

## 国际麦类基因组 EST 计划研究进展

### The Progress in Projects of Expressed Sequence Tags in Plant Genomes

基因组 EST(expressed sequence tags 表达序列标签) 计划, 是通过大规模的 cDNA 随机测序技术, 获得对基因组认识的一种基因组研究策略。该计划由美国科学家 Venter 于 1989 年提出, 并首先在人类基因组研究中应用, 之后被广泛用于植物基因组研究。在国际已开展的植物基因组计划中, 除水稻与拟南芥同时还进行全基因组测序研究外, 其它均为 EST 计划。近来, 关注植物 EST 计划的人们惊奇地发现, 在国际最大的公共数据库 GeneBank 中, 小麦的 EST 数量从 1998 年以来的几条, 进入 8 月份突然增加到近 3 万条, 现在已近 4.5 万条, 同时大麦等麦类作物的 EST 数量也显著增加。而这一进展的取得, 主要是由于国际麦类 EST 计划实施的结果。

1. 国际麦类 EST 计划 1998 年 8 月在第九届国际小麦遗传学会议上, 由美国、澳大利亚、英国三国科学家发起, 正式成立了国际小麦族 EST 协作网(International tritaceae EST cooperation ITEC), 同时也拉开了国际麦类 EST 研究的序幕。共有 12 个国家的 35 个实验室注册参加了该研究计划(<http://wheat.pw.usda.gov/genome/participants.htm>), 中国农业科学院品种资源研究所的农业部作物种质资源与生物技术重点实验室也是成员之一。参加的实验室可以自选小麦族中的材料自筹资金开展研究, 但一般建议选用小麦与大麦。注册成员与 ITEC 签署有关协议, 将所获得的 EST 数据输入该组织的数据库, 成员可以共享数据资源。参加的组织一般要提供 1000 条 EST, 或不少于 250 条。

ITEC 的目标是建立一个国际公共麦类 EST 数据库, 该数据库设在美国。麦类 EST 计划共分两期, 第一期目标于 2000 年 7 月结束, 完成 4 万条 EST; 第二期完成小麦与大麦各 30 万条 EST。

#### 2. 研究内容

(1) 文库构建。文库构建是 EST 计划中很重要的内容, ITEC 要求为非扩增或经筛选的 cDNA 文库, 文库克隆 80% 以上的插入片段要大于 300bp。随机挑选文库阳性克隆测序, 提交序列长度为 300bp, 不确定碱基小于 5%, 测序方向无限制。从协作网已公布的文库内容看(<http://wheat.pw.usda.gov/genome/libraries.htm>), 所选载体多为噬菌粒类载体如 UNI-ZAP、XR-AT riplax2、AZapII 等, 也有用质粒型的如 pYES2、pT-Adv 等。

(2) 实验材料。研究所用材料以小麦(*Triticum aestivum*) 和大麦(*Hordeum vulgare*) 为主, 但品种多样。个别成员选用黑麦(*Secale cereale*) 和燕麦(*A. Sativa*)。取材组织选择广泛, 包括小花、叶片、胚乳、根、茎、小穗、花序、果皮与种皮、表皮细胞等, 但以叶、根与胚乳为多。材料的培养条件依研究内容而不尽相同, 包括正常发育、病原菌诱导、低温胁迫、干旱胁迫、铝胁迫、脱水处理、避光培养等。

(3) 研究方向。虽然 ITEC 成员的研究论文还未发表, 但通过对文库构建、取材时期与部位、材料的处理等内容可以看出, 种子发育过程中的基因表达包括从小花、花穗、幼穗、胚乳、种皮等; 抗逆胁迫包括低温、干旱等基因表达是当前研究的主流。此外, 有两个实验室研究抗病相关基因的表达, 包括笔者所在实验室。

3. 研究进展与评价 至今年 7 月 ITEC 第一阶段截止日期之前, 已有 26 个研究机构向 ITEC 数据库提交了数据, 总数不到 3 万条。笔者所在实验室提交 EST 序列 1052 条, 按时完成协议要求。这些序列除在 ITEC 数据库保存, 并准备提供网上查询及同源性比较服务之外, 现已转交给 GeneBank 对公众开放。

麦类 EST 计划第一阶段的工作于今年 7 月已经结束, 并且作为促进国际麦类基因组研究, 建立麦类专门的 EST 数据库的目标也已达到。但计划执行过程中也反映了一些问题, 如组织松散、缺乏及时信息与技术交流等。相信随着计划的进一步开展, 这些问题会得以解决与改善。我国开展植物基因组 EST 研究的时间不长, 参加国际麦类 EST 计划, 目的在于了解世界麦类基因组研究的动态, 缩短与世界的差距, 并探索适合我们的研究方向。虽然我们已按时给 ITEC 数据库提交了一定数量的 EST, 但与其它先进国家相比差距很大, 这主要体现在缺乏数据自动化分析与重要基因的发掘方法。为了解决工作中的问题, 我们先后 3 次邀请国际 EST 项目与生物信息学专家来华指导, 这给我们帮助很大。目前, 我们正借鉴国际植物 EST 研究分析方法, 着手建立我们自己的序列质量分析与生物信息学自动化分析平台。

骆蒙, 贾继增

(中国农业科学院品种资源研究所 农业部作物种质资源与生物技术重点实验室, 北京 100081)