

张海波,肖长文,刘冰,等.玉米转基因成分筛查方法比较[J].黑龙江农业科学,2020(9):78-84.

玉米转基因成分筛查方法比较

张海波^{1,2},肖长文³,刘冰^{1,2},张田^{1,2},张英^{1,2}

(1. 陕西省种子工作总站,陕西 西安 710018;2. 农业农村部农作物种子质量监督检验测试中心(西安),陕西 西安 710018;3. 黑龙江省种业技术服务中心,黑龙江 哈尔滨 150008)

摘要:玉米转基因成分的筛查可联合利用 *CaMV35S* 启动子(P-35S)和 NOS 终止子(T-NOS)两个元件的组合,但 P-35S、T-NOS 有多组可供选择的检测方法。本文通过检测标准查询、序列比对、特异性试验和灵敏度试验验证等方式,比较了检测标准中 P-35S、T-NOS 三组检测方法。结果表明:3 组标准检测方法对转基因玉米的筛查表现出较强的特异性,检测灵敏度均可达到 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。3 组筛查方法可对玉米中的转基因成分进行快速、准确的筛查。

关键词:转基因检测;标准方法;*CaMV35S* 启动子;灵敏度

玉米是中国重要的粮食作物和经济作物。2018 年全国玉米产量 25 717.39 万 t,是我国产量最高的粮食作物^[1]。中国的玉米产量仅次于美国,为满足国内消费,中国每年仍需进口大量玉米^[2],其中大部分是转基因玉米。截至目前,获准作为加工原料进口到中国的转基因玉米转化体,有耐除草剂玉米 T25、NK603、GA21、40278、MON87427,抗虫玉米 Bt176、MON89034、MIR604、MON810、MIR162、TC1507、Bt11、5307、59122,抗虫耐除草剂玉米 Bt11 × GA21、MON88017、4114,品种改良玉米 Event 3272 和耐旱玉米 MON87460^[3-4],转基因技术的应用已成为国内外玉米育种的重要手段^[5]。

针对转基因作物及其衍生产品可能带来的潜在风险,美国、欧盟、澳大利亚、日本等国家将转基因作物以及产品实施强制或自愿的标识管理^[6],例如欧盟标识阈值为 0.9%,日本为 5%^[7]。中国 2017 年修订的《农业转基因生物安全管理条例》第八条规定,国家对农业转基因生物实行标识制度。《农业转基因生物标识管理办法》规定了农业转基因生物标识目录,目前包括 5 类 17 种转基因产品,与玉米有关的有玉米种子、玉米油、玉米、玉米粉等。总之,在中国销售的列入管理标识目录中的含有转基因成分的农产品或食品,都需要明显的标识^[8]。中国对转基因作物及产品的标识没

有设定阈值。

以 PCR 扩增为核心技术的筛查检测法,是最快速和可靠的转基因成分检测方法^[9]。根据玉米转化体分子特征和转基因成分筛查的原则,联合使用 P-35S(*CaMV35S* 启动子)和 T-NOS(NOS 终止子)检测,覆盖了主要的 29 个玉米转化体^[10-11]。P-35S 和 T-NOS 的检测方法以标准方法为主。目前,中国的检测方法标准体系有国家标准、商检行业标准和农业部公告标准等,这 3 个标准体系中都包含了 P-35S 和 T-NOS 的检测方法。检测人员在进行玉米中转基因成分检测时,首先面临的问题就是检测方法的选择,选择不同的方法可能会对检测结果造成不同影响。目前鲜有关于 P-35S 和 T-NOS 检测方法比较的报道。

本文对检测标准中 P-35S、T-NOS 常用的 3 组检测方法进行了序列比对、特异性和灵敏度比较,以期对玉米转基因成分快速准确筛查检测提供依据。

1 材料与与方法

1.1 材料

供试玉米种子郑单 958 由农业农村部农作物种子质量监督检验测试中心(西安)收藏,转基因玉米转化体 TC1507、Bt176、MON863、Bt11、MON810、NK603、MIR604、GA21、Event 98140、Event 3272 和 59122 的粉末有证标准物质,由欧洲参考物质与测量研究所(IRMM)研制,并从上海安谱公司西安分公司购买获得。

PCR 扩增混合液(2 × Premix)、电泳 DNA 分子量标准 DL1000 购自大连宝生物工程公司。引

收稿日期:2020-06-20

基金项目:国家重点研发计划“七大农作物育种”重点专项(2017YFD0102006)。

第一作者:张海波(1982-),男,硕士,农艺师,从事农作物种子质量管理和分子检验工作。E-mail:46974104@qq.com。

物由上海生工生物公司合成。

1.2 农业转基因成分检测标准查询

通过国家标准化管理委员会国家标准全文公开系统 (<http://www.gb688.cn/bzgk/gb/index>)^[12]和农业部农产品质量安全监管局的国家农产品质量安全公共信息平台 (<http://www.moa.gov.cn/gk/zcfg/>)^[13]查询转基因检测相关国家标准和行业标准。

1.3 目标序列的比对

用 Vector 应用程序中的 Alignment 序列比对分析软件,对转基因玉米转化体的 P-35S、T-NOS 序列与选取标准中的引物序列进行比对分析。

1.4 玉米基因组核酸提取

玉米转基因转化体和非转基因对照样品的基因组核酸提取采用植物基因组 DNA 提取试剂盒

方法。核酸的纯度和浓度使用分光光度计 ND2000 进行测定。提取基因组核酸样品的完整性检测,使用 $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂糖凝胶电泳和 EB 染色。核酸样品中是否存在扩增抑制物质,用玉米内标准基因(*zSS II b*)^[14]是否能正常扩增排除。

1.5 定性扩增

P-35S、T-NOS 的定性 PCR 使用标准引物,如农业部 1782 号公告-3-2012《调控元件 CaMV 35S 启动子、FMV 35S 启动子、NOS 启动子、NOS 终止子和 CaMV 35S 终止子定性 PCR 方法》^[15]、SN/T1196-2012《转基因成分检测 玉米检测方法》^[16]和 GB/T 19495.4-2004《转基因产品检测 核酸定性 PCR 检测方法》^[17],表 1 列出了引物的详细信息。定性 PCR 扩增体系配置及反应条件依据标准^[15-17]执行。

表 1 筛查引物序列信息及引用标准

Table 1 Screening primer sequence information and reference standard

目标 Target	引物编号 Primer No.	引物名称及序列 Primer name and sequence 5'→3'	产物 Amplicon/bp	引用标准 Reference
P-35S	P-35S-F1/R1	35S - F1:CCACGTCTTCAAAGCAAGTGG	123	a
		35S - R1:TCCTCTCAAATGAAATGAACTTCC		
	P-35S-F2/R2	35S - F2:CCATCATTGCGATAAAGGAAA	165	b
		35S - R2:TCATCCCTTACGTCAGTGGAG		
	P-35S-F3/R3	35S - F3:CTCCTACAAATGCCATCATTGC	195	a,b,c
		35S - R3:ATAGTGGGATTGTGCGTCATCCC		
T-NOS	T-NOS-F1/R1	NOS - F1:GCATGACGTTATTTATGAGATGGG	118	a
		NOS - R1:GACACCGCGCGGATAATTTATCC		
	T-NOS-F2/R2	NOS - F2:ATCGTTCAAACATTTGGCA	166	b
		NOS - R2:ATTGCGGGACTCTAATCATA		
	T-NOS-F3/R3	NOS - F3:GAATCCTGTTGCCGGTCTTG	180	b,c
		NOS - R3:TTATCCTAGTTTGCGCGCTA		

注:a 表示 GB/T 19495.4-2004,b 表示 SN/T1196-2012,c 表示农业部 1782 号公告-3-2012。

Note:a means GB/T 19495.4-2004,b means SN/T1196-2012,c means Announcement of MOA,No.1782-3-2012.

1.6 特异性分析

验证 3 组 P-35S 和 T-NOS 筛查方法是否适合玉米中转基因成分的筛查检测,使用表 1 列出的引物对 13 个玉米样品进行筛查检测,包括 12 个转基因玉米转化体和 1 个非转基因玉米对照,分别是 MON863、*Bt11*、MON88017、NK603、MON810、MON89034、T25、*Bt176*、59122、TC1507、MIR604、GA21 和郑单 958,其中转基因

玉米 *Bt11*、MON863、NK603、MON88017 和 MON89034 含有 *CaMV35S* 启动子和 NOS 终止子,MON810、*Bt176*、T25、TC1507 和 59122 只含有 *CaMV35S* 启动子,GA21 和 MIR604 只含有 NOS 终止子。

1.7 灵敏度分析

用不同质量比例的转基因玉米 *Bt11* 粉末和非转基因玉米郑单 958 粉末混合,提取基因组

DNA,分别对3组P-35S、T-NOS进行灵敏度分析。转基因和非转基因种子粉末混合比例分别是:全部Bt11粉末[转基因成分含量100%(1 000 g·kg⁻¹)]、90.0 g的郑单958和10.0 g的Bt11混合[转基因成分含量10%(100 g·kg⁻¹)]、99.0 g的郑单958和1.0 g的Bt11混合[转基因成分含量1%(10 g·kg⁻¹)]、99.90 g的郑单958和0.10 g的Bt11混合[转基因成分含量0.1%(1 g·kg⁻¹)]、99.99 g的郑单958和0.01 g的Bt11混合[转基因成分含量0.01%(0.1 g·kg⁻¹)]、郑单958转基因成分含量0%(0 g·kg⁻¹)。

2 结果与分析

2.1 转基因检测标准查询与引物选择

经转基因检测标准数据库查询,与转基因作物相关的标准共计289余项。其中,国家标准包括国家标准化管理委员会发布的标准和以农业农村部公告形式发布的国家标准。经过筛选,共查询到转基因玉米检测相关标准67项,包括国家标准化管理委员会发布的标准3项,农业农村部公告形式发布的国家标准47项,检验检疫相关行业标准17项。

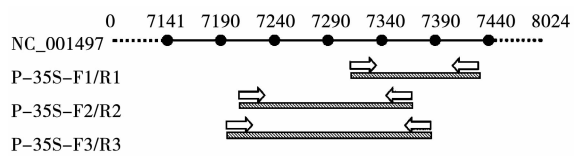
具体分析转基因玉米检测标准内容,发现与P-35S、T-NOS相关的检测标准3项,分别是GB/T 19495.4-2004^[15]、SN/T 1196-2012^[16]和农业部1782号公告-3-2012^[17]。这3项标准中的P-35S、T-NOS引物汇总详见表1。

2.2 序列比对

为了明确标准中各引物对的相对位置,从数据库中P-35S、T-NOS的完整序列中截取部分序列,与引物对分别进行序列比对。其中,P-35S选取花椰菜花叶病毒(Cauliflower mosaic virus, NC_001497, 8 024 bp)从7 141 bp到7 440 bp中的300 bp序列分别与P-35S的引物对进行比对。T-NOS选取常用载体(Binary vector pFH17, KY080690, 11 944 bp)从6 824 bp到7 073 bp中的250 bp序列分别与T-NOS的引物对进行比对。

P-35S比对结果如图1所示,引物对P-35S-F1/R1对应花椰菜花叶病毒全序列(NC_001497)的7 363 bp到7 485 bp;引物对P-35S-F2/R2对应全序列的7 253 bp到7 417 bp;引物对P-35S-F3/R3对应全序列的7 240 bp到7 434 bp。

T-NOS比对结果如图2所示,引物对T-NOS-F1/R1对应载体全序列(KY080690)的7 112 bp到6 995 bp;引物对T-NOS-F2/R2对应全序列的7 043 bp到6 878 bp;引物对T-NOS-F3/R3对应全序列的7 094 bp到6 915 bp。

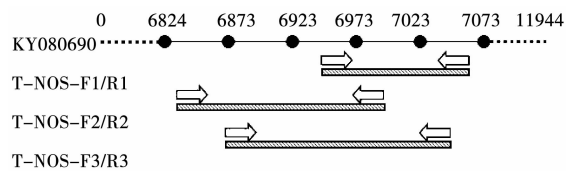


方框:扩增产物;箭头:引物方向

Rectangle: the amplicon; Arrows: direction of each primers

图1 P-35S序列引物相对位置

Fig. 1 Sequences of P-35S and the primers location



方框:扩增产物;箭头:引物方向

Rectangle: the amplicon; Arrows: direction of each primers

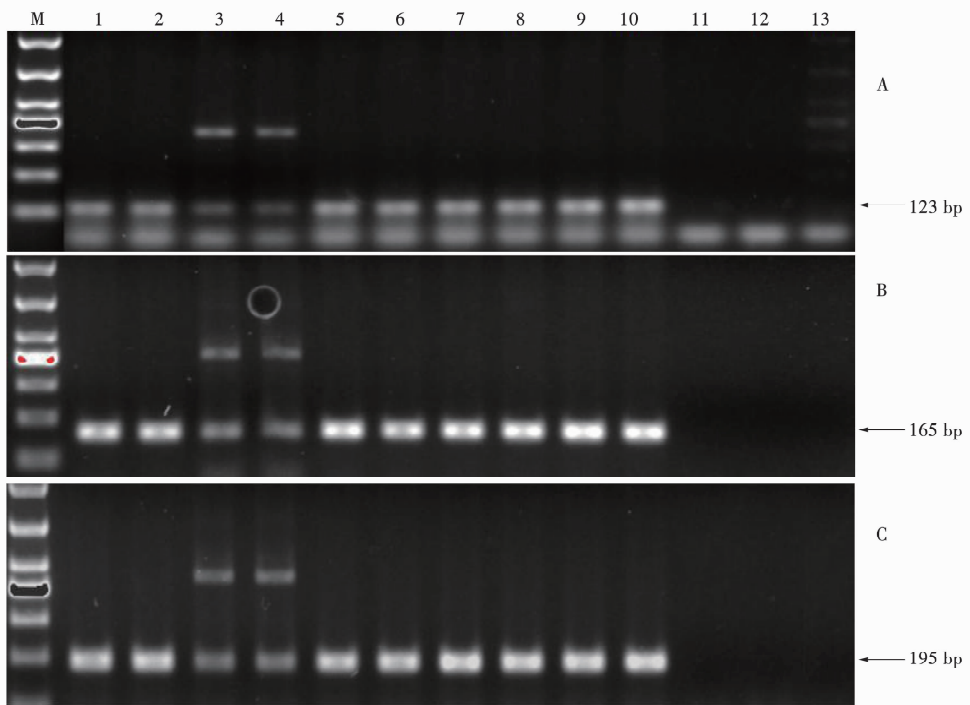
图2 T-NOS序列引物相对位置

Fig. 2 Sequences of T-NOS and the primers location

2.3 特异性比较

特异性PCR扩增检测结果如图3(P-35S检测)和图4(T-NOS检测)所示。在图3中,A图为引物对P-35S-F1/R1检测结果,扩增产物为123 bp;B图为引物对P-35S-F2/R2检测结果,扩增产物为165 bp;C图为P-35S-F3/R3检测结果,扩增产物为195 bp。从结果可以看出,泳道1~10为结果阳性,11~13为结果阴性,与预期结果一致(见1.6)。在P-35S检测中,泳道3和4具有双带的特征,这是因为转化体MON88017和NK603的CaMV 35S启动子是两个CaMV 35S启动子序列叠加而成的加强型启动子,因此会产生双带的电泳结果。产物中双带的长度比特异性条带长261 bp。

在图4中,A图为引物对T-NOS-F1/R1检测结果,扩增产物为118 bp;B图为引物对T-NOS-F2/R2检测结果,扩增产物为166 bp;C图为T-NOS-F3/R3检测结果,扩增产物为180 bp。从结果可以看出,泳道1~5和11~12为阳性,6~10和13为阴性,与预期结果一致(见1.6)。图3和图4的结果表明,标准中的3组P-35S、T-NOS检测引物都具有较好的特异性。

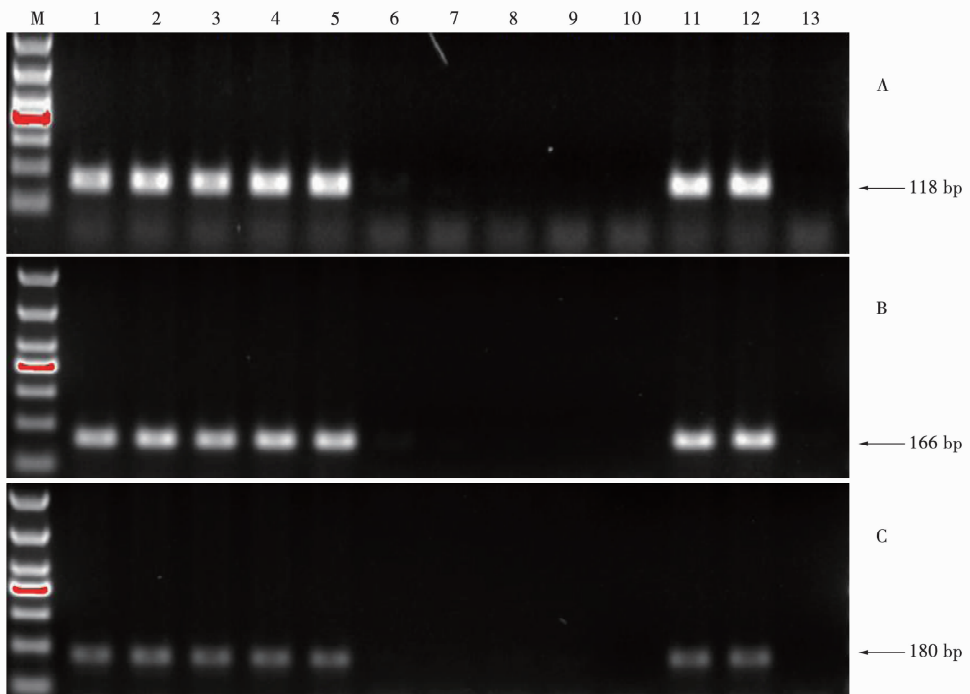


M:分子量标记 DL1000;泳道 1~13 分别是 *MON863*、*Bt11*、*MON88017*、*NK603*、*MON89034*、*Bt176*、*MON810*、*T25*、*59122*、*TC1507*、*MIR604*、*GA21* 和空白对照。

M:DNA Marker DL1000; Lane 1-13: *MON863*、*Bt11*、*MON88017*、*NK603*、*MON89034*、*Bt176*、*MON810*、*T25*、*59122*、*TC1507*、*MIR604*、*GA21* and no DNA control, respectively.

图 3 P-35S-F1/R1(A)、P-35S-F2/R2(B)和 P-35S-F3/R3(C)三组 P-35S 玉米检测引物 PCR 扩增结果

Fig. 3 PCR detection of P-35S primers, P-35S-F1/R1(A), P-35S-F2/R2(B) and P-35S-F3/R3(C)



M为分子量标记 DL1000,泳道 1~13 分别是 *MON863*、*Bt11*、*MON88017*、*NK603*、*MON89034*、*Bt176*、*MON810*、*T25*、*59122*、*TC1507*、*MIR604*、*GA21* 和空白对照。

Lane M: DNA Marker DL1000; Lane 1-13: *MON863*、*Bt11*、*MON88017*、*NK603*、*MON89034*、*Bt176*、*MON810*、*T25*、*59122*、*TC1507*、*MIR604*、*GA21* and no DNA control, respectively.

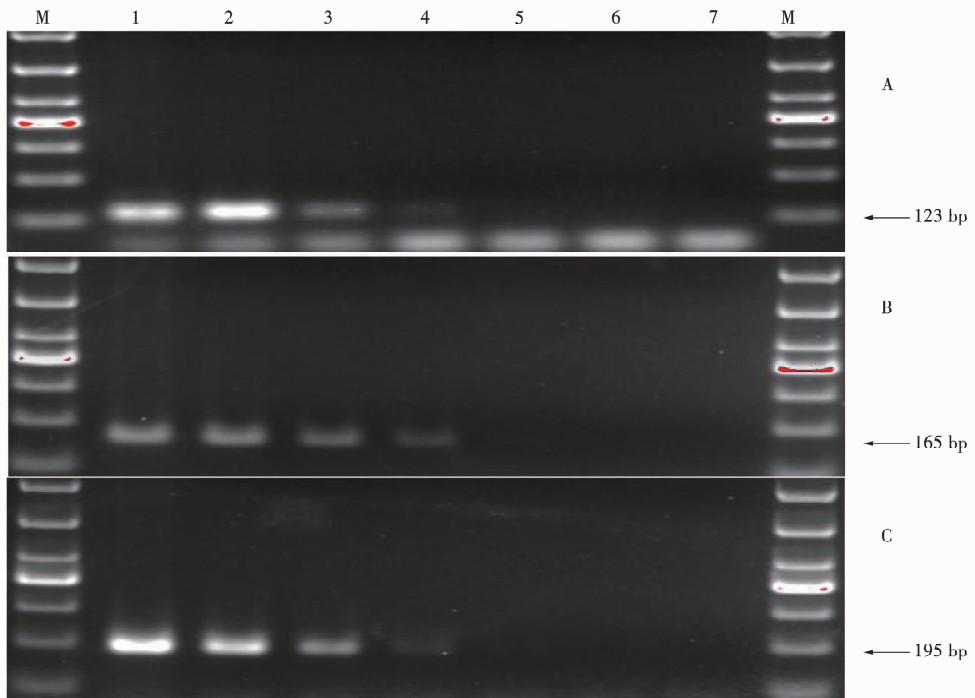
图 4 T-NOS-F1/R1(A)、T-NOS-F2/R1(B)和 T-NOS-F3/R1(C)三组 T-NOS 玉米检测引物 PCR 扩增结果

Fig. 4 PCR detection of T-NOS primers, T-NOS-F1/R1(A), T-NOS-F2/R2(B) and T-NOS-F2/R3(C)

2.4 灵敏度比较

用不同质量比例的 *Bt11* 粉末和郑单 958 粉末混合,提取基因组 DNA,对标准中的引物分别进行灵敏度分析。转基因成分 *Bt11* 的含量分别是 100% ($1\ 000\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、10% ($100\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、1% ($10\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、0.1% ($1\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、0.01% ($0.1\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和 0% ($0\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。PCR 扩增检测结果如图 5(P-35S 检测)和图 6(T-NOS 检测)所示。

在图 5 中,A 图为引物对 P-35S-F1/R1 检测结果,扩增产物为 123 bp;B 图为引物对 P-35S-F2/R2 检测结果,扩增产物为 165 bp;C 图为 P-35S-F3/R3 检测结果扩增产物为 195 bp。从结果可以看出,*Bt11* 玉米转基因成分含量为 0.1% ($1\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 的样品可以看到明显的扩增产物,而 *Bt11* 玉米转基因成分含量为 0.01% ($0.1\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 的混合样品中未扩增出目的条带。



M: 分子量标记 DL1000;泳道 1~7 分别为 *Bt11* 玉米转基因成分含量 100%、10%、1%、0.1%、0.01%、0% 和空白对照。

M: DNA Marker DL1000; Lane 1-7: 100% GM content, 10% GM content, 1% GM content, 0.1% GM content, 0.01% GM content, 0% GM content and no DNA control, respectively.

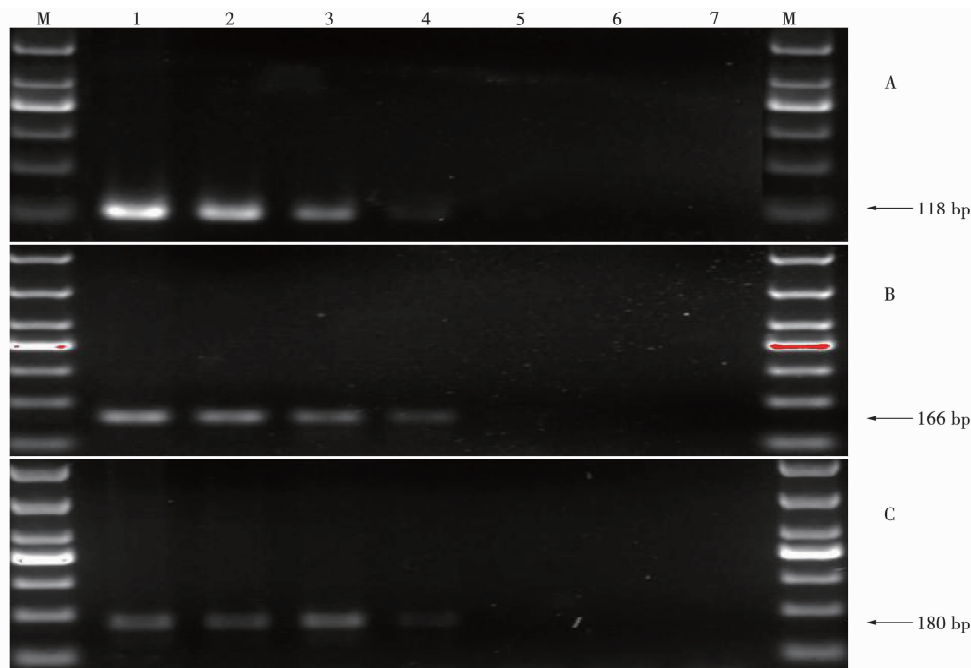
图 5 P-35S-F1/R1(A)、P-35S-F2/R2(B) 和 P-35S-F3/R3(C) 三组 P-35S 检测引物 PCR 扩增的检测灵敏度

Fig. 5 The sensitivity of the P-35S primers, P-35S-F1/R1(A), P-35S-F2/R2(B) and P-35S-F3/R3(C) screening in GM maize detection

在图 6 中,A 图为引物对 T-NOS-F1/R1 检测结果,扩增产物为 118 bp;B 图为引物对 T-NOS-F2/R2 检测结果,扩增产物为 166 bp;C 图为 T-NOS-F3/R3 检测结果扩增产物为 180 bp。从结果可以看出,*Bt11* 玉米转基因成分含量为 0.1% ($1\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 的样品可以看到明显的扩增产物,而 *Bt11* 玉米转基因成分含量为 0.01% ($0.1\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)

的混合样品中未扩增出目的条带。

图 5 和图 6 的结果表明,标准中的三组 P-35S、T-NOS 检测引物灵敏度都可以达到 0.1%。其中 P-35S-F2/R2 和 T-NOS-F2/R2 在 0.1% 转基因含量水平上电泳条带较其它两组引物更为清晰和明显。



M:分子量标记 DL1000;泳道 1~7 分别为 *Bt11* 玉米转基因成分含量 100%、10%、1%、0.1%、0.01%、0% 和空白对照。

M: DNA Marker DL1000; Lane 1-7: 100% GM content, 10% GM content, 1% GM content, 0.1% GM content, 0.01% GM content, 0% GM content and no DNA control, respectively.

图 6 T-NOS-F1/R1(A)、T-NOS-F2/R1(B) 和 T-NOS-F3/R1(C) 三组 T-NOS 检测引物 PCR 扩增的检测灵敏度

Fig. 6 The sensitivity of the T-NOS primers, T-NOS-F1/R1(A), T-NOS-F2/R2(B) and T-NOS-F3/R3(C) screening in GM maize detection

3 结论与讨论

随着基因工程技术和转基因农作物不断应用于农业生产,越来越多的转基因农产品也即将进入消费市场。我国只批准了转基因棉花和番木瓜的商业化种植,而转基因抗虫水稻华恢一号、*Bt* 汕优 63 和转植酸酶玉米也取得了转基因安全证书,但对其使用范围有着严格的规定。严格对种子进行转基因成分检测,有利于从源头规范种子市场和农产品市场秩序,防止转基因材料的非法种植和扩散,对于确保国家粮食安全,保障消费者利益,具有十分重要的意义。随着转基因成分检测标准的不断增多,检验人员对于如何选择检测标准出现了疑惑,本研究对常用检测标准进行了比较,为检验人员在选择检测方法时提供更多的信息。

玉米目前是转基因作物研究和应用的重点作物,拥有最多的商业化转基因转化体,这也增加了玉米种子转基因成分筛查检测的难度。本研究查

询和收集了网络数据库,对转基因检测标准进行了分析整理,选取 3 组常用检测标准,并对标准中的引物序列进行了比对。通过试验验证的方法,使用 12 个转基因玉米转化体对三组筛查方法的特异性以及灵敏度做了比较分析。结果表明,三组筛查检测方法都能够特异性地对玉米种子的转基因成分进行检测,检测灵敏度为 0.1% ($1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),与文献报道的检测方法的灵敏度相近^[18-19]。本研究能够为检验人员选择快速可靠的玉米种子转基因成分检测方法提供实践依据。

参考文献:

- [1] 中国国家统计局. 关于 2018 年粮食产量的统计数据[DB/OL]. [2019-10-20]. <http://www.stats.gov.cn>.
- [2] JCI 大数据中心. 玉米进口量统计[DB/OL]. [2019-10-20]. <http://datajci.com>.
- [3] 转基因权威关注. 转基因审批信息[DB/OL]. [2019-10-20]. <http://www.moa.gov.cn/ztzl/zjyqwgz/spxx>.
- [4] 上海交通大学转基因实验室. 转基因检测方法数据库[DB/OL]. [2019-10-20]. <http://gmdd.sjtu.edu.cn>.

- [5] 黎裕,王天宇.玉米转基因技术研发与应用现状及展望[J].玉米科学,2018,26(2):1-15,22.
- [6] 邢珍娟,董立明,刘娜,等.应用直接PCR技术快速筛查转基因玉米方法研究[J].玉米科学,2017,25(1):29-33.
- [7] Querci M, van den Bulcke M, Zel J. New approaches in GMO detection. *Analytical Biochemistry*, 2010, 396 (6): 1991-2002.
- [8] 朱鹏宇,商颖,许文涛,等.转基因作物检测和监测技术发展概况[J].农业生物技术学报,2013,21(12):1488-1497.
- [9] 王颖,任志莹,陈芳芳.应用普通PCR与实时荧光标记PCR技术检测玉米子粒中转基因成分的比较[J].玉米科学,2016,24(5):43-48.
- [10] 张海波,张英,刘冰,等.玉米中转基因成分筛查策略[J].西北农业学报,2015,24(12):57-63.
- [11] 张海波,刘冰,杨娟妮,等.利用实时荧光PCR快速筛查玉米中转基因成分[J].西北农业学报,2017,26(6):840-848.
- [12] 标准化管理委员会.国家标准全文公开系统[DB/OL].[2019-10-20].<http://www.gb688.cn>.
- [13] 农产品质量安全监管局.农产品质量安全公共信息平台[DB/OL].[2019-10-20].<http://www.moa.gov.cn>.
- [14] 农业部1861号公告-3-2012.转基因植物及其产品成分检测-玉米内标准基因定性PCR方法[S].北京:中国农业出版社,2012.
- [15] 农业部1782号公告-3-2012,转基因植物及其产品成分检测-调控元件CaMV35S启动子、FMV35S启动子、NOS启动子、NOS终止子和CaMV35S终止子定性PCR方法[S].北京:中国农业出版社,2012.
- [16] SN/T1196-2012.转基因成分检测-玉米检测方法[S].北京:国家质量监督检验检疫总局,2012.
- [17] GB/T 19495.4-2004.转基因产品检测-核酸定性PCR检测方法[S].北京:国家质量监督检验检疫总局,2004.
- [18] 吴明生,云晓敏,宋歌,等.转基因玉米种子快速筛查方法研究与应用[J].生物技术通报,2013(1):102-106.
- [19] Wu Y H, Wang Y L, Li J, et al. Development of a general method for detection and quantification of the P35S promoter based on assessment of existing methods[J]. *Scientific Reports*, 2014, 8(4): 7358.

Comparison of Screening Methods for Genetically Modified Maize

ZHANG Hai-bo^{1,2}, XIAO Chang-wen³, LIU Bing^{1,2}, ZHANG Tian^{1,2}, ZHANG Ying^{1,2}

(1. Shaanxi Seed Administration Bureau, Xi'an 710018, China; 2. The Crop Seed Quality Testing Center, MOA, Xi'an 710018, China; 3. Heilongjiang Seed Technology Service Center, Harbin 150008, China)

Abstract: Combination of *CaMV35S* promoter (P-35S) and *NOS* terminator (T-NOS) were used to screen the commercial Genetically Modified (GM) maize events. However, there were several methods refer to P-35S and T-NOS. In order to comparison different methods for GM maize, three groups of P-35S and T-NOS screening methods selected from standards were compared by standard query, sequence alignment, specificity and sensitivity test. The results showed that the three groups of P-35S and T-NOS screening methods were all specific for GM maize screening, and the sensitivity of the methods was of $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$. In conclusion, all three groups of P-35S and T-NOS screening methods are suitable for GM maize detection with high sensitivity and specificity.

Keywords: genetically modified detection; standard methods; *CaMV35S* promoter; sensitivity

致 读 者

为适应我国信息化建设,扩大大刊及作者知识信息交流渠道,本刊现被《中国学术期刊网
络出版总库》及CNKI等系列数据库收录,其作者文章著作权使用费与本刊稿酬一次性给付。
如作者不同意文章被收录,请在来稿时声明,本刊将做适当处理。

《黑龙江农业科学》编辑部