

张 伟,陈章言,王利红,等. 苏姜猪 *RPL10a* 假基因第 2 外显子多态性与产仔数的相关性[J]. 江苏农业科学,2016,44(10):62-66.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.10.013

苏姜猪 *RPL10a* 假基因第 2 外显子多态性与产仔数的相关性

张 伟^{1,2}, 陈章言^{1,2}, 王利红¹, 全 蒙¹

(1. 江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300; 2. 江苏现代畜牧科技园,江苏泰州 225300)

摘要:为深入探讨猪核糖体蛋白 L10a 假基因(*RPL10a* pseudogene)的多态性及其与产仔数性状间的相关性,采用聚合酶链式反应-单链构象多态性(PCR-SSCP)检测方法,分析苏姜猪 *RPL10a* 假基因第 2 个外显子区的多态性。检测结果显示:引物 P1 扩增区存在 AA 和 AB 等 2 种基因型,引物 P4 扩增区存在 4 种 SSCP 型;经核酸序列比对分析发现,在 27 389 415、27 389 835、27 389 946 位分别存在 C→G、G→A、A→G 的突变,27 389 851 位为碱基 A 的插入突变。经群体遗传学分析,各基因分布符合哈迪-温伯格定律,处于群体平衡状态。将各基因型与苏姜猪 5 个胎次的平均产仔数进行相关性统计分析,结果表明,*RPL10a* 假基因引物 P1 和 P4 各扩增区不同 SSCP 类型与苏姜猪平均产仔数性状间无显著差异($P>0.05$)。将 2 个扩增区不同 SSCP 型综合分析,结果显示,同时存在 AB 型与 SSCP-1 型苏姜猪的第 1 胎平均产仔数显著高于同时具有 AA 型与 SSCP-1、SSCP-2 型的苏姜猪($P<0.05$)。

关键词:苏姜猪;*RPL10a* 假基因;PCR-SSCP;产仔数

中图分类号:S828.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)10-0062-04

核糖体是所有生物细胞中合成蛋白质的重要细胞器,由蛋白质和 RNA 组成。真核生物的核糖体约有 80 种核糖体蛋白亚基^[1],分为大亚基和小亚基。大亚基(60S)核糖体蛋白命名为 L1-L44,小亚基(40S)核糖体蛋白命名为 S1-S31^[2-3]。核糖体蛋白 L10a(ribosomal protein L10a, RPL10a)即属于核糖体 60S 大亚基的蛋白^[4]。核糖体蛋白的功能较多,不仅在蛋白质的合成中发挥作用,还参与复制、转录、RNA 加工、DNA 修复等过程,在细胞增殖、凋亡、发育的多种调控和恶性转化等方面也发挥着重要作用^[2]。随着生物基因组研究的不断深入,现已发现多种生物存在假基因,即所谓的“垃圾”DNA,其中包括很多看家基因,如肌动蛋白、微管蛋白、金属硫蛋白、免疫球蛋白、核糖体等。这些假基因可通过 DNA 调控或 RNA 调控方式,调节同源功能基因的表达、蛋白翻译、基因沉默等^[5]。目前,对假基因的检测分析已成为生

物进化及基因调控研究的新热点。本研究首次检测分析位于 10 号染色体的猪 *RPL10a* 假基因第 2 外显子的多态性,并分析其与产仔数生产性状间的相关性,为深入探讨猪 *RPL10a* 假基因的功能、扩展猪分子辅助选育研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

随机选取 50 头苏姜猪母猪,剪取耳组织,采用酚-三氯甲烷抽提法提取组织中的 DNA,用超纯水稀释至 100 ng/μL,于 -20 ℃ 下保存备用。

1.2 引物设计与 PCR 扩增

根据 GenBank 数据库中猪 *RPL10a* 假基因 NC_010452.3 第 2 个 Exon 的核酸信息,采用 Primer premiers 5.0 软件设计 4 对引物(表 1)。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表 1 苏姜猪 *RPL10a* 假基因第 2 个外显子区 PCR-SSCP 检测用引物序列

| 引物 | 引物序列(5'→3') | 产物位置(位) |
|----|---|-----------------------|
| P1 | F:GGCACTCATAACGTACAATG;R:CGGACCCACAAGGAGAATA | 27 389 329~27 389 534 |
| P2 | F:ACCGTATTCTCTTGTGTTGG;R:GCTGTGGATGTCCTCCTTAT | 27 389 512~27 389 711 |
| P3 | F:CCGCAAGGAAGGGAAGCTG;R:CCTCAAAGGGACAAACGA | 27 389 534~27 389 801 |
| P4 | F:AGACTCGTTTGTCCCTTTG;R:AGAAGAATTACTCTGTGCCAGTTAT | 27 389 779~27 389 940 |

注:产物位置依照 NC_010452.3 序列确定。

1.3 PCR-SSCP 分析

样本 DNA 扩增程序:95 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 30 s,

54~56 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 1 min,35 个循环;72 ℃ 延伸 10 min,4 ℃ 保存。PCR 扩增后,将产物进行变性处理,采用 12% 非变性聚丙烯酰胺:甲叉双丙烯酰胺(29:1)凝胶电泳 8~12 h,银染显带并拍照分析,将不同基因型 PCR 产物送至上海基康生物技术有限公司测序。

1.4 统计分析

采用 SPSS 13.0 软件对试验数据进行差异显著性检验分析。

收稿日期:2016-02-23

基金项目:江苏省科技支撑计划(编号:BE2014381);江苏农牧科技职业学院院级课题(编号:NSFPT201505)。

作者简介:张 伟(1973—),男,高级畜牧师,主要从事动物遗传繁育研究。E-mail:hdjzhangwei001@163.com。

2 结果与分析

2.1 *RPL10a* 假基因第 2 外显子与 *RPL10a* 功能基因序列相似度分析

采用 GenBank 网站的 BLAST 软件比对分析 *RPL10a* 假基因第 2 外显子与 *RPL10a* 功能基因核酸序列(表 2)。结果显示,*RPL10a* 假基因有 5 处核酸序列区段与功能基因的 5 个外显子相似(*RPL10a* 基因有 6 个外显子),且相似度较高,表明 *RPL10a* 假基因第 2 外显子区可作为分析假基因调控功能基因表达的主要区段。

表 2 *PRL10a* 基因与 *RPL10a* 假基因第 2 外显子核酸序列相似度比对结果

| <i>RPL10a</i> 基因外显子 | 外显子位置 | <i>RPL10a</i> 假基因第 2 外显子与功能基因相似区 | 相似度(%) |
|---------------------|---------------|----------------------------------|--------|
| 第 1 外显子 | 6 ~ 203 | 52 ~ 205 | 87 |
| 第 2 外显子 | 465 ~ 637 | 487 ~ 638 | 87 |
| 第 3 外显子 | 1 692 ~ 1 840 | 1 692 ~ 1 843 | 76 |
| 第 4 外显子 | 2 194 ~ 2 274 | 2 193 ~ 2 272 | 89 |
| 第 5 外显子 | 2 358 ~ 2 432 | 2 391 ~ 2 434 | 82 |
| 第 6 外显子 | 2 793 ~ 2 824 | — | — |

注:表中碱基位置以 *RPL10a* 功能基因核酸序列 NC_010449.4 (2 902 bp) 确定。

2.2 引物 P1 ~ P4 PCR 扩增结果

将 *RPL10a* 假基因 4 对引物 PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳(图 1)检测,电泳条带清晰,表明引物 P1 ~ P4 PCR 扩增特异性好。将 PCR 扩增产物测序后,进行 NCBI 数据库 BLAST 分析,结果显示,所扩增序列与猪(*Sus scrofa*) *RPL10a* 假基因第 2 个外显子序列有高度相似性,分别为 98%、99%、99%、98%,表明本试验扩增的核酸序列位于所检测基因区。

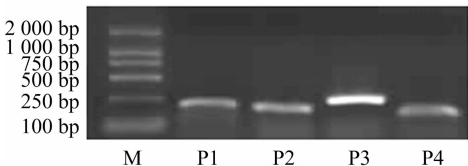


图 1 引物 P1~ P4 PCR 扩增产物电泳结果

2.3 PCR - SSCP 分析结果

将 *RPL10a* 假基因 PCR 扩增产物经 SSCP 分析,结果显示,引物 P1 扩增产物存在 2 种 SSCP 条带类型,分别为 AA 型和 AB 型(图 2);引物 P2、P3 扩增产物不存在单链构象多态性(图 3);引物 P4 扩增产物存在 4 种 SSCP 条带类型(图 4)。

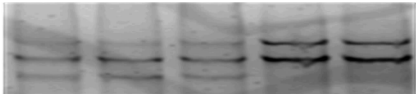


图 2 引物 P1 PCR 扩增产物 SSCP 分析

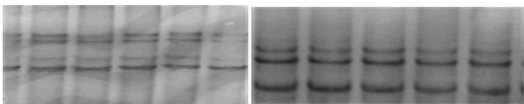
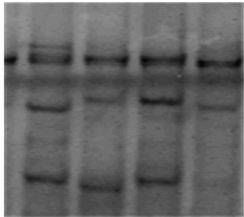


图 3 引物 P2、P3 PCR 扩增产物 SSCP 分析

2.4 引物 P1、P4 扩增产物不同基因型序列分析

引物 P1 的不同 PCR - SSCP 样本经核酸序列测定并与

NC_010452.3 比对分析,结果显示,在 27 389 415 位存在 C→G 的突变(图 5)。



1—SSCP-3型; 2—SSCP-4型; 3—SSCP-1型; 4—SSCP-2型
图 4 引物 P4 PCR 扩增产物 SSCP 分析

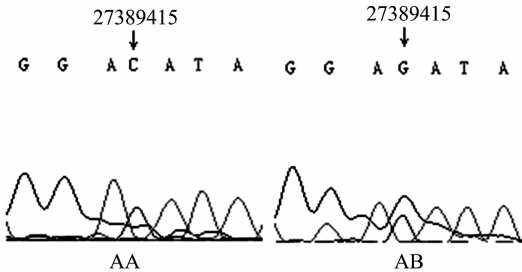


图 5 引物 P1 PCR-SSCP 不同类型核酸序列比对结果

将引物 P4 的不同 PCR - SSCP 样本经核酸序列测定并与 NC_010452.3 比对分析,结果显示,在 27 389 835、27 389 946 位分别存在 G→A、A→G 的突变,27 389 851 位存在碱基 A 的插入(图 6)。

2.5 苏姜猪 *RPL10a* 假基因群体遗传分析

苏姜猪 *RPL10a* 假基因引物 P1、P4 扩增区不同 SSCP 型频率以及基因频率见表 3、表 4。由表 3 可知,引物 P4 扩增区 SSCP - 1 型所占比例最高,为 50%,SSCP - 4 个体数最少,仅占 6%;由表 4 可知,27 389 415、27 389 835、27 389 946 碱基突变位点均为野生纯合型高于杂合型,但均未在苏姜猪群体中检测到突变纯合型。根据哈迪 - 温伯格定律,经卡方检验各基因群体平衡性(表 5),结果表明,2 对引物扩增区在 27 389 415、27 389 835、27 389 946 位点的碱基突变均未达到统计学差异显著级别($P > 0.05$),表明各基因分布符合哈迪 - 温伯格定律,处于群体平衡状态。

2.6 苏姜猪 *RPL10a* 假基因不同 SSCP 型与产仔数间的相关性分析

对有产仔数生产记录的苏姜猪进行 5 个胎次的平均产仔数统计分析,结果(表 6、表 7)表明,*RPL10a* 假基因引物 P1、P4 扩增区不同 SSCP 类型的平均产仔数性状间无显著差异($P > 0.05$)。综合分析引物 P1、P4 扩增区不同 SSCP 类型,结果(表 8)表明,同时存在 AB 型与 SSCP - 1 型的苏姜猪第 1 胎平均产仔数显著高于同时具有 AA 型与 SSCP - 1、SSCP - 2 型的苏姜猪($P < 0.05$),其他类型的各胎次平均产仔数无显著差异($P > 0.05$)。

3 结论与讨论

随着现代生物科技的快速发展,现已通过基因组测序和转录过程中 mRNA 反转录为 cDNA,然后以 cDNA 的方式重新整合进入基因组,在生物长期进化选择过程中由于随机突变积累而丧失功能^[5]。本研究通过 PCR - SSCP 方法检测到

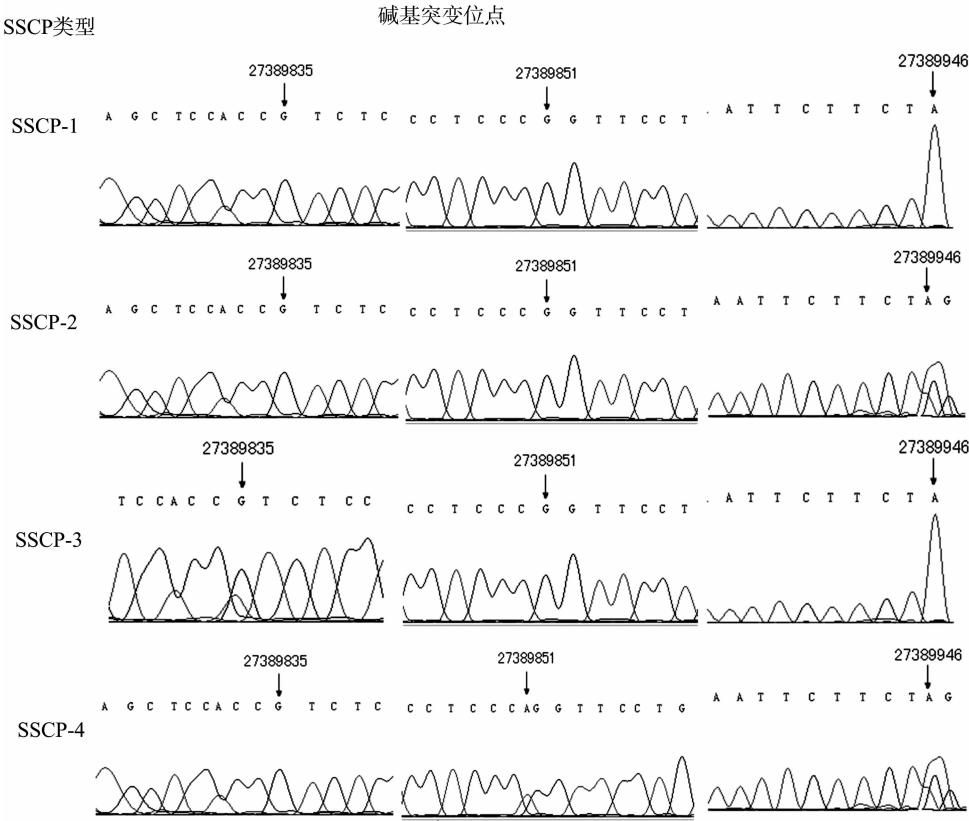


图6 引物 P4 PCR-SSCP 不同类型核酸序列比对结果

表 3 苏姜猪 *RPL10a* 假基因引物 P4 扩增产物不同 SSCP 型频率

| SSCP 类型 | 苏姜猪个体数 (头) | 所占比例 (%) |
|----------|---------------|-------------|
| SSCP - 1 | 25 | 50 |
| SSCP - 2 | 16 | 32 |
| SSCP - 3 | 6 | 12 |
| SSCP - 4 | 3 | 6 |
| 合计 | 50 | 100 |

表 4 苏姜猪 *RPL10a* 假基因引物 P4 扩增产物碱基突变位点
等位基因频率与基因型频率

| 碱基突变位点 | 等位基因频率 | 基因型频率 |
|------------|----------------|----------------------------|
| 27 389 415 | A, 81%; B, 19% | AA, 62% (31); AB, 38% (19) |
| 27 389 835 | C, 94%; D, 6% | CC, 88% (44); CD, 12% (6) |
| 27 389 946 | E, 75%; F, 25% | EE, 50% (25); EF, 50% (25) |

注:括号内数字为个体数。

表 6 引物 P1 不同 PCR-SSCP 类型苏姜猪各胎次平均产仔数

| SSCP 类型 | 各胎次平均产仔数(头) | | | | |
|---------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | 第 1 胎 | 第 2 胎 | 第 3 胎 | 第 4 胎 | 第 5 胎 |
| AA | 9.47 ± 2.91 (30) | 11.21 ± 2.92 (28) | 9.94 ± 1.98 (17) | 11.29 ± 2.31 (17) | 11.69 ± 2.72 (13) |
| AB | 11.61 ± 2.71 (18) | 11.22 ± 2.37 (18) | 10.71 ± 2.46 (14) | 11.00 ± 2.31 (13) | 11.64 ± 2.37 (14) |

注:同一胎次不同 SSCP 类型间,数据后未标字母和字母相同者表示在 0.05 水平下差异无统计学意义,字母不同者表示在 0.05 水平下差异显著。下表同。

A 的插入突变,表明猪 *RPL10a* 假基因的产生符合假基因产生的第 1 种类型。通过群体遗传学分析突变位点各基因频率的平衡性,发现各基因频率均符合哈迪-温伯格定律,表明这些基因在苏姜猪群体中已处于群体平衡状态。

表 5 苏姜猪 *PRL10a* 假基因引物 P1、P4 扩增区
各基因群体平衡性 χ^2 检验

| 引物 | 扩增区突变位点(位) | χ^2 值 |
|----|------------|------------|
| P1 | 27 389 415 | 2.75 |
| P4 | 27 389 835 | 0.20 |
| | 27 389 946 | 5.56 |

注:“*”表示在 0.05 水平下差异显著,未标注者为差异不显著 ($P > 0.05$); $\chi^2(2, 0.05) = 5.99$ 。

基因克隆鉴定技术发现生物体基因组中存在大量的假基因,如人类基因组中约 97% 为非表达序列,即所谓的“垃圾”DNA^[5]。假基因的产生主要有 2 种类型,一种是正常基因的复制或基因之间的不平衡交换,产生点突变、插入、缺失、移码突变等,导致复制后的基因无法进行正常编码;另一种类型是苏姜猪群体中 *RPL10a* 假基因第 2 个外显子区存在多态性,经序列比对,在 27 389 415、27 389 835、27 389 946 位点存在 C→G、G→A、A→G 碱基突变,在 27 389 851 位点检测到碱基

2003 年,日本研究小组发现第 1 个有功能的假基因,并培育出插入 *makorin1* 基因的变异体,即 *makorin1-p1* 的假基因(致死基因)小鼠;该假基因不编码蛋白质,但当其损坏后对应的真基因也不工作,最终导致小鼠死亡^[6],表明假基因

表 7 引物 P4 不同 PCR-SSCP 类型苏姜猪各胎次平均产仔数

| SSCP 类型 | 各胎次平均产仔数(头) | | | | |
|---------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | 第 1 胎 | 第 2 胎 | 第 3 胎 | 第 4 胎 | 第 5 胎 |
| SSCP-1 | 10.78 ± 2.35 (23) | 11.90 ± 2.81 (21) | 10.53 ± 2.21 (17) | 11.00 ± 2.51 (15) | 11.80 ± 2.62 (15) |
| SSCP-2 | 9.31 ± 3.55 (16) | 10.69 ± 2.33 (16) | 9.50 ± 2.56 (8) | 11.67 ± 1.58 (9) | 10.71 ± 2.93 (7) |
| SSCP-3 | 11.33 ± 3.98 (6) | 10.67 ± 2.16 (6) | 10.75 ± 0.96 (4) | 10.00 ± 2.94 (4) | 12.75 ± 0.96 (4) |
| SSCP-4 | 9.33 ± 0.57 (3) | 11.33 ± 4.73 (3) | 10.50 ± 3.54 (2) | 12.50 ± 2.12 (2) | 12.00 (1) |

注:样本数为 1 者不予统计分析。表 8 同。

表 8 引物 P1、P4 不同 PCR-SSCP 类型苏姜猪各胎次平均产仔数

| 引物 P4 SSCP 类型 | 引物 P1 SSCP 类型平均产仔数(头) | | | | | | | | | |
|------------------|-----------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|----------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | AA | | | | | AB | | | | |
| | 第 1 胎 | 第 2 胎 | 第 3 胎 | 第 4 胎 | 第 5 胎 | 第 1 胎 | 第 2 胎 | 第 3 胎 | 第 4 胎 | 第 5 胎 |
| SSCP-1 | 9.62 ± 2.14 a(13) | 12.27 ± 3.13(11) | 10.22 ± 1.56(9) | 10.50 ± 2.73(8) | 12.43 ± 2.23(7) | 12.30 ± 1.70b(10) | 11.50 ± 2.51(10) | 10.88 ± 2.85(8) | 11.57 ± 2.30(7) | 11.25 ± 2.96(8) |
| SSCP-2 | 9.33 ± 3.68 a(15) | 10.80 ± 2.37(15) | 9.86 ± 2.54 (7) | 11.75 ± 1.67(8) | 10.83 ± 3.19 (6) | 9.00(1) | 9.00(1) | 7.00(1) | 11.00(1) | 10.00(1) |
| SSCP-3 | — | — | — | — | — | 11.33 ± 3.98(6) | 10.67 ± 2.16(6) | 10.75 ± 0.96(4) | 10.00 ± 2.94(4) | 12.75 ± 0.96(4) |
| SSCP-4 | 9.50 ± 0.71 (2) | 8.50 ± 4.95 (2) | 8.00(1) | 14.00(1) | — | 9.00(1) | 14.00(1) | 13.00(1) | 11.00(1) | 12.00(1) |

在生物体内具有重要的调控机能。此后,有关假基因的研究报道进一步证实,假基因的作用具有序列专一性,只影响与基因本身相似的序列,通过 DNA 和 RNA 指导调控功能基因的表达,参与基因沉默、催化、发育调控等^[5]。*RPL10a* 基因表达核糖体 60S 大亚基上的蛋白,不仅在蛋白质合成中发挥重要作用,还参与调控基因的转录、翻译,调控细胞增殖、凋亡、分化等。已有研究报道,*RPL10a* 蛋白基因突变与自闭症的发病机制有关^[7-8]。猪 *RPL10a* 基因位于第 10 号染色体,有 6 个外显子,而 *RPL10a* 假基因位于第 7 号染色体,有 2 个外显子。通过比对功能基因和假基因第 2 外显子核酸序列,发现有 5 个相似区均位于功能基因的外显子区,表明 *RPL10a* 假基因可能参与功能基因的表达调控过程。本研究检测出的苏姜猪 *RPL10a* 假基因 27 389 415、27 389 835 位点的突变,对应于功能基因第 1、第 4 外显子区内,但在苏姜猪群体中均未检测到突变纯合型,表明 *RPL10a* 假基因上述突变位点的突变纯合型可能会影响功能基因的表达,进而导致个体生理功能异常,使胚胎早期死亡。27 389 946、27 389 851 位点均不对应于功能基因的外显子区,虽然 27 389 851 位点为碱基插入突变,可能不会影响功能基因的表达,但具体的调节机制有待后续研究。

为深入研究假基因的功能,近年来,通过 SSCP 方法开展假基因多态性与生物性状间相关性的研究也逐步增加,如杨爱初等对多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶假基因多态性与苯中毒的相关性进行了研究^[9],以及唐录英等对聚腺苷二磷酸核糖聚合酶假基因多态性分布及其与肺癌易感性关系进行了研究等^[10]。本研究将 PCR-SSCP 方法检测获得的苏姜猪 *RPL10a* 假基因第 2 外显子区多态性与产仔数生产性状进行相关分析,结果显示,不同 SSCP 型同一胎次平均产仔数间差异不显著($P > 0.05$)。以苏姜猪个体为对象,将引物 P1 和 P2 不同 SSCP 多态性进行综合分析,在检测出的 6 头 SSCP-3 型苏姜猪个体中无一兼具 AA 型,表明 27 389 415 位

点的碱基突变与其他 3 个突变位点间可能存在一定影响,特别是 27 389 835 位点的突变影响可能较大;27 389 415、27 389 835 位点均对应于功能基因第 1、第 4 外显子区内,表明与 *RPL10a* 功能基因外显子区相对应的假基因核酸序列上的碱基突变,对功能基因的表达可能存在影响。对各类型苏姜猪同一胎次平均产仔数间的差异显著性进行检验,结果表明,兼有 AB 型与 SSCP-1 型的苏姜猪第 1 胎平均产仔数 $[(12.30 \pm 1.70) \text{头}]$ 显著高于兼有 AA 型与 SSCP-1 $[(9.62 \pm 2.14) \text{头}]$ 、SSCP-2 型 $[(9.33 \pm 3.68) \text{头}]$ 的苏姜猪($P < 0.05$),其他类型的各胎次平均产仔数间差异不显著($P > 0.05$)。可见,27 389 415 位点碱基突变可能与其他位点的碱基变化具有协同作用,共同影响苏姜猪产仔数性状,但 *RPL10a* 假基因影响功能基因表达进而影响猪繁殖力性状的机制有待进一步深入研究。

参考文献:

[1] Wool I G. The structure and function of eukaryotic ribosomes[J]. Annual Review of Biochemistry, 1979, 48: 719-754.
[2] 刘志华, 杨 谦. 球毛壳菌 60S 核糖体蛋白 *L10a* 基因克隆与特性分析[J]. 微生物学通报, 2006, 33(1): 24-28.
[3] Chávez R R, Arias R L E, Almaraz B M D, et al. *L10* ribosomal protein from *Entamoeba histolytica* share structural and functional homologies with QM/Jif-1: proteins with extraribosomal functions[J]. Molecular and Biochemical Parasitology, 2003, 127(2): 151-160.
[4] 苏秀兰, 侯怡铃, 李 俊, 等. 大熊猫核糖体蛋白 *L10* 亚基基因的 cDNA 克隆及序列分析[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(15): 1617-1620.
[5] 赵宇航, 康相涛, 孙桂荣, 等. 假基因的研究现状及展望[J]. 中国畜牧兽医, 2008, 35(7): 70-72.
[6] Hirotsune S, Yoshida N, Chen A, et al. An expressed pseudogene regulates the messenger-RNA stability of its homologous coding gene[J]. Nature, 2003, 423(6935): 91-96.

楚海娇,李 闯,关淑艳. 4 种玉米自交系幼胚遗传再生体系的建立[J]. 江苏农业科学,2016,44(10):66-68.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.10.014

4 种玉米自交系幼胚遗传再生体系的建立

楚海娇¹, 李 闯², 关淑艳³

(1. 吉林农业科技学院生物工程学院,吉林吉林 132101; 2. 吉林农业科技学院,吉林长春 136105;
3. 吉林农业大学生物技术学院,吉林长春 130118)

摘要:选取 4 种玉米自交系 H99、A188、7922 和 1322 的幼胚作为外植体,接种于 10 种不同诱导培养基上,诱导愈伤组织并建立遗传再生体系,同时探讨了不同基因型、培养基种类、幼胚大小、蔗糖浓度、激素浓度和对比对愈伤组织诱导率的影响。结果表明:基因型对愈伤组织诱导率高低影响显著,4 种基因型玉米幼胚在诱导培养基中均产生了愈伤组织,但继代培养后只有 H99 能诱导出胚性愈伤组织,诱导率为 46.2%;对于不同基因型培养基诱导效果依次为 N₆ > MB > MS;选择幼胚长度为 1.5 ~ 2.0 mm、添加蔗糖浓度为 30 g/L、2,4-D 浓度为 2.0 mg/L 及 AgNO₃ 浓度为 10 mg/L 时玉米愈伤组织诱导率最高且质量较好。

关键词:玉米;再生体系;自交系;愈伤组织诱导率

中图分类号: S513.03 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)10-0066-03

我国是世界玉米大国,玉米作为重要的粮、饲作物对我国经济发展和市场稳定具有举足轻重的作用^[1]。可以通过基因工程手段改良玉米的品种和农艺性状,而建立高效的体细胞再生体系是遗传转化的关键。玉米优良基因型遗传再生体系的建立一直是人们研究的热点^[2]。玉米首次诱导出愈伤组织是 Larue 在 1949 年用甜玉米的胚作为外植体,但未获得再生植株。直到 1975 年,Green 等用 A188 的未成熟胚作外植体,诱导出二倍体愈伤组织,并获得再生植株,从而得到了第 1 株无性系植株^[3]。目前,已从多种外植体中诱导出愈伤组织,并再生植株。而以玉米幼胚为外植体进行培养,诱导愈伤组织的效率高、再生能力强,可大大提高育种效率。玉米组织培养的影响因素较为复杂,一些优良自交系的组织培养还存在一定困难。本试验设计了 10 种不同诱导培养基对 4 种优良玉米自交系的愈伤组织进行诱导,并再生植株,目的是探寻出这 4 种玉米自交系遗传再生体系建立的条件,为建立高效的玉米转基因受体系统奠定基础。

1 材料与与方法

收稿日期:2015-11-10
基金项目:吉林农业科技学院青年基金项目(编号:吉农院合字[2013]第 210 号)。
作者简介:楚海娇(1984—),女,吉林辽源人,硕士,助教,研究方向为玉米遗传转化。E-mail:chuhaijiao1227@163.com。
通信作者:关淑艳,博士,副教授,主要从事生物技术在作物遗传育种中的应用研究。E-mail:fengrongl@163.com。

[7]Klauck S M,Felder B,Kolb-Kokocinski A,et al. Mutations in the ribosomal protein gene *RPL10* suggest a novel modulation disease mechanism for autism [J]. *Molecular Psychiatry*, 2006, 11(12): 1073-1084.

[8]田 媛,张俊平. 核糖体蛋白质的新功能及其与相关疾病的关系[J]. *生命科学*,2011,31(4):488-491.

- 1.1 材料
优良玉米自交系 H99、A188、7922 和 1322 的幼胚。
- 1.2 培养基
1.2.1 诱导培养基 本试验设计了 10 种基本培养基进行愈伤组织的诱导研究(表 1)。

表 1 诱导培养基及其成分

| 培养基 | 成分(mg/L) | | | |
|------------------|-------------------|-------|-----|------|
| | 基本培养基 | 2,4-D | 硝酸银 | 6-BA |
| N ₆ 1 | 诱导 N ₆ | 1 | 0 | 0 |
| N ₆ 2 | 诱导 N ₆ | 2 | 0 | 0 |
| N ₆ 3 | 诱导 N ₆ | 3 | 0 | 0 |
| N ₆ 4 | 诱导 N ₆ | 4 | 0 | 0 |
| N ₆ 5 | 诱导 N ₆ | 2 | 10 | 0 |
| N ₆ 6 | 诱导 N ₆ | 2 | 10 | 0.5 |
| MB1 | 诱导 MB | 1 | 0 | 0 |
| MB2 | 诱导 MB | 2 | 0 | 0 |
| MB3 | 诱导 MB | 3 | 0 | 0 |
| MS | 诱导 MS | 2 | 0 | 0 |

- 1.2.2 继代培养基 继代培养基添加 2,4-D 的浓度为 1 mg/L。
- 1.2.3 分化培养基 分化培养基添加 IBA 0.8 mg/L 和 6-BA 1.5 mg/L。
- 1.2.4 生根培养基 生根培养基添加 NAA 1.5 mg/L 和活性炭 1.5 g/L。
- 1.3 方法
1.3.1 玉米幼胚的剥离 在超净工作台上对授粉 13 d 左右

[9]杨爱初,李森华,陈 刚,等. 苯中毒与多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶假基因多态等的相关性研究[J]. *中国职业医学*,2005,32(4): 15-17.

[10]唐录英,任泽舫,庄志雄,等. 聚腺苷二磷酸核糖聚合酶假基因多态性分布及其与肺癌易感性的关系[J]. *中华医学遗传学杂志*,2002,19(2):124-126.