

# 一份水稻寡分蘖近等基因系的构建及全基因组差异表达分析

邓其明<sup>#</sup> 王颖姮<sup>#</sup> 王世全 李双成 李平<sup>\*</sup>

(四川农业大学 水稻研究所, 四川 温江 611130; <sup>#</sup> 共同第一作者; <sup>\*</sup> 通讯联系人, E-mail: liping@cngk.com)

## Near Isogenic Lines Establishment and Genome Wide Expression Analysis of a Few Tillering Mutant of Rice

DENG Qi ming<sup>#</sup>, WANG Ying hen<sup>#</sup>, WANG Shi quan, LI Shuang cheng, LI Ping<sup>\*</sup>

(Rice Research Institute, Sichuan Agricultural University, Wenjiang 611130, China; <sup>#</sup> These authors contributed equally to this paper;

<sup>\*</sup> Corresponding author, E-mail: liping@cngk.com)

**Abstract:** The near isogenic lines (NILs) of a rice few tillering control gene *ft1*, based on the genetic background of 02428, were established by crossing G069 with 02428 and continuous backcrossing by using 02428 as the backcrossing parent and named 02428-*ft1*. Cytological study indicated that the development of lateral meristem was inhibited by the few tillering control gene. Genome wide expression analysis between 02428-*ft1* and 02428 was carried out by using an Affymetrix gene chip including 59 712 cloned or predicted gene feature cDNA sequences. It was found that there were 136 cDNA showing significant change in its expression level, including 27 activated and 30 silenced genes, which were significantly controlled by the few tillering gene in the NILs 02428-*ft1*. Function analysis of the differently expressed genes by using the on-line analysis systems of Affymetrix, NCBI and TIGR showed that the functions of the differently expressed genes were extensive, including transcription factors, kinases, function proteins, regulatory proteins and so on.

**Key words:** few tillering; rice; near isogenic line; gene chip; genome wide expression analysis; function annotation

**摘要:** 利用水稻寡分蘖突变体 G069 与广亲和材料 02428 杂交和连续回交,建立了寡分蘖基因在 02428 基因组背景下的近等基因系 02428-*ft1*。在分蘖始期对其分蘖节位的石蜡切片观察表明,寡分蘖基因抑制了水稻侧芽的发生。利用含有 59 712 个预测基因或已知基因的表达特征序列的基因芯片进行全基因组表达谱分析,结果表明共有 136 个 cDNA 克隆的表达在近等基因系 02428-*ft1* 中发生了变化,其中 27 个被激活,30 个沉默,受到了寡分蘖基因的明显调控。功能分析表明,这些受寡分蘖基因调控的基因功能分布较为广泛,包括转录因子、激酶、功能蛋白和调节蛋白等,为水稻分蘖调控机制的研究提供了相关信息。

**关键词:** 寡分蘖; 水稻; 近等基因系; 基因芯片; 全基因组表达分析; 功能注释

中图分类号: Q943; S511.03

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2008)01-0015-08

分蘖是水稻重要的农艺性状,它直接影响构成产量的四大要素中的单位面积穗数,同时,它也是研究单子叶植物分枝发育机理的模式植物系统。国内外研究者对水稻分蘖的形态学、组织学及突变体都有过较多的描述<sup>[1-6]</sup>,但控制分蘖的分子机制却并未得到充分的解释。水稻分蘖控制基因 *MOC1*<sup>[7]</sup>, *OsTB1*<sup>[8]</sup> 和 *D3*<sup>[9]</sup> 的成功克隆揭开了阐明水稻分蘖分子机理的序幕。但是,由于水稻在不同时期的分蘖数量受到一个多基因系统的控制,仅仅从一个控制基因出发还远不能彻底解释这个复杂生命活动的控制机理。因此,创造更多的分蘖突变体和分离出更多有关分蘖的控制基因,进行更为系统和全面的分析研究,是分蘖调控机理研究的必要条件。

基因芯片技术是近年发展并成熟起来的一项快速、稳定、高通量的新技术,它通过平行检测众多基因表达模式进行功能分析,有助于全面了解植物生

长发育<sup>[10]</sup>、代谢<sup>[11]</sup>、激素调控<sup>[12]</sup>、抵抗逆境<sup>[13-16]</sup>等过程的机理。利用基因芯片技术研究水稻分蘖相关基因的表达调控,目前尚未见报道。我们从籼粳交组合“圭 630/02428”的花培后代中获得 1 份寡分蘖突变体 G069,将控制寡分蘖的基因定位于水稻第 6 染色体<sup>[17]</sup>,并成功地克隆了该基因(另文报道)。为更加全面深入地了解水稻分蘖调控的相关基因及其机制,本研究在前期工作的基础上,通过构建寡分蘖基因在 02428 背景下的近等基因系,对该近等基因系侧芽分生组织进行细胞学切片观察,并采用基因芯片技术将该近等基因系与 02428 的基因表达谱

收稿日期: 2007-05-24; 修改稿收到日期: 2007-07-17。

基金项目: 国家 863 计划重大专项资助项目(2002AA2Z1002); 四川省科技攻关计划资助项目(05NG002-19)。

第一作者简介: 邓其明(1975-),男,博士,助理研究员;王颖姮(1982-),女,硕士研究生。

进行比较分析,筛选出直接或间接受寡分蘖基因调控的基因,为进一步确定这些基因在水稻分蘖发育调控中的作用、调控位置和方式以及水稻分蘖分子调控网络图的构建奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 水稻材料

水稻材料为寡分蘖突变体 G069 和广亲和材料 02428。

### 1.2 近等基因系的构建

用寡分蘖突变体 G069 与广亲和材料 02428 杂交,在 F<sub>2</sub> 中选择寡分蘖单株,以 02428 为轮回亲本进行连续回交,然后自交,建立寡分蘖基因与 02428 的近等基因系 02428 *ft1*。

### 1.3 水稻材料的准备和石蜡切片细胞学观察

取分蘖始期近等基因系 02428 *ft1* 和 02428 分蘖节位约 5 mm 长度的茎,用 10% 氢氟酸处理 15 d。倒掉氢氟酸,用 FAA 固定液固定 24 h 以上。倒掉固定液,依次在 70%、50%、30% 酒精中复水 30 min,然后用 10% 爱氏苏木精染色 1 周。倒掉染料,用蒸馏水洗 30 min,再用 30%、50%、70%、85% 和 95% 的梯度乙醇分别脱水 1 h,100% 乙醇脱水 2 次,每次 1 h。然后用纯乙醇和二甲苯等体积混合液处理 1 h,保留混合液,再加入等体积二甲苯处理 2 次,每次 1 h,再用纯二甲苯处理 3 次,每次 1 h,然后将材料在二甲苯与石蜡等体积混合液中浸泡 1 个月(45 ℃)。将温度升高到 56 ℃,换纯蜡浸泡 3 次,每次 1 h,然后进行包埋。在切片机上,将材料纵切成厚度为 12 μm 的连续蜡带,黏贴在载玻片上,最后在数码显微镜下观察拍照。

### 1.4 RNA 提取

分别取分蘖始期 02428 *ft1* 和 02428 的茎叶组织,迅速用液氮冷冻,按照 Trizol (Invitrogen) 操作手册提取和纯化总 RNA,充分溶解于 30 μL 的 RNase free 水后,用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测质量;分光光度计测定 260 nm 处吸光度定量。

### 1.5 水稻基因芯片杂交

利用含有约 51 000 个探针组代表大于 50 000 个粳稻或籼稻基因的 Rice 57K GeneChip (Affymetrix) 寡核苷酸芯片,从全基因组水平上对该近等基因系 02428 *ft1* 和 02428 的基因表达谱进行比较分析。RNA 的标记和杂交按上海晶泰生物技术有限公司 Affymetrix 操作手册《Affymetrix GeneChip Expression Analysis Technical Manual, Affymetrix》

进行。取不同批次提取的总 RNA 进行 2 次重复基因芯片分析。

### 1.6 芯片数据的分析

扫描结果使用 Affymetrix 公司提供的基因芯片分析软件 (GeneChip operating software, GCOS) 进行数据分析。将近等基因系 02428 *ft1* 芯片上相应基因的信号强度差异对数值 (signal log ratio, SLR) 与 02428 相比,通过以下公式计算出 02428 *ft1* 相对 02428 基因表达量的变化倍数 (fold change, FC):

如果表达信号强度差异对数值  $SLR \geq 0$ , 则  $FC = 2^{SLR}$ ;

如果表达信号强度差异对数值  $SLR < 0$ , 则  $FC = (-1) \cdot 2^{-SLR}$ 。

选取 2 次芯片重复 FC 绝对值都在 2 以上的基因进行基因功能注释和功能分类,基因功能注释使用以下数据库:Netaffx (<http://www.affymetrix.com/analysis/index.affx>)、Blastx (<http://www.ncbi.nih.gov/BLAST/>)、Tigr (<http://www.tigr.org/tdb/e2k1/osa1/index.shtml>)。基因功能 (GO) 分类用以下数据库:Plexdb (<http://www.barleybase.org/expression2function.php?functype=GO>)。

## 2 结果与分析

### 2.1 近等基因系的构建

以寡分蘖突变体 G069 为母本,广亲和材料 02428 为父本进行杂交,在 F<sub>2</sub> 中选择寡分蘖单株,以 02428 为轮回亲本进行连续回交。通过 6 轮回交和 2 代自交,获得了水稻寡分蘖基因与 02428 的稳定近等基因系 02428 *ft1*。近等基因系 02428 *ft1* 最高分蘖数显著低于正常材料 02428,其最高分蘖数为 1~2 个,而 02428 最高分蘖数为 12~14 个;近等基因系 02428 *ft1* 分蘖速率慢,分蘖发育进程较正常植株推迟 6 d 左右,02428 *ft1* 的分蘖发生速率为 0.16~0.20 个/(d·株),02428 的分蘖发生速率为 0.55~1.27 个/(d·株);近等基因系 02428 *ft1* 在苗期和分蘖期叶尖出现黄化现象,以后逐渐恢复正常,植株稍有矮化(图 1)。

### 2.2 突变体和正常植株侧芽分生组织的细胞学观察

取分蘖始期水稻材料,切下茎秆基部约 5 mm 长度的茎,通过制作石蜡切片,将水稻基部分蘖发生处茎节纵切,显微镜下观察水稻侧芽分生组织发生

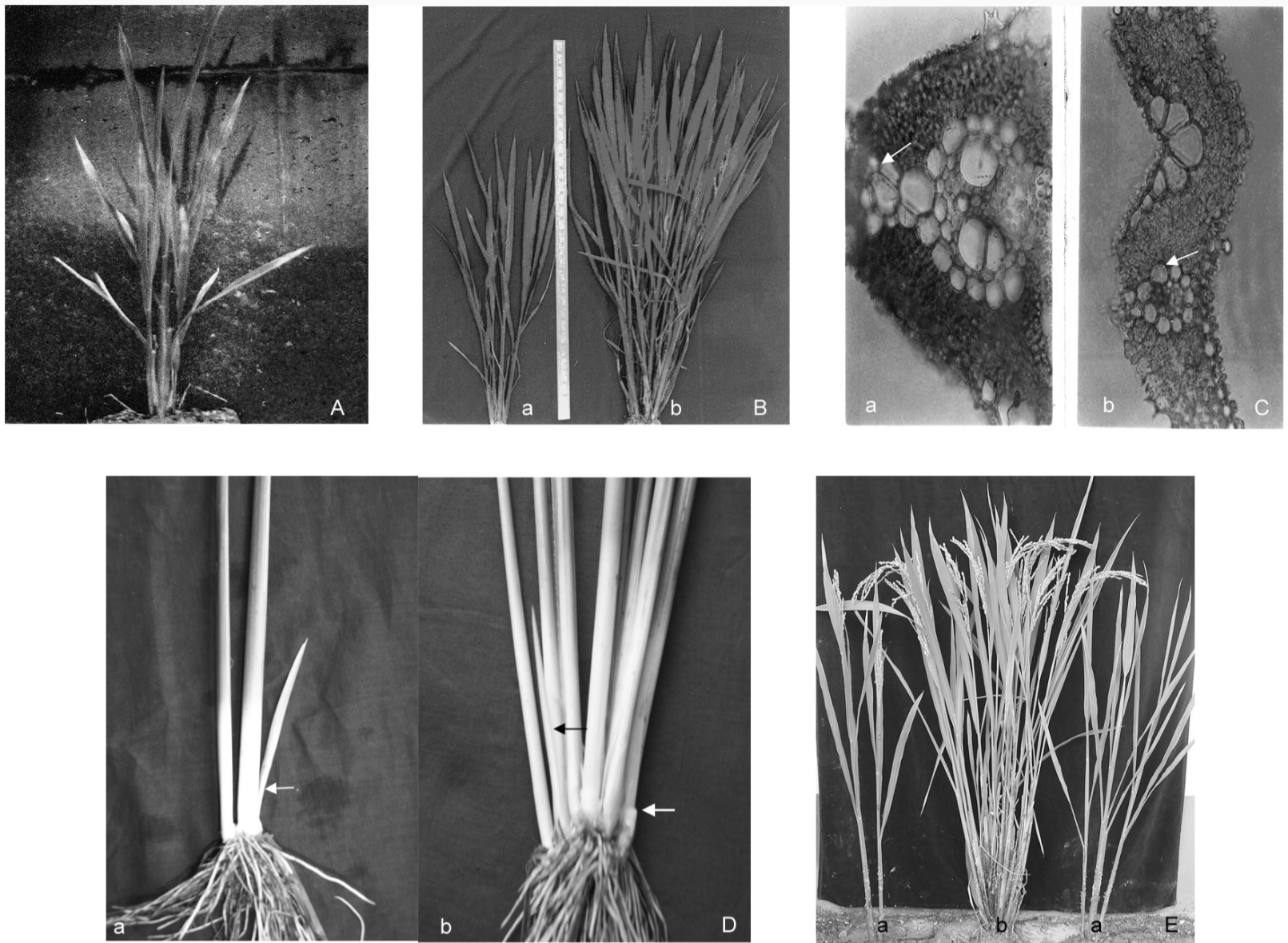


图 1 02428 *ft1* 与 02428 的农艺性状比较

Fig. 1. Comparison on the agronomic characters of 02428 *ft1* and 02428.

A - 寡分蘖突变体 G069 ; B - 分蘖期 02428 *ft1* 与 02428 的分蘖情况(a - 02428 *ft1* b - 02428) ; C - 叶绿体细胞学结构(a - 02428 *ft1* b - 02428 箭头示叶绿体) ; D - 分蘖期 02428 *ft1* 与 02428 分蘖位(a - 02428 *ft1* b - 02428 箭头示侧芽分生) ; E - 开花期 02428 *ft1* 与 02428 的分蘖情况(a - 02428 *ft1* ,b - 02428)。

A , Few tillering mutant G069 ; B , Tiller numbers of 02428 *ft1* and 02428 at the tillering stage (a , 02428 *ft1* ;b , 02428) ; C , Cytological characteristics of chloroplast (a , 02428 *ft1* ;b , 02428 ; Arrows indicate chloroplast) ; D , Tillers of 02428 *ft1* and 02428 at the tillering stage (a , 02428 *ft1* ;b , 02428 ; Arrows indicate lateral meristem) ; E , Tiller numbers of 02428 *ft1* and 02428 at the flowering stage (a , 02428 *ft1* ; b , 02428) .

情况。结果发现正常植株 02428 从第 4 叶开始 ,每片叶子下面都会产生 1 个分蘖芽 ,形成新的分蘖(图 2 A) ,而突变体中则只在第 5 叶下产生 1 个分蘖芽(图 2 B)。说明寡分蘖基因突变强烈地抑制了水稻侧芽分生组织的分化 ,推迟了水稻分蘖发生的起始时间 ,并导致最终分蘖数显著减少 ,形成寡分蘖性状。

## 2.2 基因表达谱差异分析

### 2.2.1 芯片数据可靠性评价

基因芯片的扫描图像清晰 ,背景平均值 (average background) 范围在 20 ~ 150 ,检测到 Poly A 对照 (lys , phe , thr , dap) 和杂交对照 (bioB , bioC , bioD , cre) 并发现它们以递增的信号强度表达 ;内

参基因 - *actin* 和 *GAPDH* 探针组的 3 / 5 比值均大于 3 ,阳性对照 B2 Oligo Performance 均匀分布在芯片的四周 ,说明 2 次实验都是成功的。另外 ,在 2 次实验中 ,检测到的样本表达 (P) 的数量和平均背景值以及噪声值 (noise values) 都在适当范围内 ,因而数据可以用于后续分析。

### 2.2.2 差异表达基因及其变化倍数和比例

本研究使用的 Affymetrix 芯片探针序列是根据粳稻或籼稻中 59 712 个预测基因或已知基因的表达特征序列设计的 ,这些序列的表达变化反映了相应基因的表达变化。根据芯片分析报告 ,使用 GCOS 对 02428 *ft1* 和 02428 的信号强度进行归一化 ,将计算出的 signal value 进行比较。为了排除一

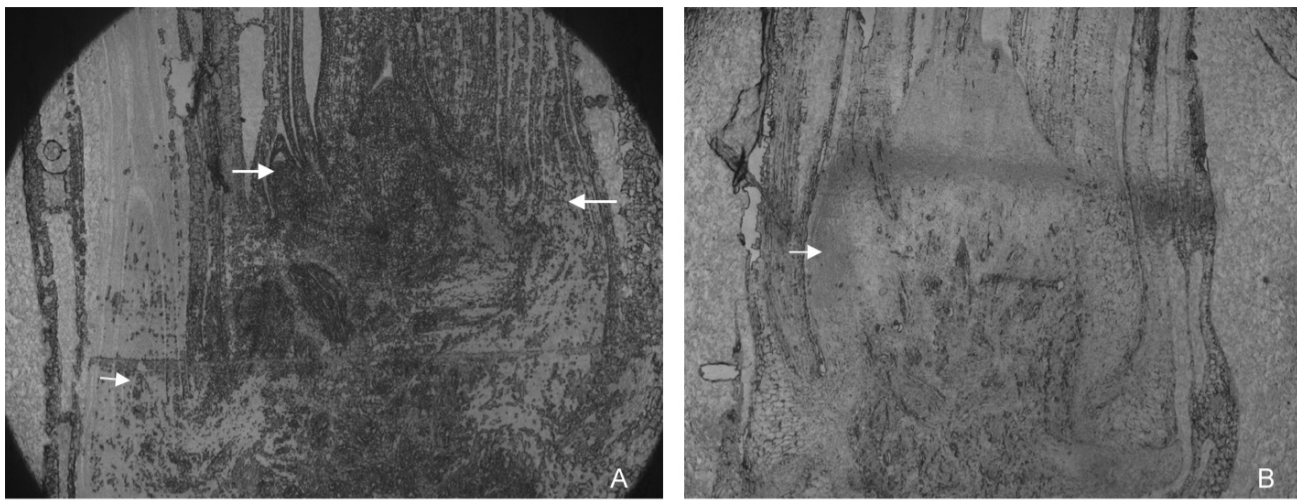


图 2 水稻侧芽分生组织显微镜观察结果

Fig. 2. Microscopic observation on rice tiller bud formation.

A - 02428 ; B - 02428 *ft1*. 箭头所示为分蘖芽。02428 中,在第 4、5、6 叶下分别产生了一个分蘖芽,而在 02428 *ft1* 中,仅在第 5 叶下面产生了一个分蘖芽。

A, 02428 ; B, 02428 *ft1*. Arrows indicate tiller buds. The tiller bud formed in the 4th, 5th, 6th leaf of 02428, only one tiller bud formed in the 5th leaf of 02428 *ft1*.

定的假阳性,增加数据的可靠性,以及便于进一步研究,选取表达变化倍数 (FC) 大于 2 (信号强度差异对数值大于 1.0) 的基因进行分析。于是,得到了在 02428 *ft1* 中表达上升的基因 61 个 (表 1),表达下降的基因 75 个 (表 2);其中,仅在 02428 *ft1* 中表达 (激活) 的基因有 27 个,仅在 02428 中表达 (沉默) 的基因有 30 个。激活的基因和沉默的基因在表 1 和表 2 中都用星号 (\*) 表示。

对上述获得的 61 个在 02428 *ft1* 中表达上升和 75 个表达下降的基因的表达变化分布情况进行分析可见,基因表达变化倍数范围较广,有的基因表达变化量甚至大于 50 倍,但以上升或下降倍数在 20 倍范围内的基因最多,占 80% 以上 (图 3)。随着

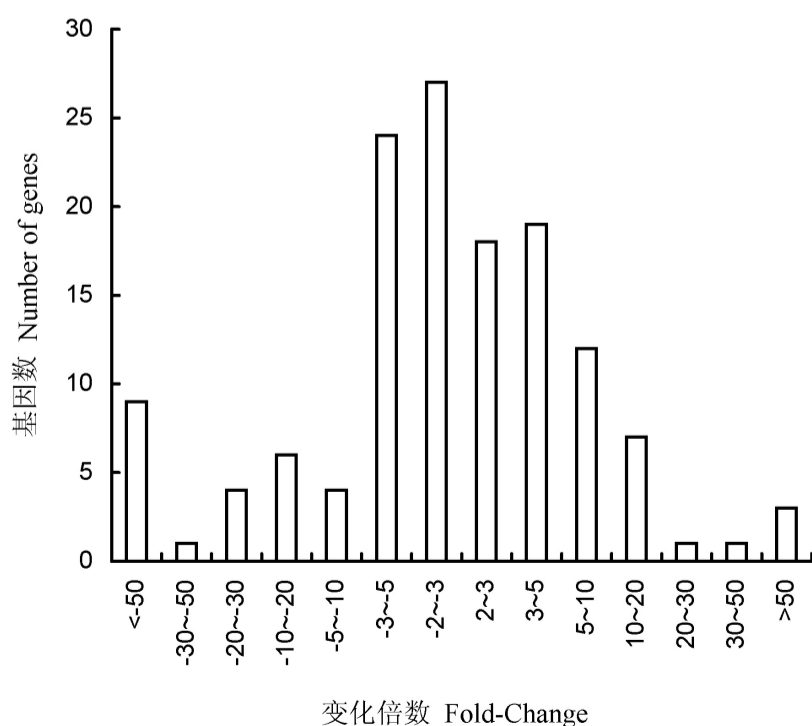


图 3 差异表达基因的变化倍数分布

Fig. 3 Frequency of differential expression genes with different fold changes.

表达量变化倍数的增加,这些基因所占的比例减少。说明在植物中,一旦发生突变,为了快速有效地适应生存,植物体将通过最小的调节达到最好的适应效果,大部分基因只发生较小倍数的变化,通过调节方式,使表型以及功能发生改变。

### 2.2.3 差异表达基因及其注释和功能分类

利用 Affymetrix 的在线分析系统 NETAFFX,以及 NCBI 和 TIGR,对筛选出的 136 个差异表达基因进行了基因功能注释,但是有相当一部分基因在目前的数据库中还没有注释,功能未知 (表 1,表 2)。利用 PLEXDB 中的 GO 对差异表达基因 (02428 *ft1* 相对 02428 表达上升以及表达下降的基因) 进行分子功能、生物过程和细胞结构三个层次上的功能划分。在划分了类群的基因中,从生物过程来看,上升表达的基因大部分与新陈代谢过程相关,包括醇、氨基酸、糖类、脂类、蛋白等的代谢。下降表达的基因中,变化最多的是与新陈代谢相关的基因,包括氨基酸及其衍生物、芳香族化合物、辅酶、脂类、核酸、有机酸、蛋白等的新陈代谢,其次为参与细胞生理过程、细胞生长和维持的基因。另外,还有调节生理过程的基因、与应激相关的基因的表达也发生了下降。分蘖的作用主要是增加吸收物质和承受阳光面积,寡分蘖植株由于分蘖减少,从而在新陈代谢、细胞生长和维持等多方面发生了较大调整,以适应新的变化,利用更优化的生理过程来维持自身生长和繁殖。

从分子功能来看,上升表达的基因中,变化最多的是具有催化活性的基因,包括水解酶、激酶、裂解酶、氧化还原酶、转移酶等。其次是具有结合功能的

表 1 02428 *ft1* 中表达上升的基因及其注释和功能分类Table 1 . Annotation and function category of the up expressed genes in 02428 *ft1* .

Affymetrix 序列号 Affymetrix No .	公共数据库登录号 Public ID	功能注释 Function annotation	功能分类结果 GO name	信号强度差异对数值	
				Signal log ratio	
				实验 1 Exp .1	实验 2 Exp .2
Os 27746 .1 .A1_at*	CB618015	Protein kinase Xa21	Catalytic activity	11.2	11.0
Os 47732 .1 S1_at*	BI809490	Fiber protein Fb19	No hit	11.6	7.4
Os 48206 .1 S1_at*	CR279289	Subtilisin chymotrypsin inhibitor CE 1B	No hit	8.7	7.2
Os 46471 .1 S1_at*	AK073552 .1	Unknown	Cell growth and maintenance	2.0	5.8
Os 54232 .1 S1_at*	AK102658 .1	Putative zinc finger protein	No hit	1.9	5.4
OsAffx 5780 .1 .A1_at*	9636 .m01037	Transposon CACTA ,En/Spm sub class	No hit	6.1	4.9
Os 52754 .2 S1_at*	AK102972 .1	Tat binding protein 1 containing protein	No hit	1.1	4.6
Os 52036 .1 S1_at*	AK064587 .1	Peptide chain release factor subunit 1	Translation regulator activity	1.7	4.4
Os .15171 .1 S1_at*	BM421235	Lipoxygenase 2 .1 ,chloroplast precursor	Oxidoreductase activity	3.6	3.9
Os .1564 .1 S1_at	AK107756 .1	Unknown	Cell growth and maintenance	1.4	3.9
OsAffx .19820 .1 S1_at*	9640 .m02431	O methyltransferase ZRP4	Catalytic activity	2.8	3.8
Os .14325 .1 S1_at	AK070028 .1	Unknown	No hit	4.4	3.7
Os 22796 .1 S1_at*	AK058659 .1	Growth regulating factor 1	No hit	5.2	3.7
Os .19971 .1 S1_at	BI801444	Unknown	No hit	4.3	3.5
Os 50057 .1 S1_at*	AK119803 .1	Putative zinc finger protein	Translation regulator activity	1.1	3.5
Os 6864 .1 S1_at	AJ308374 .1	Unknown	Cell growth and maintenance	1.1	3.5
Os 53414 .1 S1_at*	AK072515 .1	LOB domain protein 1 , putative	No hit	2.0	3.4
OsAffx 32251 .1 S1_at*	BA000029 .2	Mitochondrial DNA	Cell growth and maintenance	3.6	3.3
Os 51270 .1 S1_at*	AK062387 .1	Unknown	No hit	5.2	3.2
Os 6219 .1 S1_at*	AK070205 .1	Unknown	Catalytic activity	1.1	3.1
Os 6389 .1 S1_at*	AU165804	Unknown	No hit	2.2	3.0
OsAffx .14773 .1 S1_at*	9636 .m01040	Unknown	No hit	1.7	3.0
Os 36264 .1 S1_x_at	AK063960 .1	Hydrolyzing O glycosyl compounds	Catalytic activity	1.6	2.8
Os 51929 .1 S1_at	AK064310 .1	Putative glycine rich protein	Cell growth and maintenance	1.5	2.7
OsAffx .13543 .1 S1_s_at	9631 .m05790	Unknown	Cell growth and maintenance	2.0	2.7
Os 33816 .1 S1_at*	AK073926 .1	Integral membrane protein like	No hit	1.7	2.5
Os .7567 .1 S1_at	AK063684 .1	Unknown	No hit	1.2	2.4
Os 21932 .1 S1_at	AK110684 .1	No apical meristem (NAM) protein	No hit	1.8	2.2
Os 24387 .1 .A1_s_at*	CA761757	F box domain containing protein	No hit	3.3	2.2
Os 9360 .1 S1_at	AK101239 .1	Skp1 family , dimerisation domain containing	No hit	3.7	2.2
OsAffx 32343 .1 S1_at	BA000029 .2	Mitochondrial DNA	Cell growth and maintenance	1.1	2.2
Os 36264 .1 S1_at	AK063960 .1	Hydrolyzing O glycosyl compounds	Catalytic activity	1.5	2.1
Os 46591 .1 S1_at	AK060338 .1	Putative epoxide hydrolase	No hit	2.8	2.1
Os 46657 .1 .A1_at	CB620423	Unknown	No hit	2.7	2.1
Os 40106 .1 .A1_s_at*	CF328544	Putative retinoblastoma protein	No hit	1.0	2.0
Os 22908 .1 S1_at*	AK070133 .1	Putative alpha expansin precursor	Cell growth and maintenance	1.3	1.9
Os 24902 .1 S1_at	CA763009	Membrane associated salt inducible protein	No hit	1.0	1.9
Os 46591 .1 S1_x_at	AK060338 .1	Putative epoxide hydrolase	No hit	2.0	1.9
Os 24180 .1 .A1_s_at	CA761349	Calmodulin binding protein , putative	No hit	1.5	1.8
Os 49748 .1 S1_at	AK063983 .1	Putative growth regulating factor 1	No hit	1.1	1.8
Os .11510 .1 S1_s_at	AY056828 .1	Beta glucosidase isozyme 2 precursor	Catalytic activity	1.1	1.6
Os .19130 .1 S1_at*	AK120596 .1	Putative nitrite transporter	Transporter activity	1.6	1.6
Os 54283 .1 S1_at	AK103053 .1	Putative dynein light chain 2	Microtubule motor activity	2.2	1.6
Os .10155 .1 S1_at	CR291160	Putative amino acid selective channel protein	No hit	1.1	1.5
Os 49563 .4 S1_x_at	AK062859 .1	Retrotransposon protein , putative	No hit	1.5	1.5
Os 5310 .3 .A1_at*	AK073500 .1	Unknown	No hit	1.2	1.5
Os 55314 .1 S1_at	AK107849 .1	Putative GDSL like lipase/acylhydrolase	Cell growth and maintenance	1.5	1.5
Os .18441 .1 S1_at	AK071215 .1	26S proteasome non ATPase regulatory subunit	Transferase activity	2.2	1.4
Os 28032 .1 .A1_at	AK106887 .1	Putative endo 1 ,3(4)- beta glucanase	Cell growth and maintenance	1.1	1.4
Os .19951 .1 S1_at	AJ494928 .1	Unknown	No hit	2.0	1.3
Os .19951 .1 S1_x_at	AJ494928 .1	Unknown	No hit	1.8	1.3
Os 50572 .1 S1_at*	AK121900 .1	Calmodulin binding protein , putative	No hit	3.2	1.3
Os 8570 .3 S1_s_at*	AK063617 .1	Unknown	No hit	1.0	1.3
Os 36104 .1 S1_at	AK064485 .1	Glycerophosphoryl diester phosphodesterase	Catalytic activity	1.9	1.2
Os 51106 .1 S1_at	AK060686 .1	Endo 1 ,4 beta glucanase precursor	Catalytic activity	1.0	1.2
Os .15144 .1 S1_a_at	AK101904 .1	Amidase , hydantoinase/carbamoylase family protein	Cell growth and maintenance	1.0	1.1
Os 33244 .1 S1_at*	AK101230 .1	Delta 1 pyrroline 5- carboxylate synthetase	No hit	3.4	1.1
Os 49157 .1 S1_s_at	AK110974 .1	Endopeptidase/cysteine type peptidase	Catalytic activity	1.7	1.1
Os 49627 .1 S1_at	AK105605 .1	Putative L ascorbate oxidase	Transition metal ion binding	1.1	1.1
Os 2696 .1 S1_at	Y07782 .1	Alpha expansin OsEXPA15	No hit	1.1	1.0
Os 9770 .1 S1_at	AK120248 .1	Unknown	No hit	1.6	1.0

\* 表示激活基因。

“\* ” indicates activated genes .



表 2 02428 *ft1* 中表达下降的基因及其注释和功能分类Table 2 . Annotation and function category of the down expressed genes in 02428 *ft1* .

Affymetrix 序列号 Affymetrix No .	公共数据库登录号 Public ID	功能注释 Function annotation	功能分类结果 GO name	信号强度差异对数值 Signal log ratio	
				实验 1 Exp .1	实验 2 Exp .2
Os 5774 .1 S1_at*	CB684013	Unknown	No hit	- 6.7	- 8.5
Os 8878 .1 S1_at*	AU092757	Retrotransposon protein	No hit	- 1.1	- 8.2
Os 27780 2 S1_a_at*	AK100756 .1	Receptor serine/threonine kinase like	No hit	- 6.0	- 7.8
OsAffx .12389 .1 S1_at*	9630 .m03609	UDP glucuronosyl and UDP glucosyl transferase family protein	Catalytic activity	- 6.4	- 7.7
Os .10498 .1 S1_at*	AK065202 .1	Unknown	No hit	- 8.3	- 7.4
Os .11368 .1 S1_at*	AK099196 .1	Lecithin :cholesterol acyltransferase	Catalytic activity	- 8.1	- 7.3
Os 7149 .1 S1_at	AK105589 .1	Unknown	No hit	- 6.1	- 7.1
Os 39619 .1 .A1_at*	CF313065	Unknown	No hit	- 4.6	- 6.6
Os 8668 .1 S1_x_at*	AK066459 .1	Fiber protein Fb19	Response to stress	- 7.7	- 6.4
OsAffx 2891 .1 S1_s_at*	9630 .m03573	Heavy metal associated domain containing protein	Cell growth and maintenance	- 2.7	- 6.4
Os 27728 .1 S1_at*	CB675503	Phenylalanine/histidine ammonia lyase	Catalytic activity	- 7.5	- 6.0
Os 6845 .1 S1_at*	AK062529 .1	Putative lipid transfer protein	Cell growth and maintenance	- 2.4	- 5.3
Os .10767 .1 S1_at*	AK069956 .1	Oxidoreductase , short chain dehydrogenase /reductase family protein	Catalytic activity	- 2.6	- 5.1
Os 27780 2 S2_a_at*	AK064891 .1	Unknown	No hit	- 3.0	- 5.1
Os 5757 .1 S1_at*	AK058855 .1	Unknown	No hit	- 4.3	- 5.1
Os 27169 .1 S1_s_at*	CB645166	Unknown	No hit	- 4.6	- 4.9
Os 51787 .1 S1_at*	AK063710 .1	ATPase , AAA family , putative	No hit	- 1.6	- 4.4
Os 57171 .1 S1_at*	AK111074 .1	Unknown	Catalytic activity	- 7.3	- 4.1
Os .17677 .1 S1_at*	AK110551 .1	Unknown	Cell growth and maintenance	- 1.8	- 4.0
Os 8668 .1 S1_at	AK066459 .1	Fiber protein Fb19	Response to stress	- 4.9	- 3.2
Os 323 .1 S1_at*	AF251277 .1	SCP like extracellular protein	Cell growth and maintenance	- 1.6	- 3.0
Os 405 .1 S1_a_at*	AK072241 .1	Lipoxygenase	Electron transport	- 4.7	- 3.0
Os 48216 .1 S1_at*	AK064395 .1	Putative UDP glucose salicylic acid glucosyltransferase	No hit	- 1.1	- 3.0
Os .11920 .1 S1_s_at	AK102569 .1	Unknown	No hit	- 1.1	- 2.8
OsAffx .15178 .1 S1_s_at	9633 .m04737	Myb DNA binding domain	Binding	- 1.1	- 2.8
Os 38756 .1 S1_s_at	BQ909050	Mla1 , putative	No hit	- 1.5	- 2.7
Os 34731 .1 S1_at*	AK070354 .1	Unknown	No hit	- 2.9	- 2.6
Os 50903 .1 S1_at*	AK071383 .1	Indole 3 glycerol phosphate synthase	Catalytic activity	- 1.5	- 2.5
Os 45516 2 S1_x_at*	NM_184102 .1	Protein kinase domain , putative	Catalytic activity , binding	- 1.0	- 2.4
Os 50590 2 .A1_at	AJ491818 .1	Cation transport protein , putative	No hit	- 1.6	- 2.4
OsAffx 2900 .1 S1_at	9630 .m03610	Lecithin :cholesterol acyltransferase , putative	Catalytic activity	- 1.1	- 2.4
Os 28429 2 S1_at	AK062061 .1	NB ARC domain containing protein , expressed	No hit	- 3.7	- 2.3
Os 37689 .1 S1_at	AK064511 .1	XH domain , putative	No hit	- 1.9	- 2.2
Os 46574 .1 S1_at	AK063193 .1	Unknown	No hit	- 1.5	- 2.2
Os 46831 3 S1_x_at*	NM_197095 .1	Unknown	No hit	- 2.4	- 2.2
Os .12018 .1 S1_at	AK062716 .1	EF hand , putative	No hit	- 1.6	- 2.1
Os 28429 2 S1_x_at	AK062061 .1	NB ARC domain containing protein , expressed	No hit	- 1.7	- 2.1
OsAffx .12462 .1 S1_s_at*	9630 .m04105	Oxidoreductase , short chain dehydrogenase /reductase family protein	Catalytic activity	- 5.1	- 2.1
OsAffx 4953 .1 S1_at	9634 .m02738	Myb , DNA binding	Binding	- 2.2	- 2.1
Os 2423 .1 S1_at	AK070762 .1	Pathogenesis related protein Bet v I family protein	No hit	- 1.8	- 2.0
Os 27794 .1 S1_at	AK071447 .1	Terpene synthase metal binding domain	Binding	- 2.0	- 1.9
Os 33773 .1 S1_at	AK099048 .1	Unknown	No hit	- 1.7	- 1.9
Os 49287 .1 S1_x_at	AK106878 .1	hAT family dimerisation domain , putative	No hit	- 1.1	- 1.9
Os .12606 .1 S1_at	AK071496 .1	Unknown	No hit	- 1.9	- 1.8
Os .11610 .1 S1_at	AK105924 .1	Unknown	No hit	- 2.6	- 1.7
Os .12865 .1 S1_at	AK059672 .1	Transposon protein , putative , Pong sub class	Binding	- 1.6	- 1.7
OsAffx 30674 .1 S1_at	AK058401 .1	Unknown	Pathogenesis	- 2.5	- 1.7
Os .11965 .1 S1_at	AK059625 .1	Unknown	No hit	- 1.3	- 1.6
Os .17900 .1 S1_s_at*	BI803310	Gibberellin regulated protein 2 precursor , putative	No hit	- 1.2	- 1.6
Os 23822 .1 .A1_at	CB681614	ICE like protease p20 domain containing protein	Catalytic activity	- 1.1	- 1.6
OsAffx 29778 .1 S1_at*	9637 .m00704	Protein kinase domain containing protein	Catalytic activity	- 1.0	- 1.6
Os .16305 .1 S1_at*	AK071546 .1	Unknown	Electron transport	- 1.1	- 1.5
Os 26933 .1 S1_x_at	AK102387 .1	Ripening related protein , putative , expressed	No hit	- 1.6	- 1.5
Os .16030 .1 S1_x_at	AK107816 .1	Putative cytochrome P450	Electron transport	- 1.4	- 1.4

续表 2

Affymetrix 序列号 Affymetrix No.	公共数据库登录号 Public ID	功能注释 Function annotation	功能分类结果 GO name	信号强度差异对数值 Signal log ratio	
				实验 1 Exp .1	实验 2 Exp .2
OsAffx 32209 .1 S1_x_at	X15901 .1	Chloroplast genome	Oxidative phosphorylation	- 1.3	- 1.4
Os .16030 .1 S1_at	AK107816 .1	Putative cytochrome P450	Electron transport	- 1.6	- 1.3
Os .19493 .1 S1_at	AK073257 .1	Putative bile acid beta glucosidase	Transporter activity	- 1.0	- 1.2
Os 27695 .1 S1_at	AK121202 .1	UDP glucuronosyl and UDP glucosyl transferase family protein	Catalytic activity	- 2.5	- 1.2
Os 37812 .1 S1_s_at*	AK065933 .1	Unknown	No hit	- 1.6	- 1.2
Os 4509 .1 S1_x_at	AU082409	Unknown	No hit	- 1.1	- 1.2
Os .11380 .1 S1_x_at	AK061361 .1	Unknown	No hit	- 1.4	- 1.1
Os .15894 .1 A1_a_at	BU673129	Peroxidase , putative	No hit	- 1.8	- 1.1
Os 28429 .1 S1_at	AK070342 .1	NB ARC domain containing protein , expressed	Response to stress	- 1.3	- 1.1
Os 34273 2 S1_x_at	NM_189754 .1	Amino acid permease associated region	Transporter activity	- 1.1	- 1.1
Os 46589 .1 S1_at	AK060392 .1	Remorin , C-terminal region	No hit	- 1.4	- 1.1
Os 51227 .1 S1_x_at	AK062280 .1	Terpene synthase family , metal binding domain	No hit	- 1.1	- 1.1
Os 52298 .1 S1_at	AK066196 .1	Unknown	No hit	- 1.0	- 1.1
Os 52619 .1 S1_at	AK068339 .1	Unknown	Cell growth and maintenance	- 1.4	- 1.1
Os 6548 .1 S1_at	AK067293 .1	Double stranded RNA binding domain	No hit	- 1.9	- 1.1
OsAffx .10837 .1 S1_at	AK064531 .1	Mitochondrial NADH dehydrogenase	No hit	- 1.6	- 1.1
OsAffx 22955 2 S1_s_at	9638 .m01769	ATP synthase subunit C family protein	No hit	- 1.4	- 1.1
Os .11361 .1 S1_at	AK060250 .1	Unknown	No hit	- 1.0	- 1.0
Os 28397 .1 S1_at	BI807677	Phenylalanine/histidine ammonia lyase	Catalytic activity	- 2.5	- 1.0
OsAffx 24981 .1 S1_at	9631 .m00476	Integral membrane protein DUF6 containing protein	No hit	- 1.1	- 1.0
OsAffx 3640 .1 S1_at	9631 .m05800	Protease inhibitor/seed storage/LTP family protein	Cell growth and maintenance	- 1.8	- 1.0

\* 表示沉默基因。

“\*” indicates silenced genes .

基因,包括金属离子结合、核酸结合等转录活性位点。另外具有运动活性、翻译调节活性、运输活性的基因发生了上升表达。下调表达的基因中,变化最多的也是具有催化活性和具有结合功能的基因,具有催化活性的基因类型有水解酶、肽酶、激酶、蛋白酶、连接酶、氧化还原酶、转移酶等,具有结合功能的基因类型有脂类结合、金属离子结合、DNA 结合、核酸结合等。

从细胞功能来看,上升表达基因中,与细胞内细胞质相关的基因最多,其次是与细胞膜相关的基因,与细胞外相关的基因有 1 个。下降表达基因中,与细胞内相关的基因最多,分别与细胞质、细胞核、细胞膜、染色体、染色体外 DNA 等相关,与细胞外相关的基因仅有 1 个。

### 3 讨论

利用基因芯片分析全面研究植物某一性状相关基因(如多糖信号转导、激素诱导表达、高盐胁迫等)的报道已经较多<sup>[18-20]</sup>,并有成功克隆相关基因的报道<sup>[21]</sup>。本研究以一对近等基因系为材料,检测了受寡分蘖基因调控相关基因的表达,结果表明寡分蘖基因近等基因系 02428 *ftl* 与 02428 之间差异表达的 cDNA 克隆共有 136 个,其中受到明显调控的基

因有 57 个(激活 27 个,沉默 30 个)。功能分析表明,分子功能上包括具有催化活性的基因(如水解酶、激酶、裂解酶、氧化还原酶、转移酶等)和具有结合功能的基因(如金属离子结合、核酸结合等转录活性位点),另外还有具有运动活性、翻译调节活性、运输活性的基因等。大量酶类和转录活性区域发生了改变,这意味着突变体中基因的表达情况发生了巨大的变化。另一方面,金属离子结合部位、DNA 结合部位等区域都是转录活性位点,直接决定基因能否被转录,因而这些部位的变化,影响同样是巨大的。在突变体水稻植株生物过程发生改变的同时,催化和调节这些生物过程的酶类、蛋白质随之发生了调整,从而快速有效地把植物整体的生理状态调整到最佳水平以适应生长繁殖的需要。从细胞功能来看,与细胞内细胞质相关的基因最多,分别与细胞质、细胞核、细胞膜、染色体、染色体外 DNA 等相关,其次是与细胞膜相关的基因,与细胞外相关的基因有 1 个。另一方面,在所有差异表达的基因中,在近等基因系 02428 *ftl* 中发生下调表达的基因在数量和种类方面都多于上升表达的基因。通过形态学和细胞学的观察,发现寡分蘖植株最大特征是分蘖变少,植株稍有矮化,而在分子水平上发现其表达的基因量和种类略有减少,显示了生物对变化的快速

适应能力,能够最大限度地利用自身的各个生物过程,将不需要的基因关闭,来满足自身生长和繁殖的需要。

本研究利用基因芯片技术在全基因组水平上对该基因调控的表达谱进行了分析,发现了大量有意义的基因,目前正在进行 57 个明显受寡分蘖基因调控的 cDNA 克隆的功能验证和分析,以确定它在水稻分蘖发育调控中的作用和调控位置,以期在阐明分蘖控制机理的道路上迈出更加坚实的一步。

#### 参考文献:

- [1] Xu Y B, Shen Z T. Diallel analysis of tiller number at different growth stages in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 1991, 83(2): 243-249.
- [2] Wu P, Zhang G, Huang N. Identification of QTLs controlling quantitative characters in rice using RFLP markers. *Euphytica*, 1996, 89(3): 349-354.
- [3] Yan J Q, Zhu J, He C X, et al. Quantitative trait loci analysis of the developmental behavior of tiller number in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 1998, 97: 267-274.
- [4] Wu W R, Li W M, Tang D Z, et al. Time related mapping of quantitative trait loci underlying tiller number in rice. *Genetics*, 1999, 151(5): 297-354.
- [5] 梁康逵, 林文雄, 王雪仁, 等. 籼型三系杂交水稻茎蘖数的发育遗传研究. *中国农业科学*, 2002, 35(9): 1033-1039.
- [6] 任翔, 翁清妹, 祝莉莉, 等. 水稻分蘖能力 QTL 的定位. *武汉大学学报 理学版*, 2003, 49(4): 533-537.
- [7] Li X Y, Qian Q, Fu Z M, et al. Control of tillering in rice. *Nature*, 2003, 422: 618-621.
- [8] Takeda T, Suwa Y, Suzuki M, et al. The *OsTB1* gene negatively regulates lateral branching in rice. *Plant J*, 2003, 33: 513-520.
- [9] Shiji I, Masahiko M, Tomotsugu A, et al. Suppression of tiller bud activity in tillering dwarf mutants of rice. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46(1): 79-86.
- [10] Persson S, Wei H, Milne J, et al. Identification of genes required cellulose synthesis by regression analysis of public microarray data sets. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2005, 120(4): 8633-8638.
- [11] Lin W H, Ye R, Ma H, et al. DNA chip based expression profile analysis indicates involvement of the phosphatidylinositol signaling pathway in multiple plant responses to hormone and abiotic treatment. *Cell Res*, 2004, 14(1): 34-45.
- [12] Godo H, Shimada Y, Asami T, et al. Microarray analysis of brassinosteroid regulated gene in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2002, 130: 1319-1334.
- [13] 饶志明, 董海涛, 庄杰云, 等. 水稻抗稻瘟病近等基因系的 cDNA 微阵列分析. *遗传学报*, 2002, 29(10): 887-893.
- [14] Singh A K, McIntyer L M, Sherman L A. Microarray analysis of the genome wide response to iron deficiency and iron reconstitution in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. FCC 6803. *Plant Physiol*, 2003, 132: 1825-1839.
- [15] Klok E J, Wilson I W, Wilson D, et al. Expression profiles analysis of low oxygen response in *Arabidopsis* root cultures. *Plant Cell*, 2002, 14: 2771-2785.
- [16] Rabbani M A, Maruyama K, Abe H, et al. Monitoring expression profiles of rice genes under cold, drought, and high salinity stress and abscisic acid application using cDNA microarray and RNA gel blot analyses. *Plant Physiol*, 2003, 133: 1755-1767.
- [17] 唐家斌, 曾万勇, 王文明, 等. 水稻寡分蘖突变体的遗传分析和基因定位. *中国科学: C 辑*, 2001, 31(3): 208-212.
- [18] Price J, Laxmi A, St Martin S K, et al. Global transcription profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2004, 16: 2128-2150.
- [19] Cha P, Gingerich D J, Lall S, et al. Global and hormone induced gene expression changes during shoot development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2002, 16: 2128-2150.
- [20] Kawasaki S, Borchert C, Deyholos M, et al. Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. *Plant Cell*, 2001, 13: 889-905.
- [21] Leonhardt N, Kwak J M, Robert N, et al. Microarray expression analyses of *Arabidopsis* guard cells and isolation of a recessive abscisic acid hypersensitive protein phosphatase 2C mutant. *Plant Cell*, 2004, 16: 596-615.