



## 克隆的玉米醇溶蛋白基因向水稻的成功转移

罗忠训 万树青 夏桂先 徐琳虹

(湖北大学生物系, 武汉)

近几年来植物遗传工程在双子叶植物中取得了可喜的成果。利用Ti质粒载体, 实现了外源基因向烟草等作物的转移、与受体基因组的整合以及在新环境中的表达, 有些还得到了再生植株<sup>[1, 2]</sup>。在某些单子叶植物中, Ti质粒载体的应用也取得了一定的进展<sup>[3]</sup>。然而水稻等禾本科作物至今还没有基因载体, 也没有建立起外源基因受体系统。

我们研究室把植物组织培养技术<sup>[4]</sup>与显微注射技术结合起来, 创造了水稻未传粉子房显微注射离体培养基因转移研究系统。以水稻景洪2号为实验材料, 把克隆的玉米醇溶蛋白基因<sup>[5]</sup>注入未传粉水稻子房的胚囊中, 然后离体培养, 产生愈伤组织, 进而将愈伤组织诱导成再生植株(单倍体)。注射后的水稻子房形成再生植株的几率约为0.2%。从愈伤组织和再生植株的叶片以及未作注射处理的景洪2号水稻的叶片中分别提取总DNA, 采用裂口移动法(Nick translation)用<sup>32</sup>P-dCTP标记玉米醇溶蛋白基因作探针与上

述DNA进行分子杂交。点杂交(Dot hybridization)和沙登吸脱转移杂交(Southern blot transfer hybridization)实验结果都表明: 在愈伤组织和再生植株中都存在着玉米醇溶蛋白基因, 按水稻单倍体基因组计算, 再生水稻植株中外源基因的拷贝数在20—100之间, 而未作注射处理的景洪2号水稻的基因组与玉米醇溶蛋白基因之间只具有极低的同源性。染色体原位杂交, mRNA和蛋白质的提取和电泳分析等后续实验正在进行中。

这个工作的主要优点是: (1)工作在实验室条件下进行, 容易控制; (2)所得的再生植株是单倍体, 加倍后得纯合子, 为将来的育种带来方便; (3)具有较高的转化率。从现有的高等动植物中基因转移的一些成功例子来看, 这个工作系统是大有希望的。它不仅可以用于水稻, 而且可能广泛地应用于其他高等植物进行基因转移研究。只要未传粉子房或胚囊能通过离体培养形成愈伤组织, 并能诱导形成再生植株, 原则上都可以使用。

### 参 考 文 献

- [1] Barton, A.A. et al.: *Cell*, 32:1033—1043, 1983.
- [2] Herrera-Estrella, L. et al.: *Nature*, 303(19):209—213, 1983.
- [3] Hooykaas-Van Slogteren, G.R.S. et al.: *Nature*, 311(25):763—764, 1984.
- [4] 周嫦等: 武汉大学学报(自然科学版), 4:146—154, 1983.
- [5] Pederson, K. et al.: *Cell*, 29:1015—1026, 1982.

本文于1985年11月4日收到。

\* 中国科学院科学基金资助的课题。

美国普度大学的Brian A. Larkins提供含玉米醇溶蛋白基因的重组质粒pZG99; 武汉大学周嫦同志, 对水稻未传粉子房培养作了指导; 中国科学院武汉水生生物研究所易咏兰同志指导显微注射技术; 湖北大学宋国清协助栽培水稻; 中国科学院北京植物所部仲琛同志提供景洪2号稻种, 在此一并致谢。