

应用基因芯片检测水稻基因表达的研究

高志勇 (渭南师范学院化学化工系, 陕西渭南 714000)

摘要 了解水稻生长发育过程中不同器官中的基因表达情况, 有助于理解水稻的生长发育机理, 进而有助于指导水稻遗传育种。因此, 采用寡核苷酸基因芯片对水稻孕穗期不同器官的基因表达进行检测和研究。

关键词 水稻; 寡核苷酸芯片; 杂交; 基因表达

中图分类号 Q786 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)10-03007-02

Application of Gene Chip in Detection of Gene Expression of Rice

GAO Zhi-yong (Department of Chemistry and Chemical Engineering, Weinan Teachers College, Weinan, Shaanxi 714000)

Abstract Studying gene expression in different rice organs is useful to understand development of rice and guide its breeding. Utilizing the oligonucleotide gene chip, the gene expression was detected and studied in different rice organs.

Key words Rice; Oligonucleotide chip; Hybridization; Gene expression

基因芯片(gene chip), 也称 DNA 微阵列(DNA microarray), 其信息容量大、灵敏和操作相对简单, 可有效地检测特异序列核酸的杂交, 是一种有广泛用途的分析方法^[1]。在我国三大主要粮食品种水稻、小麦、玉米中, 水稻的总产量位居第一^[2-3], 是我国粮食安全保障的核心, 因而对水稻的生长发育及其经济性状的研究是长期、重大的科学问题。不同的基因表达遗传程序控制着生长发育^[4]。水稻基因组计划揭示了水稻的基因组较小, 约含400 Mb, 分布在12条染色体上^[5], 仅为玉米的1/6、大麦的1/13, 且只有另一种模式植物拟南芥的4倍, 使其成为研究粮食作物的重要模式植物。水稻的营养生长和生殖生长相互影响, 研究比较其营养器官和生殖器官的基因表达情况, 将有助于了解其生长发育的分子基础, 从而对遗传育种提供理论指导。笔者通过应用寡核苷酸芯片检测水稻孕穗期不同器官中基因的表达情况, 以期了解寡核苷酸芯片在水稻功能基因组学研究中的作用, 初步认识在水稻孕穗期究竟有哪些基因在表达并发挥着作用。

1 材料与方

1.1 材料 应用寡核苷酸基因芯片, 所用的水稻材料滇粳优5号是云南省农科院粳稻育种中心2001年育成的落粒型细长优质粳稻香米新品种(滇粳优2号/滇粳优1号)^[6], 取其叶、花、根为试验材料。

1.2 方法 材料的采集与处理。在水稻孕穗期, 到大田中采集整株材料, 拿回实验室后立即冲洗干净, 分别将叶、花、根部分剪碎, 用液氮将其速冻, 放入冰箱中保存, 备用。

器皿的处理^[7]。RNA 酶(RNase)是导致RNA降解最主要的物质, 非常稳定, 在一些极端的条件可暂时失活, 但限制因素去除后又迅速复性。常规的高温高压蒸汽灭菌方法和蛋白抑制剂不能使所有的RNase完全失活。为使试验不受RNase的干扰, 对试验物品进行了相应处理。总RNA的提取。分别提取纯度和完整性较好的水稻根、叶、花的总RNA。

反转录。以总RNA为模板反转录出Cy3-dUTP标记的cDNA。cDNA与芯片杂交、洗脱、检测。经cDNA与芯片杂交、洗脱、检测获得杂交结果。

2 结果与分析

2.1 杂交芯片扫描结果 叶、花、根的杂交芯片扫描结果如图1~3所示。

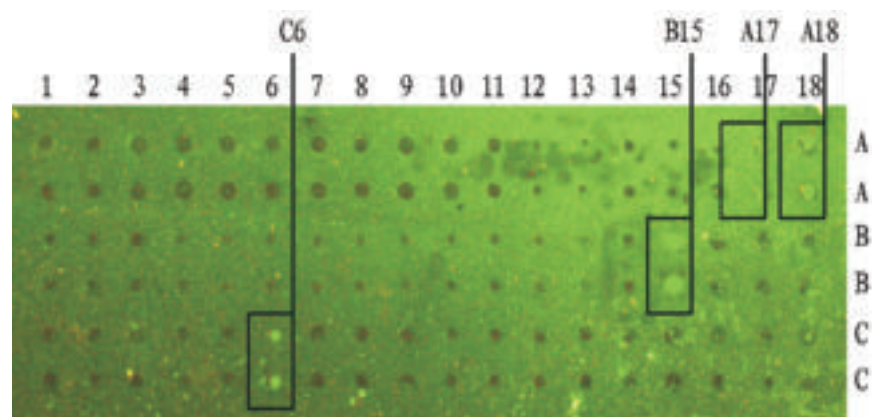


图1 叶杂交结果扫描

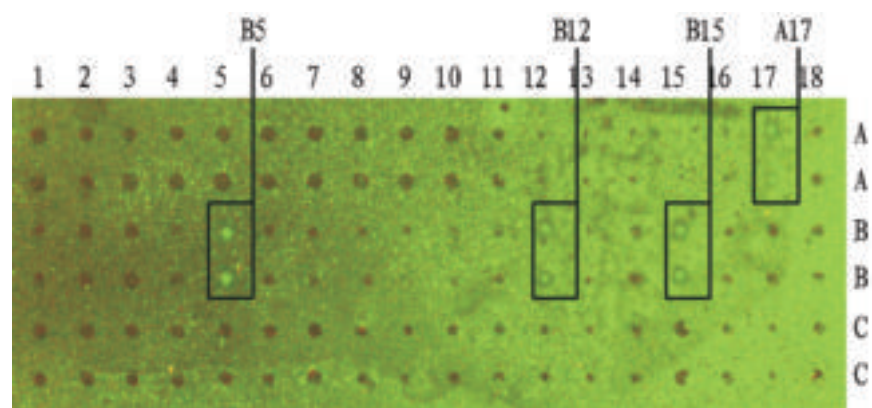


图2 花杂交结果扫描

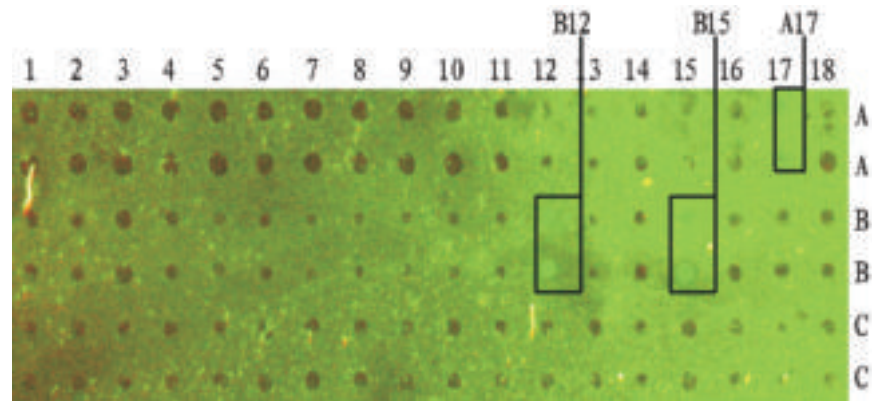


图3 根杂交结果扫描

由图1~3可以看出, 叶杂交的矩阵上, A17、A18、B15、C6点上有明显的杂交信号; 花杂交的矩阵上, A17、B5、B12、B15点上有明显的杂交信号; 根杂交的矩阵上, A17、B12、B15点上有明显的杂交信号。

由表1可知, MADS14(A17)、AU182423(B15)基因同时也在所检测的叶、花、根器官中表达, 提示这些基因可能是一类控制生长发育的管家基因; MADS15(A18)、AU182434(C6)基因此时期仅在叶器官表达, 提示这些基因可能控制叶的生长发

育;NAC7(B5) 基因此时期只在花器官表达,提示该基因可能控制花的生长发育。

表1 叶、花、根中的基因表达

探针位置	代表基因	表达部位
A17	MADS14	叶、花、根
A18	MADS15	叶
B5	NAC7	花
B12	Zinc-FS3574	花、根
B15	AU82423	叶、花、根
G6	AU82434	叶

3 讨论

试验在优化 RNA 提取和基因芯片杂交条件的基础上,成功地应用基因芯片检测了水稻孕穗期不同器官的基因表达,发现通常认为主控花形态建成的 MADS box 基因家族中 MADS14 基因,在水稻孕穗期同时也在叶和根中强烈表达,而 MADS15 基因则仅在叶中表达;同时还发现 NAC 基因家族、

Zinc 基因家族和 EST 均有基因在水稻幼穗(花)中表达,说明水稻花所涉及的基因已经远远超出了“花发育 ABC 模型”所涉及的 MADS box 基因,这些发现极大地丰富了对 MADS box、NAC、Zinc 基因家族以及 EST 基因在植物体生长发育中作用的认识,为功能基因组学的进一步研究奠定了基础。

参考文献

- [1] NEELAMD, RUBEN B, DENNIS O, et al. Gene expression microarrays: a 21st century tool for directed vaccine design[J]. *Vaccine*, 2002, 20:22-30.
- [2] 吴国芳,冯志坚,马炜梁,等.植物学(下册)[M].北京:高等教育出版社,2000:343.
- [3] 于保平.我国水稻生产的成本效益及前景展望[J].*中国稻米*,2001(3):9-11.
- [4] GUANG YZ, JOSEPH R, RAPHAEL G, et al. Competitive hybridization: theory and application in isolation and quantification of differentially regulated genes[J]. *Analytical Biochemistry*, 2000, 282:129-135.
- [5] 罗琼,朱立煌.水稻花发育的分子生物学研究进展[J].*遗传*,2002(1):87-93.
- [6] 刘吉新,赵国珍,世荣,等.云南省农科院粳稻中心育成的优质米新品种[J].*云南农业科技*,2002(5):35-36.
- [7] 上海生工生物工程技术有限公司.核酸分离纯化产品用户手册[M].上海:上海生工生物工程技术有限公司,2002.