

高粱导入外源 DNA 后代的过氧化物酶 及酯酶同工酶酶谱分析

王黎明 阴秀卿

(黑龙江省农科院作物育种所)

摘要 本文对利用花粉管通道法将外源 DNA 导入高粱的后代进行了过氧化物酶及酯酶同工酶酶谱分析。由分析结果看出,所有导入后代均出现了不同于受体的谱带,并且不同程度地出现了杂种酶带、酶带缺失、酶活性增强及酶活性减弱等现象,表明外源 DNA 片段已整合到受体基因组中,并得到表达。

关键词 高粱 外源 DNA 同工酶 酶谱

中图分类号 S514.01

利用开花植物受粉后形成的花粉管通道,直接导入外源 DNA,来转化尚不具备正常细胞壁的卵、合子或早期胚胎细胞,实现某些目的基因转移的技术,自七十年代由我国学者周光宇先生提出后,相继在多种作物上进行了实验研究。将此技术应用于高粱后,获得了性状变异明显的后代。由于酶是基因和性状的联接物,同工酶可做为基因表达的一种良好标志,被广泛应用于遗传学和育种学研究中。因此利用同工酶技术分析部分变异后代的过氧化物酶及酯酶同工酶酶谱,以进一步分析和验证变异后代。

1 材料和方法

1.1 试验材料

受体:黑龙 30B、2512;供体:IS3547; IS3547 导入黑龙 30B 后 D_2 代的 D_2-1 、 D_2-5 、 D_2-16 、 D_2-19 、 D_2-24 、 D_2-38 及 IS3547 导入 2512 后 D_2 代的 $D_2'-10$ 、 $D_2'-13$ 、 $D_2'-17$ 、 $D_2'-4$ 、 $D_2'-8$ 、 $D_2'-25$ 。

1.2 样品的提取与制备

将供试种子洗净、发芽,待芽长至 2 厘米左右时将芽剪下,称取 1 克芽,加入 4 毫升样品提取液,在冰浴下研磨成浆,用八层纱布过滤,滤液以 4000 转/分的速度离心 10 分钟,取上清液,置冰箱中备用。

1.3 电泳及染色

采用薄层垂直板聚丙烯酰胺凝胶法。浓缩胶浓度为 2.8%,分离胶浓度为 7.5%。每板 19 个穴,每穴点样 60 微升。在 4℃ 冰箱中进行电泳。电极缓冲液为 Tris—甘氨酸,每个样品电流强度为 2 毫安,电泳时间为 3~4 小时。电泳结束后取下胶板,水洗,放入配好的染色液中(醋酸联苯胺),轻摇 10 分钟后酶谱呈棕褐色。

2 结果与讨论

2.1 IS3547 导入黑龙 30B 后代的过氧化物酶同工酶酶谱分析(见图 1)

从酶谱中看出,受体所具有的迁移率为 0.073 的酶带除 D_2-38 与之相同外,其它五个后

代均出现了缺失此酶带现象,而表现出与供体相同;供体迁移率为 0.280 的酶带除 D_2-1 外,分别出现在其它五个后代中;后代 D_2-1 还表现出缺失受体具有的迁移率为 0.303 和 0.322 的两条酶带; D_2-19 缺失受体所具有的迁移率为 0.404 的酶带,而表现与供体相同。此外, D_2-19 缺失供体与受体都具备的迁移率为 0.489 和 0.526 的两条酶带。

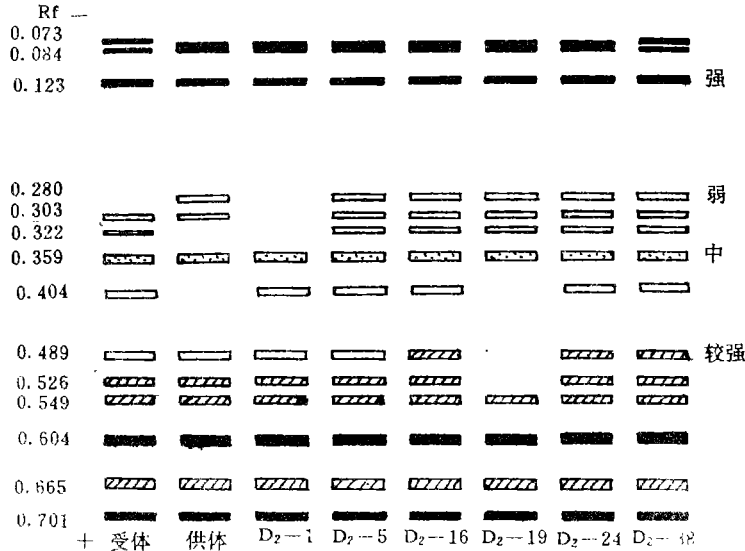


图 1 IS3547 导入黑龙 30B 后代的过氧化物酶同工酶谱示意图

2.2 IS3547 导入 2512 后代的过氧化物酶同工酶谱分析(见图 2)

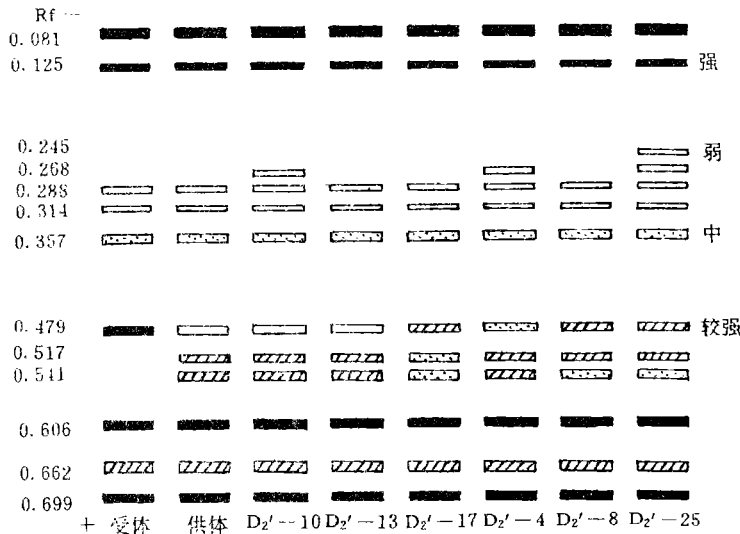


图 2 IS3547 导入 2512 后代的过氧化物酶同工酶谱示意图

由酶谱中看出: $D_2'-10$ 、 $D_2'-4$ 、 $D_2'-25$ 分别出现了供体、受体都没有的迁移率为 0.245 的杂种酶带;在所有导入后代中都出现了受体没有、而供体所具有的迁移率为 0.517 和 0.541 的两条酶带;受体酶活性很强,而供体酶活性弱的迁移率为 0.479 的酶带,在后代中出现了不

同程度的酶活性降低。

2.3 IS3547 导入黑龙 30B 后代的酯酶同工酶谱分析(见图 3)

由酯酶同工酶谱中看出: D_2-16 中迁移率为 0.639 的酶带与受体酶带相比,颜色变浅;供体迁移率为 0.692 的酶带在 D_2-16 、 D_2-19 、 D_2-24 、 D_2-38 中出现,且表现出酶带加深现象;迁移率为 0.766 的六个后代酶带均比受体酶带颜色略深;后代 D_2-1 中迁移率为 0.801 的酶带比受体酶带加深,而表现出与供体相同; D_2-5 中缺失供体与受体都具备的迁移率为 0.801 的酶带。

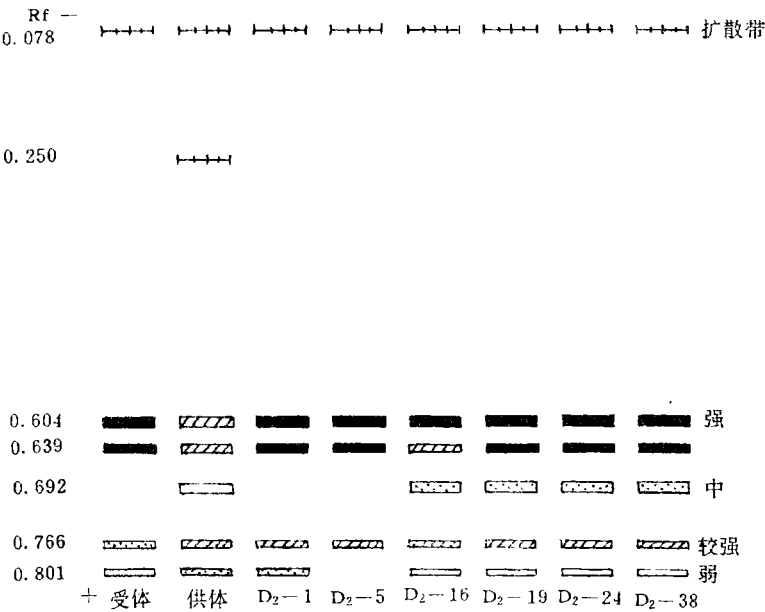


图 3 IS3547 导入黑龙 30B 后代的酯酶同工酶谱示意图

2.4 IS3547 导入 2512 后代的酯酶同工酶谱分析(见图 4)

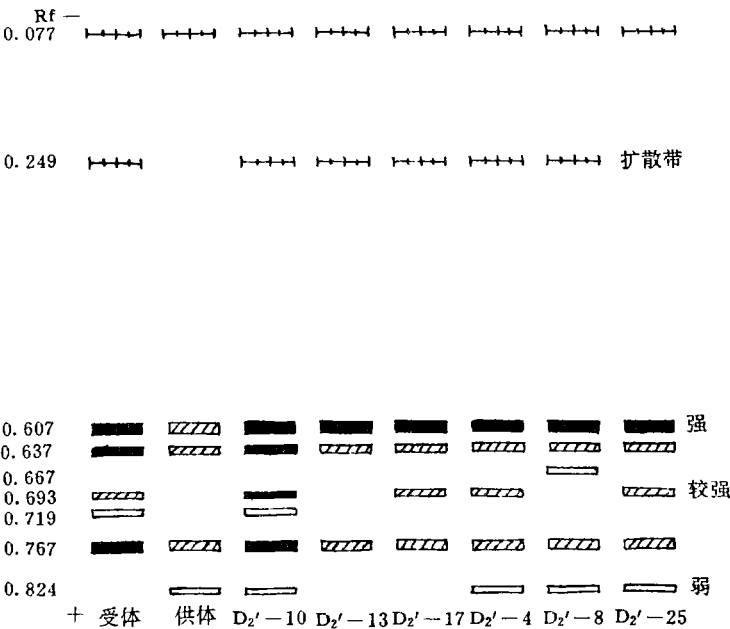


图 4 IS3547 导入 2512 后代的酯酶同工酶谱示意图

由酯酶同工酶酶谱中看出: $D_2'-8$ 中出现了供体与受体都不具有的迁移率为 0.667 的杂种酶带;受体酶活性很强的迁移率为 0.637、0.767 的两条酶带在后代中除 $D_2'-10$ 外,其它 5 个后代的酶活性都有所减弱,而表现出与供体相同;受体迁移率为 0.693 的酶带在后代 $D_2'-10$ 中酶活性增强,在后代 $D_2'-13$ 、 $D_2'-8$ 中缺失;受体迁移率为 0.719 的酶带除 $D_2'-10$ 外,其它后代均缺失此酶带;供体迁移率为 0.824 的酶带分别出现在 $D_2'-10$ 、 $D_2'-4$ 、 $D_2'-8$ 、 $D_2'-25$ 中。

由以上结果看出:利用花粉管通道法将外源 DNA 导入高粱后,其后代的过氧化物酶及酯酶同工酶酶谱变化很大,明显地不同于受体,这与导入后代在各性状上出现的剧烈分离现象相符。导入后代不同程度地出现了杂种酶带、酶带缺失、酶活性增强及酶活性减弱等现象,证明供体 DNA 片段已进入受体,且某些基因已整合到受体基因组中,或控制了受体的某些基因并得到表达。

参 考 文 献

- 1 周光宇等. 农业分子育种. 中国农业科学, 1988, 21(3): 1~6
- 2 卢翠华等. 外源 DNA 导入栽培大豆其后代过氧化物酶同工酶酶谱分析. 中国油料, 1991, 3: 35~36
- 3 刘丽君等. 大豆不同品种(系)及 F_2 代各生育期酯酶过氧化物酶同工酶分析. 中国油料, 1988, 3: 21~24
- 4 雷勃钧等. 外源 DNA 直接导入大豆的研究. 大豆科学, 1991, 10: 58~63
- 5 周光宇等. 远缘杂交的分子基础—DNA 片段杂交假设的一个论证. 遗传学报, 1979, 6(4): 405~413

Analysis of Peroxidase Isozyme and Esterase Isozyme Bands of the Progenies Derived by Introducing Exogenous DNA into Sorghum

Wang Liming Yin Xiuqing

(Plant Breeding Institute of Heilongjiang
Academy of Agricultural Sciences)

Abstract This paper reports the analysis of peroxidase and esterase isozyme bands of the progenies derived by introducing exogenous DNA into sorghum through formed passage of the pollen tube. The results indicate that all the isozyme bands of the transferred progenies are different from their hosts, and also show hybrid isozyme bands, losing isozyme bands and the increase and decrease of the enzyme activity in varying degrees. This indicates that exogenous DNA segments have inserted into genomes of the host plants and have expressed.

Key words Sorghum, Exogenous DNA, Isozyme, Isozyme bands