

• 导 读 •

本期主要聚焦于植物生物工程研究及应用方面，涉及基因编辑作物的产业化应用、组学技术对生物学问题研究的指导、植物生物合成途径关键酶的解析以及农业土壤中生物传感器的应用等方面。随着科技的不断进步，这些研究成果有望进一步提高植物生产能力，保障粮食供应，服务于人类的健康和生活环境的改善。

基因编辑作物的产业化应用

基因编辑技术作为划时代的生物技术，因其巨大的应用价值受到广泛关注。CRISPR 技术先驱，诺贝尔化学奖得主 Jennifer A. Doudna 教授在 *Science* 杂志上发表综述文章，回顾了 CRISPR 技术发展的前 10 年，并展望了未来 10 年基因编辑农作物将带来农业科技的变革^[1]。薛珊等在本期学报中对基因编辑技术在基因敲除、单碱基编辑、序列替换和多基因调控等方面的发展历程和基本原理进行了概括性介绍，可以看出基因编辑技术日趋成熟，并在疾病治疗、医药开发及生物育种等多领域中展现出巨大的应用价值^[2]。然而，一直以来大众对基因编辑技术的安全性的质疑及各国政府对基因编辑农作物的差异化管理方式，在一定程度上减缓了基因编辑作物的产业化的进程。

2022 年 1 月，我国农业农村部印发《农业用基因编辑植物安全评价指南(试行)》，依据基因编辑产品不含有外源基因的科学属性，将其区别于转基因作物的管理模式。2023 年 4 月，农业农村部发布《农业用基因编辑植物评审细则(试行)》，从分子特征、环境安全、食品安全

3 个方面明确界定了基因编辑植物的分类标准和简化评审的细则，进一步增强了农业用基因编辑植物安全评价的可操作性。这将极大推进基因编辑育种的产业化进程。同期，中国第一个基因编辑农作物高油酸大豆获得 5 年期的安全证书。

为了响应国家在基因编辑育种这一关键领域作出的重大决定，本期学报特别邀请了该领域内的专家进行访谈。水稻生物育种专家刘耀光院士表示：“目前针对没有外源基因的基因编辑作物，多个国家和地区，如美国、日本、印度、阿根廷、巴西和英国等，已将其归为传统作物管理模式，而非转基因作物管理模式。这是因为基因编辑育种的原理和传统诱变育种是一样的，因此基因编辑产品并没有增加环境安全和食品安全风险。相较于这些国家，我国的安全评估标准仍然十分严格。然而，《农业用基因编辑植物评审细则(试行)》的发布和第一张基因编辑作物安全证书的发放，为基因编辑作物产业化进程带来了希望。”

刘耀光院士和中国农业大学生物学院植物科学系陈其军教授都指出基因编辑技术可以更快、更精准、更高效地培育出优良品种，这

将是未来种业发展的重要方向。长期从事灵长类生殖发育生物学研究的季维智院士、中国科学院广州生物医药与健康研究院赖良学研究员和湖南师范大学谷峰教授也认为基因编辑作物是安全的。他们呼吁政府、学界和媒体加强对民众的科学普及工作,提高民众对基因编辑技术的认知,为基因编辑农作物的产业化作好提前准备。相信在社会各界的共同努力下,未来基因编辑优良农作物将会走上更多人的餐桌,为人类健康和农业生产带来更大的利益。

组学指导的生物学问题研究

近年来,随着基因组、转录组和代谢组等多组学研究技术的发展,许多重要动植物核基因组和细胞器基因组也相继被公布。这些研究成果为涉及生物学基础问题的解析和生物育种方面奠定了坚实的基础。本期学报中,刘玉萍等采用高通量测序技术对我国新疆伊犁河水系的银色裂腹鱼线粒体基因组的全序列进行了测定和结构特征分析。研究团队通过与28种近缘种鱼类线粒体基因组进行对比,基于多基因串联序列探讨了其系统发育关系。此外,研究人员还结合地质构造的变化和环境因素的差异,分析了银色裂腹鱼与其他水系裂腹鱼类之间遗传分化的原因。该研究为今后进一步开展该类群鱼类的物种进化、分类鉴定和多样性研究提供了新的线索和参考依据^[3],然而,在探究近缘种鱼类种群形成中的具体线粒体差异基因作用方面,仍需更加深入的研究。此外,本期学报中,刘雪霞等利用高通量测序技术,分析了宁夏枸杞‘宁杞1号’和‘宁杞7号’2个品种果实不同发育期的相关基因表达谱变化。通过挖

掘活性成分合成相关的差异表达基因,解析了‘宁杞1号’和‘宁杞7号’两个枸杞品种在成熟过程中活性成分(如类胡萝卜素、类黄酮、萜类、生物碱和维生素等)存在差异的分子基础。这项研究为进一步挖掘枸杞活性成分生物合成的关键基因及解析其表达调控机制提供了研究基础,也为枸杞果实品质的形成及优良株系选育提供了基础数据^[4],然而,两种枸杞品种活性物质积累的差异性是关键基因的转录差异还是酶活差异造成,需要更深入地研究。

广西大学王子豪等利用高通量测序技术首次对红边龙血树进行了叶绿体基因组测序分析,并将其与已报道的龙血树属物种叶绿体基因组进行了详细比较。研究发现,红边龙血树的叶绿体基因组是龙血树属中最小的。这种深入的序列分析有助于对红边龙血树进行分类鉴定和应用研究,同时也丰富了龙血树属植物细胞器基因组信息库,为完善龙血树属起源与进化、品种改良以及种质资源开发利用的研究内容提供了重要支持^[5],但是这些叶绿体编码基因如何与核编码基因相互作用调控红边龙血树的物种特异性,仍需要深入地研究。同样运用高通量测序技术,贵州大学的颜丽等对蔓赤车的叶绿体基因组进行了测序、组装注释、结构解析及构建系统发育树,深入研究了该物种叶绿体基因组的特征,并注释了光合作用相关基因。该研究为荨麻科物种分子标记开发、种间鉴定、物种演化过程、个体水平的遗传差异分析以及遗传改良提供理论依据^[6]。尽管,叶绿体基因组的差异在鉴定物种特异性方面有重要作用,核基因组与叶绿体基因组的联合比较分析对品种的形成和植物的遗传改良更具有指导意义。

本期学报中,余贤美等为探索同一地理来源不同柿树品种柿叶中矿物质含量的差异性,采用代谢组学-转录组学联合分析的方法,研究了3种鲜嫩柿叶中矿质元素的含量差异。作者发现,‘黑柿’鲜嫩柿叶在矿物质吸收方面表达水平最高,因此其相应的矿物质含量最高,以丝氨酸、丙氨酸、苏氨酸和磷酸为主,‘西村早生’和‘泰富’柿叶次之。据此,‘黑柿’的鲜嫩柿叶可推荐用于制作富含丝氨酸、丙氨酸、苏氨酸和磷酸等矿质元素的柿叶茶,或用于提取人体所需的丝氨酸、丙氨酸、苏氨酸和磷酸等矿物质。该研究为富含矿物质元素柿叶茶的研制以及从柿叶中提取高含量矿物质的最佳柿树品种的选择提供了科学依据^[7]。但是,这些矿物质吸收表达水平较高的基因是否直接参与不同柿树品种柿叶中矿物质含量的差异,还需要更直接的证据。

植物生物合成途径关键酶的优化

植物次生代谢物是人类宝贵的医药资源,对于药物开发具有重要意义。这些化合物的合成和调控涉及庞大而复杂的蛋白酶催化产生。然而,植物体内次生代谢物合成途径的关键酶并非最佳的。因此,需要利用非理性设计、半理性设计和理性设计结合新型生物技术对关键蛋白酶进行定向进化,以提高酶的活性、结合的亲和力或特异性,直至达到最佳性能水平。目前,植物生物合成途径关键酶的定向进化已经成为学术研究以及农业、化学和制药工业中广泛使用的方法。本期学报中,贺志敏等通过分析虎杖聚酮合酶 PcPKS1 与掌叶大黄苯亚甲基丙酮合酶 BAS、拟南芥查尔酮合酶 CHS 等家

族成员的序列以及酶催化位点的构象,确定了可能影响酶功能的3个氨基酸位点。研究者采用定点突变对 PcPKS1 进行蛋白优化,成功获得2个突变体 T133LS134A 和 S339V,这2个突变体蛋白酶的 BAS 活性显著高于原 PcPKS1,同时能够维持 BAS 和 CHS 双功能活性^[8]。尽管该酶活提高的生物学机制还需要深入研究,但该方法为利用 PcPKS1 进行基因工程调节黄酮类和覆盆子酮化合物的生物合成提供理论依据。

橡胶产业是国家工业和农业的重要组成部分,但如何提高聚异戊二烯的含量已成为杠柳源橡胶产业化应用的瓶颈因子。然而,组成型超量表达目的基因可能会导致杠柳所有组织和器官中都过量表达聚异戊二烯,抑制了杠柳植株的正常生长发育,实际上对有效提高天然橡胶产量效果并不理想。为克服这一问题,来自中国科学院植物研究所的崔帅等利用染色体步移方法,克隆获得了杠柳顺式-1,4-聚异戊二烯合成关键酶顺式-异戊烯基转移酶(*cis*-prenyltransferase, CPT)、小橡胶粒子蛋白(small rubber particle protein, SRPP)和橡胶延长因子(rubber elongation factor, REF)基因的启动子序列,用以提高聚异戊二烯产量。通过对启动子的分析和遗传转化验证,有效提高了目的基因的表达,并在总体上提高了聚异戊二烯的产量,而不会抑制杠柳植株的正常生长发育^[9],本研究获得的启动子为今后利用现代生物学技术加强聚异戊二烯合成途径中单个或多个关键基因表达,培育天然橡胶含量大幅提高的杠柳新材料提供了重要调控元件。鬼臼毒素是由部分植物或其内生真菌合成的芳基四氢木酚天然木脂素,具有显著的抗肿瘤、抗病毒、抗虫、

抗风湿、抗疟疾和免疫调节活性,已经被广泛用作合成各种抗肿瘤药物(如临床用的依托泊苷、替尼泊苷)的前体。考虑到苯丙烷类途径及对鬼臼毒素合成的重要性,云南师范大学的胡迪等以鬼臼毒素含量最高的桃儿七根为材料,对由大肠杆菌重组表达并纯化的 ShPAL 蛋白进行酶活性和稳定性分析,以深入了解该蛋白酶的特性^[10]。这项研究的结果可为进一步探究 PAL 蛋白酶在鬼臼毒素生物合成过程中的调控作用及其在其他方面的应用提供参考依据。

植物重要基因的功能解析通常需要依赖于转基因体系,以获取功能增强或减弱的遗传材料。然而,对于一些植物,由于转化方法不稳定,难以确定快速有效的转化方法,因此无法得到大量的转基因植物来验证基因功能。此时,基因功能只能依赖于在异源宿主中的瞬时或稳定表达来验证。然而,在一些情况下,基因在异源宿主中并不能显示出保守的功能,从而导致实验结果有误导性。为了解决这一问题,南京林业大学的潘多等对病毒诱导基因沉默(virus-induced gene silencing, VIGS)系统的发展历程和在色素代谢途径研究中的应用案例进行了系统综述。该综述指出,病毒作为基因表达载体能够规避复杂的转化方法,在植物中有效地敲低内源基因的表达,因此被广泛应用于植物代谢路径挖掘、生物合成、基因功能解析等多个领域的研究^[11]。此外,VIGS 介导的基因超量表达和基因编辑也越来越受到关注。综合来看,VIGS 系统为植物基因功能解析研究提供了一种简单、快速且有效的方法,有望广泛应用于更多植物的生物研究。

农业土壤生物传感器的应用

有机磷农药造成的水土污染已经非常严重,因此建立监测此类污染物并评估其在土壤中的含量对于生态环境的保护和人类的可持续发展至关重要。目前,全细胞生物传感器(whole-cell biosensor)检测是评价污染物在复杂介质中生物有效性的的重要手段^[12]。来自深圳大学的马钊等通过筛选性能优异的甲基对硫磷水解酶 mpd,结合 *pobR* 基因元件,构建了新型的甲基对硫磷的全细胞生物传感器,这种新型全细胞生物传感器方法简单、成本低、检测速度相对较快,在检测土壤提取液样品中甲基对硫磷时,表现出更低的检出限和更广的线性范围,检测稳定性更高。因此,该传感器有助于掌握甲基对硫磷在土壤中生物有效性强弱及危害情况,为防治土壤中甲基对硫磷的污染危害提供了一种新的检测手段^[13]。但是该类土壤生物传感器的原理依赖于荧光蛋白和配套的监测设备,无法实时监测水土中的有机磷,因此,其在农业及环境监测中普及应用面临一定的困难。

REFERENCES

- [1] WANG JY, DOUDNA JA. CRISPR technology: a decade of genome editing is only the beginning[J]. Science, 2023, 379(6629): eadd8643.
- [2] 薛珊,王淑雅,刘丽,钟巧芳,程在全,肖素勤. 基于 CRISPR/Cas9 的精准基因编辑技术研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(7): 2566-2578.
XUE S, WANG SY, LIU L, ZHONG QF, CHENG ZQ, XIAO SQ. Precision gene editing technologies based on CRISPR/Cas9: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(7): 2566-2578 (in Chinese).
- [3] 刘玉萍,胡建勇,宁子君,肖佩怡,杨天燕. 银色裂腹鱼线粒体基因组序列特征与系统进化分析[J]. 生物工

- 程学报, 2023, 39(7): 2965-2985.
- LIU YP, HU JY, NING ZJ, XIAO PY, YANG TY. Mitochondrial genome sequence characteristics and phylogenetic analysis of *Schizothorax argentatus*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(7): 2965-2985 (in Chinese).
- [4] 刘雪霞, 范文强, 焦慧慧, 高寒, 唐建宁, 朱金忠, 岳思君, 郑蕊. 基于转录组测序的宁夏枸杞不同品种果实活性成分合成差异表达基因分析[J]. 生物工程学报, 2023, 39(7): 3015-3036.
- LIU XX, FAN WQ, JIAO HH, GAO H, TANG JN, ZHU JZ, YUE SJ, ZHENG R. Comparative analysis of differentially expressed genes for biosynthesis of active ingredients in fruits of different cultivars of *Lycium barbarum* L. based on transcriptome sequencing[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(7): 3015-3036 (in Chinese).
- [5] 王子豪, 郭佳乐, 范琪, 田泽园, 王雪晴, 郑维, 黄罗冬. 红边龙血树叶体基因组特征及其系统发育分析[J]. 生物工程学报, 2023, 39(7): 2926-2938.
- WANG ZH, GUO JL, FAN Q, TIAN ZY, WANG XQ, ZHENG W, HUANG LD. Characteristics of the chloroplast genome of *Dracaena marginata* and phylogenetic analysis[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(7): 2926-2938 (in Chinese).
- [6] 颜丽, 杨雪莲, 吴永飞, 王霞, 胡小京. 蔓赤车叶绿体基因组结构及系统进化分析[J]. 生物工程学报, 2023, 39(7): 2914-2925.
- YAN L, YANG XL, WU YF, WANG X, HU XJ. Chloroplast genomic characterization and phylogenetic analysis of *Pellionia scabra*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(7): 2914-2925 (in Chinese).
- [7] 余贤美, 王洁, 高瑞, 龚榜初, 艾呈祥. 代谢组学-转录组学联合分析不同品种柿叶矿物质含量差异[J]. 生物工程学报, 2023, 39(7): 2986-3002.
- YU XM, WANG J, GAO R, GONG BC, AI CX. Integrated metabolomic-transcriptomic analysis of mineral contents from persimmon leaves of different varieties[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(7): 2986-3002 (in Chinese).
- [8] 贺志敏, 马文瑞, 于丽平, 吕鹤书, 杨明峰. 定点突变提高虎杖聚酮合酶的苯亚甲基丙酮合酶活性[J]. 生物工程学报, 2023, 39(7): 2806-2817.
- HE ZM, MA WR, YU LP, LÜ HS, YANG MF. Site-directed mutagenesis enhances the activity of benzylidene acetone synthase of polyketide synthase from *Polygonum cuspidatum*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(7): 2806-2817 (in Chinese).
- [9] 崔帅, 陈任, 曲乐庆. 杠柳橡胶合成关键基因 *CPT*、*SRPP* 和 *REF* 启动子克隆与表达特性分析[J]. 生物工程学报, 2023, 39(7): 2794-2805.
- CUI S, CHEN R, QU LQ. Cloning and characterization of the promoters of the key genes *CPT*, *SRPP* and *REF* involved in *Periploca sepium* rubber biosynthesis[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(7): 2794-2805 (in Chinese).
- [10] 胡迪, 罗晓伟, 王宇贤, 龚明, 邹竹荣. 桃儿七苯丙氨酸解氨酶的基因克隆及其酶活分析[J]. 生物工程学报, 2023, 39(7): 2818-2838.
- HU D, LUO XW, WANG YX, GONG M, ZOU ZR. Gene cloning and enzymatic activity analysis of phenylalanine ammonia-lyase from *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) Ying[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(7): 2818-2838 (in Chinese).
- [11] 潘多, 张嵩玥, 刘芳伊, 田清尹, 杨秀莲, 王良桂, 岳远征. 病毒诱导的基因沉默技术用于植物色素代谢机制的研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(7): 2579-2599.
- PAN D, ZHANG SY, LIU FY, TIAN QY, YANG XL, WANG LG, YUE YZ. Application of virus-induced gene silencing technology to investigate the phytochrome metabolism mechanism: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(7): 2579-2599 (in Chinese).
- [12] WANG BY, ZHANG YJ, ZHU DQ, LI H. Assessment of bioavailability of biochar-sorbed tetracycline to *Escherichia coli* for activation of antibiotic resistance genes[J]. Environmental Science & Technology, 2020, 54(20): 12920-12928.
- [13] 马钊, 李猛. 构建全细胞生物传感器测定农田土壤有机磷农药甲基对硫磷含量[J]. 生物工程学报, 2023, 39(7): 2706-2718.
- MA Z, LI M. Development of a whole-cell biosensor for detecting organophosphorus pesticide methyl parathion in the farmland soil[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(7): 2706-2718 (in Chinese).

(本文责编 陈宏宇)