品质检中心的条件和优势, 建设“全国稻米类质量安全产品信息中心”和“全国稻米及制品质量标准与检测技术信息中心”。与此同时, 要继续积极办好“中国水稻信息网站”和各种专业媒体, 稻区各省也应建立健全相应的稻米产业信息网。

(2) 切实做好稻米产业信息的发布、查询等服务工作。广大稻区农业主管部门要根据当地发展实际, 及时向稻农提供品种、栽培技术、价格、营销等的信息。国家和省级信息机构要定期向稻区发布稻米产业的重要专项信息, 并接受相关的查询。

(责任编辑 王宏章)

转基因植物的种类已扩展到大豆、玉米、棉花、油菜、番茄、马铃薯等。研究较多的目标基因性状是抗除草剂、抗虫、品质改良和抗病毒等。现在我国已加入 WTO, 一场世界性农业生物高科技产业革命已经来临, 因此迅速发展农业生物高科技产业, 特别是开展种子蛋白质基因工程研究, 已是一项刻不容缓的紧迫任务。

二、种子蛋白质基因工程在分子育种工作中的应用

种子蛋白质基因工程是一门新兴学科, 它是植物基因工程的一个分支。种子蛋白质是研究最早的一种植物蛋白质。种子蛋白质的组分与结构比较稳定, 并保留有物种进化的痕迹, 生长条件和季节变化很少影响种子蛋白质的组分与结构。种子蛋白质分为两大类: 贮藏蛋白质 (storage protein) 和“家政”蛋白质 (“house-keeping” protein)。贮藏蛋白质是种子蛋白质的主要成分, 它在种子形成发育时期大量积累。在种子萌发时, 它又很快水解并为幼苗早期生长提供氮源。“家政”蛋白质在种子中的含量虽少, 但对于维持种子的正常新陈代谢活动却是必不可少的。蛋白质是基因的表达产物, 基因位于染色体上, 分析不同基因型的种子蛋白质组分, 可以进行某一特定基因在染色体上的定位。因此, 种子蛋白质可以作为植物系统分类、品种鉴定的可靠依据。现在应用种子蛋白质进行植物系统分类学研究, 查清楚了许多物种的起源, 有力地支持了形态学、细胞学和育种学的研究结果。种子蛋白质的研究不仅与品种鉴定、植物分类、基因定位有关, 而且对于植物基因工程研究具有重大意义。因为种子蛋白质的性质比酶蛋白稳定, 且数量大, 所以很容易分离、提纯出种子蛋白质基因, 以便进行基因工程操作。

1. 农作物品质改良方面的应用 种子及其他贮藏器官 (块茎、块根、鳞茎等) 中蛋白质的含量与组分及其氨基酸组成、淀粉和其他多糖化合物以及脂类物质的组成, 直接关系到这些作物产品的营养价值或在工业上的用途。一般地说, 双子叶豆科植物和单子叶禾谷类作物的种子蛋白质的氨基酸组成有较大的差异。单子叶禾谷类作物 (如小麦) 种子蛋白质中赖氨酸含量低, 双子叶豆科植物的蛋白质中含有较多的赖氨酸, 但却缺少蛋氨酸。如果采用种子蛋白质基因工程手段, 将双子叶植物富含赖氨酸的蛋白质基因, 如大豆的豆球蛋白基因 (Legumin gene) 或豌豆的豌豆球蛋白基因 (vicilin gene) 转入禾谷类作物中, 就有可能提高粮食作物的赖氨酸含量, 获得更高营养价值的农作物新品种。另外, 如果将编码赖氨酸的密码子插入已克隆的贮藏蛋白质基因, 或者将已有的基因经过碱基突变改造后, 导

入植物以指导合成必需氨基酸含量高的蛋白质, 就有可能提高转基因植物种子贮藏蛋白质的营养价值。目前, 部分豆科植物和禾谷类作物的种子贮藏蛋白质基因, 如麦醇蛋白基因、玉米醇溶蛋白基因和伴大豆球蛋白基因等都被克隆, 这对于开展种子蛋白质基因工程分子育种研究奠定了良好的基础。还有人合成了一段富含各种必需氨基酸的 DNA 序列, 通过 Ti 和 Ri 质粒将该 DNA 片段转移到马铃薯中, 并获得表达, 有效地改善了马铃薯贮藏蛋白的氨基酸组成。此外, 在我们的实验室里 (1990~1994), 将豌豆花 DNA 注射到返青期的小麦分蘖节, 收获的小麦种子蛋白质含量比对照增加了 22%, 同时增加了 71kD 和 47kD 两种新组分 (种子蛋白质基因工程, 1995 年, 陕西科技出版社, 107 页)。这表明, 由于外源基因的引入, 转基因植物必需氨基酸含量提高的同时, 贮藏蛋白质的总含量也有所提高, 因此转基因植物的经济价值大幅度上升。

2. 加工品质改良方面的应用 1990 年, 英国科学家运用转入反义基因的方法, 开创了获得转基因植物新性状的新途径。例如, 番茄果实成熟前有一个呼吸高峰, 在这个呼吸高峰会释放大量的具有高度生物活性的植物生长调节物质——乙烯。乙烯则促进果实成熟和细胞壁迅速解体软化, 给番茄的贮藏和运输造成了极大的不便, 也导致番茄品质的迅速下降和霉烂。现已知道控制乙烯合成的关键酶是 ACC 合酶 (synthase) 和 ACC 氧化酶 (oxidase); 使细胞壁解体软化的酶是多聚半乳糖醛酸酶 (PG), 而当乙烯的含量达到一定阈值后才能启动 PG 基因的转录表达。所以只要控制乙烯的含量, 就能防止番茄果实软化霉烂。因此, 他们分别把编码这两个酶的反义基因导入番茄, 使反义 RNA 与靶基因的 mRNA 结合, 就不能指导乙烯的生物合成。经检测含反义基因的番茄时发现, ACC 酶活性降低至正常的 5% 以下, 这样的番茄果实能长期保持坚硬, 贮藏 1 个月也不软化、不腐烂, 大大提高了转基因番茄的贮藏性能和经济效益。此外, 食品加工业对种子蛋白质的组分也提出不同的要求。例如, 制作面包的小麦面粉要求具有高的麦谷蛋白含量, 因为麦谷蛋白分子中的双硫键能增强面包的弹性; 制作面条和饼干的小麦面粉要求具有高的麦醇蛋白含量。麦醇蛋白呈单体 (单肽链) 形式存在, 单体间通过氢键和疏水键相结合, 由于氢键和疏水键的键能小, 因而很容易拆散彼此结合的单体。所以麦醇蛋白分子使面团具有很好的延展性, 麦醇蛋白含量高的面粉可以作出很薄的饼干和很长的面条。

三、种子蛋白质基因工程展望

基因工程开创了现代生物高科技产业。种子蛋

(下转第 33 页)

3. 设立项目人员费用有利于发展和完善自然科学基金制度

(1) 有利于提高科研的效率, 优化科研人员队伍 设立并合理使用项目人员费用, 有利于明确课题组成员的责、权、利, 在申请和结题上可使人员费用和实际做贡献的人员的工作量挂钩, 有利于激发科研人员的积极性和创造性、完善科学基金公平竞争的激励机制; 同时, 合理规定课题组成员的结构组成, 使课题组长能有效调配和使用智力资源、提高经费和人力资源的使用效率, 更好地发挥科学基金优化资源配置的功能, 促进高水平成果的产生。

(2) 有利于完善基金项目绩效评估机制 使部分人员费用与绩效挂钩, 有利于多出成果、多出人才, 有利于完善绩效评估机制。

(3) 有利于科研成果和知识产权的保护 成本核算是国家基金项目投入产出和绩效的重要依据, 也是正确决策的重要依据。而以不完全的成本信息衡量成果的投入与收益是不正确的, 也不利于科研人员在申请专利、转让技术成果的过程中保护自身的合法权益。实际支出的人员成本也是进行成本核算时必须考虑的一部分。

四、政策建议

应通过正式法定程序, 明确规定增加项目经费中的人员费用, 这是符合自然科学自身的发展规律和我国科技改革需求的, 也是我国自然科学基金制应有的一项制度建设。它对于完善基金项目的成本结构, 提高经费和人力资源的使用效率, 更好地发挥科学基金优化资源配置的功能, 促进基金项目多出成果、出人才, 都有着积极的作用。

今后改革的思路应以基金项目科学研究整个过程的运行规律为基础, 建立基金项目人员费用使

(上接第54页)

白质基因工程就是近代基因工程分子育种技术, 它能按人类的需要进行优质基因的设计重组, 然后通过重组基因的体外复制扩增, 最后通过基因载体转移系统构建新的作物新品种。种子蛋白质基因工程可以打破常规育种工作中所遇到的生物屏障 (biological barrier), 可以在实验室里很快完成物种变异的漫长进化过程。因此采用种子蛋白质基因工程可以创造出人类所期望的植物新种质, 可以构建出抗病、抗虫、抗逆、高产优质的农作物新种。种子蛋白质基因工程是近代农业生物高科技产业的前沿技术, 将种子蛋白质基因工程引入农作物分子育种领域, 将大大促进农作物分子育种的进程。这对于西部大开发及我国农业和农村经济的发展必将产生巨大的影响。特别是我国已成为 WTO 成员国, 如果重视和发展种子蛋白质基因工程技术的研发, 我们就能有力地迎接新世纪农业生物高科技的挑战。

主要参考文献

[1] 赵文明等. 小麦种子发育期麦谷蛋白的累积. 西北农业大学学报, 1991: 19(3)

用的合理化、规范性的管理制度, 国家基金委、受资助单位和项目负责人各自应明确以下职责。

1. 国家基金委应进一步明确和规范管理制度, 加强宏观指导

在项目经费支出中应明确设立人员费用一项, 分别包括人员费用和管理费。并在对实际情况调研的基础上, 明确人员费用的使用范围和比例的界限, 由于各学科、各单位、各地区的情况有着很大的差异, 因此, 基金委宜重在宏观指导和控制。在制定相应管理办法时, 要在制度上留有充分的余地, 不宜规定过细, 在不违反国家财务制度前提下, 避免在规定的中和执行中搞得太繁琐。

2. 受资助单位应具有实施监督管理的责权

受资助单位应根据基金特点及单位实际情况制定管理办法的实施细则, 在确立实施监督管理责权时, 既要提供宽松环境, 又要注重强化研究责任。受资助单位健全的管理, 是基金管理体制的依托和保障。这一工作中应充分发挥基层单位作用。

3. 项目负责人应能掌握必要的自主权

在合法的范围内应给予项目负责人充分的自主权, 因为不同学科、不同类型的课题使用人员费用的情况是不同的。项目负责人应有人权, 自行决定用什么人、用什么样的人; 基层单位则应起监督、保证作用。

主要参考文献

- [1] 《国家自然科学基金管理办法汇编》, 1992年11月
- [2] 史新河. 1998年国家自然科学基金项目财务审计情况通报. 1999年国家自然科学基金管理工作会议
- [3] 张爱真, 张文信, 费昌沛. 项目经费的使用和面临的问题及对策. 中国科学基金, 1995(4)
- [4] 曹凝, 张春先, 高晶, 许虹, 江军. 科研单位财务管理新模式的探讨. 科研管理, 1997(3)

(责任编辑 蔡德诚)

- [2] 赵文明, 王渭玲. 种子蛋白质含量与亚基组分的关系. 生物化学杂志(专刊), 1993
- [3] 赵文明著. 种子蛋白质基因工程. 陕西科技出版社, 1995
- [4] Vasil, I. K. and Anderson, O. D.: Genetic engineering of wheat gluten. Trends in Plant Science, 1997, 2: 292-297
- [5] 刘标, 薛达元. 基因工程作物. 科技导报, 1998(11)
- [6] 中国工程院. 21世纪初我国生物技术产业发展对策研究. 1999年9月
- [7] 雷东锋, 李剑君, 张宴, 白西元, 王晨, 赵文明. 果实成熟过程相关调控基因研究进展. 西北植物学报, 2000: 20(1)
- [8] Zhao Wen-Ming, Lei Dong-Feng, Yang Shui-Yun: Study of the glutenin subunits from Super-Large-Ear wheat. 15th FAOBMB Symposium, Perspectives of Biochemistry and Molecular Biology in the 21 Century (PROGRAM & ABSTRACTS), Oct. 21-24, 2000, Beijing, China, PA 113.
- [9] 雷东锋, 赵文明. 大穗小麦贮藏蛋白质及相关基因的研究. 西安交通大学《博士学位论文》, 2001年3月 (删去1991年以前的主要参考文献6篇)

(责任编辑 王宏章)