

## 特约综述 Invited Review

## 知识共享——《Rice Protocol eBook》助力水稻生物学研究

袁猛<sup>1,\*</sup>, 刘铮<sup>2</sup>, 王伟红<sup>2</sup>, 熊立仲<sup>1</sup>, 张启发<sup>1</sup><sup>1</sup>华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 武汉430070<sup>2</sup>Bio-protocol中国, 北京100085

**摘要:** 水稻是最主要的粮食作物和重要的模式研究植物, 对其研究不仅直接关系国计民生的基本问题, 还间接影响到植物科学技术的发展, 而对水稻生物学研究依赖于优质可靠的实验方法技术。本文综述并推介华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室水稻团队与《Bio-protocol》期刊合作发布的实验方法电子书籍《Rice Protocol eBook》, 希望能为水稻生物学和相关科学研究提供参考。

**关键词:** 水稻; Rice Protocol eBook; 实验方法

水稻是最主要的粮食作物, 事关国计民生重大问题, 其安全生产直接关系到农业的可持续发展和社会稳定。同时由于水稻基因组小, 与小麦、玉米等主要农作物在基因组上存在共线性, 水稻亦成为重要模式研究植物, 其生物学研究成为植物学的前沿和热点。而对水稻生物学研究依赖于详实、优质、可靠的实验方法和技术, 本文综述并推介华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室水稻团队与《Bio-protocol》期刊合作发布的实验方法电子书籍《Rice Protocol eBook》(Yuan等2018), 为水稻研究工作者和其他相关研究工作者提供实验方法和技术参考。

## 1 我国水稻生物学研究

我国稻作农业历史源远流长, 在今湖南澧县发现6 500年前的稻田遗迹, 包括田埂和人工灌溉系统。宋代长江流域已有精耕细作的稻作技术体系, 包括育秧移栽为核心的播种技术体系和完善的田间管理体系。新中国成立以来, 我国水稻科学研究在矮秆育种、“三系/两系”杂交稻、绿色超级稻、基因组及功能基因组等方面取得了举世瞩目的成就(Wing等2018)。

在水稻育种应用研究上, 我国各育种单位不断培育出高产新品种, 满足我国人民以大米作为主粮的需求, 解决了我国人民的吃饱问题。在水稻生物学基础研究上, 1997年, 我国作为主要发起和参与国参加了国际水稻基因组测序计划。1999年起, 我国科技部开始了连续四个五年计划对水

稻功能基因组研究的重点支持。我国水稻研究工作者在水稻重要科学问题基础研究和水稻育种应用研究上均取得了革命性成果。截止到2018年9月共有3 100个水稻基因的相关研究工作公开发表, 这些研究工作由来自全世界超过1 800个科研单位参与完成, 其中超过一半基因的相关研究工作由我国科研单位主导或参与完成(Yao等2018)。2018年4月国际著名期刊《Nature》首现汉字, 用“粳”和“粳”为水稻亚种正名(Wang等2018), 多方面反映了我国在国际水稻生物学研究上的重要地位。

华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室水稻团队专注水稻科学研究三十余年, 以水稻的基因组研究与遗传改良和绿色超级稻生物学为总体目标, 建立起一个较为完整的多学科结合的水稻科学研究体系。团队紧紧围绕解析水稻功能基因组和培育绿色超级稻两大科学目标, 在以下几个方面取得了重大进展和贡献: (1)建立了完善的水稻功能基因组研究的技术平台, 包括全世界第二大库容的T-DNA插入突变体库、基因芯片和全基因组表达谱、全长cDNA文库、全基因组选择育种芯片、全生育期高通量表型组平台、代谢组学平台、生物信息技术和相关数据库; (2)整合基因组、代谢组、表观组和表型组研究, 在种质资源的鉴定和新基因的发掘, 控制产量、品质、抗病、抗旱、开花、育性(广亲和、光敏不育)等重

收稿 2018-10-14 修定 2018-11-09

资助 国家自然科学基金(31821005)。

\* 通讯作者(myuan@mail.hzau.edu.cn)。

要农艺性状的基因的分离克隆和机制解析、杂种优势的遗传和分子基础等研究领域,取得了一系列重要的成果;(3)创建了丰富多样的种质资源,建立了分子标记辅助选择、转基因技术规模化应用的分子技术体系;(4)针对我国水稻生产实际,提出了培育“绿色超级稻”的构想。围绕培育“少打农药,少施化肥,节水抗旱,优质高产”的“绿色超级稻”育种目标,将基因组研究、遗传资源、分子标记技术和常规育种紧密结合,牵头组织全国多家水稻育种单位培育出一大批具有“绿色超级稻”性状的新材料和新品种(肖景华等2015)。

## 2 水稻生物学研究实验方法和技术

我国水稻科学研究工作者队伍不断壮大,科研团队之间的交流和沟通对于高效推进科研的进展和提高科学研究的重复性具有关键意义,其中成熟实验方法和技术的交流是科学研究中最为基础也是最为重要的部分。科学工作者发表自己整理总结的、成熟的实验方法将打破时间与空间的限制,促进一线科研人员之间的交流和互动,有效提高科学研究的效率,推动科技发展。

华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室水稻团队一方面为了传承团队30年积累并优化的优质实验方法和技术,另一方面为了能够为其他单位从事水稻或者其他植物乃至生物学研究等相关科研工作者提供实验方法和技术参考,水稻团队七十余名教师和研究生按照科学性、可重复性、简单易学的原则,精心总结并高度凝炼整理了80余个详实、优质的实验方法和技术,与《Bio-protocol》期刊中国编辑部合作,集结成一部电子书籍《Rice Protocol eBook》,并在线公开于Bio-protocol旗下的Bio-101平台([https://bio-protocol.org/bio101/Special\\_Issue.aspx?siid=16](https://bio-protocol.org/bio101/Special_Issue.aspx?siid=16))。目前发布的第一版《Rice Protocol eBook》按照实验方法 and 应用,分为DNA检测和分析、RNA检测和分析、蛋白质检测和分析、大分子互作分析、小分子分析、生理学检测和分析、组织细胞学分析、遗传转化与田间试验共8个章节,包含82个详尽的实验方法和技术,这些实验方法和技术覆盖水稻研究从实验室内的最基本生物学实验到实验室外大田种植全流程(图1)。每个实验方法包含简明的实验原理和实验目的,详尽的试剂和仪器设备,详细

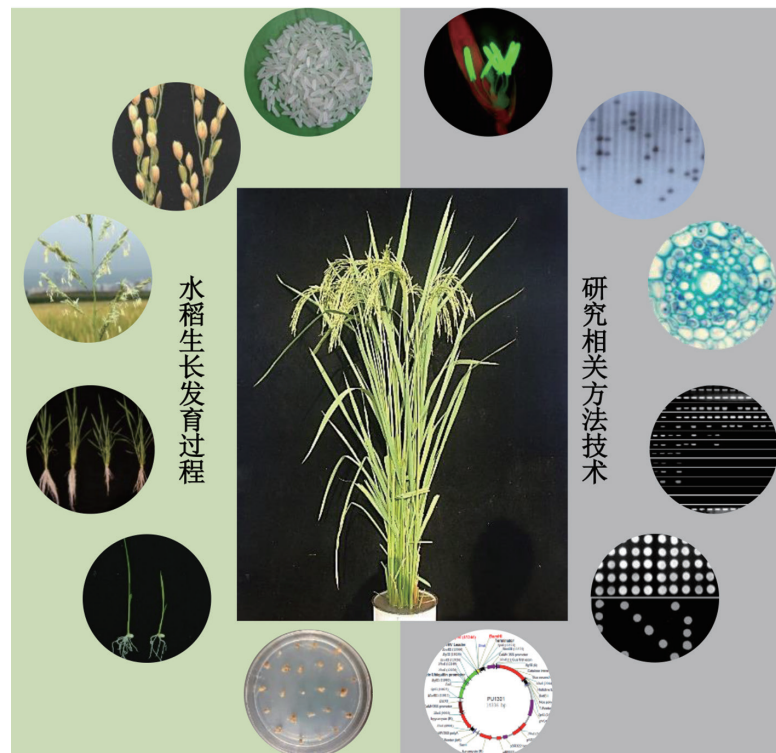


图1 水稻生长发育过程和研究相关方法技术

Fig.1 Model of rice growth and development and related protocols

的操作步骤, 部分实验方法配备操作视频, 用户不仅可以利用电脑或手机客户端在线或下载浏览, 亦可以分享至微信、微博等新媒体供他人参考, 还可以就相关方法或技术问题在线提问或者在线与实验方法技术撰稿人互动。详细实验方法技术见表1。

表1 《Rice Protocol eBook》实验方法技术目录

Table 1 List of *Rice Protocol eBook*

章节	实验方法技术名称
DNA检测和分析	RMD水稻突变体信息及基因型鉴定
	DNA甲基化检测
	2 mL离心管法快速制备水稻高质量总DNA
	基于酶切方法的SNP基因分型
	水稻叶片高质量DNA抽提
	水稻常用分子标记(SSR InDel SNP)检测
	水稻DNA小样检测
	Southern印记杂交
	水稻插入突变体侧翼序列的分离
	水稻种子高质量DNA抽提
RNA检测和分析	利用荧光实时定量PCR技术进行表达谱分析
	RNA原位杂交
	stem-loop RT real-time PCR
	水稻胚乳(种子) RNA的抽提
	mRNA反转录
	水稻组织总RNA抽提
	small RNA分离及PAGE-northern
	Northern Blot
	水稻组织mRNA分离
	Western Blot
蛋白质检测和分析	蛋白质磷酸化活性分析
	外源蛋白在烟草叶片瞬时表达
	水稻叶片细胞膜蛋白分离
	蛋白质双向电泳
	细胞核蛋白分离方法
	水稻原生质体的分离及转化
	水稻组蛋白抽提
	水稻总蛋白抽提
	水稻细胞中蛋白质的免疫金标亚细胞定位
	GE ÄKTA™ avant 25蛋白液相色谱系统纯化蛋白
大分子互作分析	水稻叶片叶绿体蛋白分离及检测
	烟草体系BiFC
	水稻染色质免疫共沉淀
	凝胶阻滞(EMSA)
	荧光素酶活恢复法检测体内蛋白质互作
小分子分析	免疫染色
	水稻IAA、JA、ABA、SA定量检测分析
	水稻叶片中黄酮类代谢产物的检测和鉴定
	水稻组织ACC含量检测
	水稻叶表皮蜡质分离和检测
	水稻叶绿素含量的测定
	水稻叶片Na <sup>+</sup> 、K <sup>+</sup> 含量测定(火焰光度法)
	水稻类胡萝卜素含量的抽提与测定
	水稻叶片中丙二醛(MDA)含量的测定
	水稻组织脯氨酸含量的测定

表1 (续)

章节	实验方法技术名称
生理学检测和分析	水稻细胞凋亡定量检测Comet assay
	水稻品质性状测定
	水稻种子总淀粉含量的测定
	水稻种子氨基酸含量的测定
	活性氧检测
	生长素极性运输速率检测方法
	水稻超氧化物歧化酶(SOD)活性测定
	水稻种子蛋白质含量的测定
	细胞死亡定性检测
	稻米的粗脂肪含量测定
	糊化温度的测定(碱消法)
	光合测定系统CIRAS-II操作
	高等植物PSII最大光化学量子产量的测定
	植物组织水势的测定
	水稻离体叶片失水速率测定
	水稻叶片相对含水量测定
	组织细胞学分析
碘-碘化钾染色法鉴定水稻花粉育性	
水稻组织半薄切片法	
显微镜压片技术(临时制片)	
水稻组织石蜡切片	
小孢子减数分裂时期染色体压片观察	
水稻细胞超微结构的透射电镜观察	
水稻细胞表面和截面的扫描电镜观察	
流式细胞技术检测细胞核倍性	
水稻重要发育时期表型观察	
遗传转化与田间试验	组培水稻种子发芽
	水稻白叶枯病菌及细菌性条斑病菌培养及接种
	农杆菌介导水稻快速转化
	水稻种子贮存
	水稻田间种植与杂交
	水稻转基因材料培育的一般步骤
	农杆菌介导的粳稻遗传转化
	农杆菌介导的籼稻遗传转化
	水稻非生物逆境苗期表型鉴定

### 3 《Rice Protocol eBook》未来展望

《Rice Protocol eBook》各个实验方法撰稿人和Bio-101团队后期将会根据用户反馈信息不断优化并更新相关实验方法和技术,力求使这些水稻科学研究实验方法和技术更具规范化和科学性。同时《Bio-protocol》期刊将继续与国内其他优秀水稻研究团队深度合作,收录更多优质实验方法和技术方案,不断优化、发展并丰满《Rice Protocol eBook》,后续将会公开续辑,使之更加全面、深入。《Bio-protocol》期刊中国编辑部正策划出

版《Rice Protocol eBook》第一版的纸质书籍,将免费提供给我国从事水稻生物学研究和其他相关研究的研究单位和实验室,在知识共享新时代助力我国水稻科学和其他相关科学研究的发展。

华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室水稻团队与《Bio-protocol》期刊中国编辑部合作,以第一版《Rice Protocol eBook》电子版免费公开和纸质版免费赠送为契机,倡导国内优秀科研团队和科研工作者将积累沉淀的成熟实验方法和技术与国内同行分享,引导国内科学界形成在发表科研成果的同时,将高质量实验方法和技术分享

给同行的良好科研风气, 以提高我国水稻科研乃至其他相关科研生产力, 并不断提高我国科研的国际影响力。

#### 参考文献(References)

- Wang W, Mauleon R, Hu Z, et al (2018). Genome variation in 3010 diverse accessions of Asian cultivated rice. *Nature*, 557 (7703): 43–49
- Wing RA, Purugganan MD, Zhang Q (2018). The rice genome revolution: from an ancient grain to Green Super Rice. *Nat Rev Genet*, doi: 10.1038/s41576-018-0024-z
- Xiao J, Wu C, Yuan M, et al (2015). The progress and perspective of rice functional genomics research in China. *Chin Sci Bull*, 60 (18): 1711–1722 (in Chinese with English abstract) [肖景华, 吴昌银, 袁猛等(2015). 中国水稻功能基因组研究进展与展望. *科学通报*, 60 (18): 1711–1722]
- Yao W, Li G, Yu Y, et al (2018). funRiceGenes dataset for comprehensive understanding and application of rice functional genes. *Gigascience*, 7 (1): 1–9
- Yuan M, Du H, Li XH (2018). *Rice Protocol eBook*. 1st Edition. Beijing: Bio-protocol LLC. ISSN: 2331–8325. [https://bio-protocol.org/bio101/Special\\_Issue.aspx?siid=16](https://bio-protocol.org/bio101/Special_Issue.aspx?siid=16)

## *Rice Protocol eBook* facilitates rice research

YUAN Meng<sup>1,\*</sup>, LIU Zheng<sup>2</sup>, WANG Wei-Hong<sup>2</sup>, XIONG Li-Zhong<sup>1</sup>, ZHANG Qi-Fa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

<sup>2</sup>Bio-protocol, Beijing 100085, China

**Abstract:** Rice is one of the most important crops and a fundamental model for plant research. Research on rice is not only related to basic problems of countries, but also affected the development of plant science. While the research on rice relies on high quality and reliable protocols. This paper reviews and introduces the *Rice Protocol eBook*, published by the rice research group of the National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement at Huazhong Agricultural University, in collaboration with *Bio-protocol* Journal, with the purpose that providing a reference for rice research.

**Key words:** rice; *Rice Protocol eBook*; protocol

Received 2018-10-14 Accepted 2018-11-09

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31821005).

\*Corresponding author (myuan@mail.hzau.edu.cn).