

郭妍妍,赵丁丁,孙丙耀. 水稻 *Ds* 标记的矮秆突变体的分子鉴定[J]. 江苏农业科学,2018,46(16):35–39.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.16.008

水稻 *Ds* 标记的矮秆突变体的分子鉴定

郭妍妍,赵丁丁,孙丙耀

(苏州大学医学部基础医学与生物科学学院,江苏苏州 215123)

摘要:通过已构建的水稻 *Ac/Ds* 突变体系,研究分析新型水稻功能基因,为水稻功能基因组学提供分子遗传方面的资源。从构建的水稻 *Ac/Ds* 突变体系中,筛选得到性状稳定的矮秆突变体(mutant type, MT)和正常株高回复体(revertant type, RT)。采用热不对称交错 PCR(thermal asymmetric interlaced PCR,简称 TAIL-PCR)技术,克隆 *Ds* 插入的侧翼序列,对该侧翼序列进行 NCBI-Blast 在线比对,寻找 *Ds* 插入基因;同时利用 FGENESH、GeneMark.hmm、DNAMAN、SWISS-MODEL 等软件分析 *Ds* 插入基因的结构和功能。发现 *Ds* 插入在水稻第 3 号染色体上的 *OSJNBa0054H04.28* 基因第 4 外显子上,此基因编码假拟氧化还原酶蛋白(putative oxidoreductase),该蛋白含有 1 个保守的 2OG-Fe(II)加氧酶蛋白结构域。同时发现,RT 中有 *Ds* 发生转座,并留下 8 个碱基的切离足迹,其转座机制属于“内切酶模式”。后续分析发现,该基因编码的假拟氧化还原酶蛋白可能在 GA 的合成过程中起重要作用。此基因是一个新的株高控制基因,可能通过编码假拟氧化还原酶蛋白影响 GA 的合成,从而对水稻株高的维持起到重要作用。

关键词:*Ac/Ds*;TAIL-PCR;假拟氧化还原酶蛋白;转座足迹;GA

中图分类号:S511.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)16-0035-04

水稻作为主要的粮食作物和分子生物学(单子叶植物)研究的模式植物,随着其全基因组序列的公布^[1],寻找和认识新型水稻功能基因已经成为水稻功能基因组学的重要研究任务。通过构建突变体库,以突变基因为研究对象分析水稻基因功能,是一条有效的研究捷径。产生水稻突变体的方法主要有 T-DNA 插入、理化诱变、转座子插入等^[2-7]。其中,利用 *Ac/Ds* 插入产生水稻突变体,并以 TAIL-PCR 技术克隆突变位点侧翼序列寻找功能基因得到了广泛应用。国内外许多研究单位构建了多个水稻 *Ac/Ds* 突变体库,也从中分离到一些控制不同水稻性状的基因^[2-6]。矮秆作为重要的农艺性状,矮秆基因的发现、研究和利用在“绿色革命”中起到至关重要的作用。但是目前为止,能够在生产上实际应用的矮秆主基因只有 *sd-1*。植物矮化常与赤霉素(GA)、油菜素类固醇(BR)的代谢有关^[8-10]。GA 是植物生长发育过程中一类重要的调节激素,对诱导 α -淀粉酶的形成、茎的伸长和植株增高、节间和叶片的伸长、禾谷类种子的萌发、花器官的形成等都具有明显的促进作用。目前,已有 136 种 GA 在植物、真菌、细菌中发现(<http://www.plant-hormones.info/gibberellins.htm>)。GA 的合成需要 3 种基本酶:GA2 氧化酶、GA3 氧化酶和 GA20 氧化酶。这 3 种酶都具有保守的 2OG-Fe(II)加氧酶蛋白结构域,属于 2OG-Fe(II)加氧酶蛋白超家族^[11-14]。Lo 等在水稻 TRIM 群中发现的 GA2 氧化酶 6,也具有保守的 2OG-Fe(II)结构域^[15];Teng 等在研究玉米第 3

号染色体上的 GA3 氧化酶 2 时,发现它是一个对玉米株高起主效作用的数量性状基因座,编码 GA3- β 羟化酶,与水稻 GA3 氧化酶 2 的同源性非常高^[16]。寻找和发现新的能在生产上利用的矮秆资源以及研究矮生相关机制是水稻分子遗传工作者的不断追求。本研究利用已构建的 *Ac/Ds* 突变体系,筛选到矮秆表型突变体(mutant type, MT),并且在矮秆突变体后代培育中出现株高回复突变植株(revertant type, RT)。由此,展开对未知矮秆基因的分子研究。希望通过对 MT、RT 株高控制基因的研究,揭示此未知基因的结构和功能。

1 材料与方法

1.1 水稻材料

试验材料来源于水稻品种 Dongjin(*Oryza sativa* L. var. japonica cv. Dongjin)的 *Ac/Ds* 插入突变株系^[17](由韩国国立庆尚大学 Han Chang-deok 教授实验室提供),经过连续 4 代自交培育出现 MT,MT 后代自交培育,出现 RT。本试验以 MT、RT 作为试验材料。

1.2 引物设计

采用 PCR 方法检测 *Ac/Ds* 在水稻基因组上可能的插入,根据 *Ac/Ds* 的序列特点设计 1 对特异引物 P1、P2,同时使用 GUSBYF、GUSBYR 作验证。TAIL-PCR 引物:*Ds* 序列的 3 个特异引物 SP1、SP2、SP3,分别与随机简并引物 AD 组成 3 对引物,用于 TAIL-PCR 的 3 个反应,扩增 *Ds* 插入位点侧翼序列。*Ds* 插入基因型分析引物:根据插入位点水稻序列特点设计特异引物 F1、R1;利用前述引物 SP3 与 R1 组成 1 对引物,检测 *Ds* 插入,从而分析 *Ds* 插入基因型(表 1)。

1.3 基因组 DNA 的提取和 *Ds* 插入的 PCR 鉴定

基因组 DNA 的提取依照 Sun 等的方法^[18]进行。

Ds 插入的 PCR 鉴定:建立 PCR 反应体系,选择特异引物 P1、P2,94 °C 变性 30 s, 58 °C 复性 1 min, 72 °C 延伸 2 min, 35

收稿日期:2017-02-22

基金项目:江苏省苏州市应用基础研究计划(农业部分)(编号:SYN201204)。

作者简介:郭妍妍(1991—),女,河南洛阳人,硕士,主要从事植物结构与发育生物学研究。E-mail:guoyanyan3@163.com。

通信作者:孙丙耀,博士,副教授,主要从事植物分子遗传学研究。

Tel:(0512)65882833;E-mail:sunbingyao@suda.edu.cn。

表 1 PCR 反应引物

引物名称	引物序列(5'→3')	扩增目的	目的片段大小
P1	ATAAGATTGGCCAAGTTGATGTC	<i>Ac/Ds</i> 插入	400/500 bp
P2	TTCTTGTTGAAATGCTGCCATAC	<i>Ac/Ds</i> 插入	
GUSBYF	AATGTTCTGCGACGCTCAC	<i>GUS</i> 报告基因	330 bp
GUSBYR	CGGCGAAATTCCATACCTG	<i>GUS</i> 报告基因	
AD	TCTTICGNACITNGGA	<i>Ds</i> 侧翼序列	第 2 轮和第 3 轮产物相差 36 bp
SP1	CCCGTTTCGTTTTTCGTTACCGGTATATCCCGTTTTCG		
SP2	TATGAAAATGAAAACGGTAGAGG		
SP3	GTTACCGACCGTTTTTCATCC		
F1	CCATACACCACTACCCTCCTT		
R1	GTTGCCTGCGTAACTTTCAC	<i>Ds</i> 切离足迹	463 bp

个循环,检测有无 *Ac/Ds* 插入。同时,对 *GUS* 报告基因进行 PCR 鉴定,再次验证有无 *Ac/Ds* 插入。

1.4 *Ds* 侧翼序列的 TAIL-PCR 分析

对含 *Ac/Ds* 双元件的样品进行 TAIL-PCR 分析^[18]: TAIL-PCR 反应体系涉及的第 1、第 2、第 3 反应所采用的特异引物分别为 SP1、SP2、SP3,随机简并引物为 AD。反应结束后将第 2、3 轮反应的产物依次上样于 2% 琼脂糖凝胶电泳以选择迁移条带。

特异条带的洗脱、纯化和 *Ds* 侧翼序列的测定:根据所设计的特异引物 SP2、SP3 在 *Ds* 序列上的间隔(36 bp)选择第 2、3 轮反应产物中的特异迁移条带。从凝胶中切出第 3 反应的条带,回收纯化,TA 克隆测序。

1.5 *Ds* 侧翼序列的 GenBank 检索和插入位点的基因分析

为分析 *Ds* 插入部位的水稻基因情况,将上述已测的 *Ds* 侧翼序列用 NCBI 的 Blast 进行在线检索(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>),确认 *Ac/Ds* 插入植株中 *Ds* 的染色体定位和插入部位水稻基因结构和编码氨基酸序列。同时,利用 FGENESH(<http://www.softberry.com/>)和 GeneMark.hmm(<http://opal.biology.gatech.edu/>)推测残留 8 个碱基足迹后的被插入基因的结构,获得其编码的氨基酸序列。

1.6 RT 中 *Ds* 跳跃行为的分子验证

Ds 的跳跃往往会留下 8~11 个碱基的足迹。设计特异引物 F1 和 R1 进行 PCR 反应,对扩增条带克隆测序,即可验证有无足迹残留。

2 结果与分析

2.1 水稻突变体主要表型差异

从图 1 可以看出,株高突变体系 MT、RT 和野生型(wild type, WT)对照,表型差异主要表现在株高和旗叶倾角上。WT 平均株高 79.02 cm,旗叶倾角 25.3°;MT 平均株高 45.86 cm(野生型的 58.04%),旗叶倾角 75.6°;RT 平均株高 74.13 cm(野生型的 93.81%),旗叶倾角 44.1°(图 1-a、图 1-b)。另外,RT 在回复株高的同时,出现 1 个新性状,颖壳上出现杂斑(图 1-c)。根据水稻前 4~5 茎节长度比例的差异,Takeda 将水稻矮秆突变体分为 6 类^[19](图 1-d)。本研究中,MT 和 RT 均属于 dn 型突变体(图 1-e)。

2.2 PCR 分析 *Ac/Ds* 在水稻基因组上的插入

本研究根据 *Ac/Ds* 元件的核酸序列特点设计 1 对特异引物,以基因组 DNA 为模板进行 PCR 扩增,分析基因组上是否

存在 *Ac* 和 *Ds* 元件。图 2-a 为采用特异引物 P1、P2 进行 PCR 扩增的结果,其中,扩增出约 0.4 kb 特异条带的表明基因组中含 *Ac* 元件;扩增出约 0.5 kb 条带的表明含有 *Ds* 元件。可见,MT 和 RT 基因组中均有 *Ac/Ds* 双元件。图 2-b 为 *GUS* 验证,即根据 *Ac/Ds* 双元件上含有的 *GUS* 报告基因,设计特异引物 PCR 扩增,进一步验证了 MT 和 RT 均有 *Ac/Ds* 双元件插入。

2.3 *Ds* 侧翼序列的 TAIL-PCR 分析

对经上述 *Ac/Ds* 插入分析证实含 *Ac/Ds* 转座元件的 MT、RT 进行 TAIL-PCR,扩增 *Ds* 插入位点侧翼序列,选择“*”标示序列凝胶回收(图 3),纯化后将该片段连接到 T 载体上,经转化大肠杆菌 DH5 α 、蓝白斑筛选、菌液 PCR 扩增验证,再进行序列测定。

2.4 *Ds* 侧翼序列的 GenBank 检索和水稻 *Ds* 插入位点的分析

将上述测得的 *Ds* 侧翼序列的核苷酸序列用 NCBI 的 Blast 软件进行在线检索,发现 *Ds* 插入在水稻第 3 号染色体上,具体基因为 *Os03g0147400*(*Oryza sativa japonica* group),在其第 3 外显子上,序列 ID 为 BAS82290.1(图 4)。此基因编码假拟氧化还原酶蛋白^[19-20],含有 1 个保守的 2OG-Fe(II)加氧酶结构域,属于 2OG-Fe(II)加氧酶蛋白超家族。该假拟氧化还原酶蛋白拥有 469 个氨基酸。

2.5 *Ds* 跳跃行为

根据 *Ds* 插入位点旁侧水稻序列特点,设计引物 F1 和 R1,PCR 扩增、克隆测序发现 RT 中有 *Ds* 转座跳跃,并残留“CATCATGA”8 个碱基的足迹。插入位点水稻部分侧翼序列:5'-GACCAGGAGGCTTTGTTGGCGCCTTTAGGGATAAA-CAGCAGAGCATGGCCATACACCACTACCCTCCTTGCCGCCAC-CCAGACAAGGTGATCGGCATCACGCCGCACTCCGATGGTCTCG-GCCTGACGCTGCTGCTGCAGCTCGACGACGCCCCGGCCTGC-AGATCAGGAAGGATGGCAGGTGTTACCAGTGGCACCCTCGC-CCGGGCACCT(*Ds* 插入位点)TCATCATGA CATCATCAATGT-CGCCGACATACTCGAGGTCCTTACCAATGGCGCGTACAAGAG-CGTCGAGCACAGAGTACTCGCGGACGCAGAGAAAGCCCGAACCATCATCGTGACATTTTCATGAAGCCTATGTCGATGGAATGG-TGAAGCCGATCCCGGAGGTGCTCAAGCTCAACGGAGCAGAGG-CACGCTACAAGTCCATAGAAAGAATTGAGTATATCAAGGGAA-ACTTTGTGGCGCTTTCTGAGGGGACACGATTTCTGGAGAGCC-TTAAGATATAG-3',方框标记的 8 个碱基即为残留足迹。

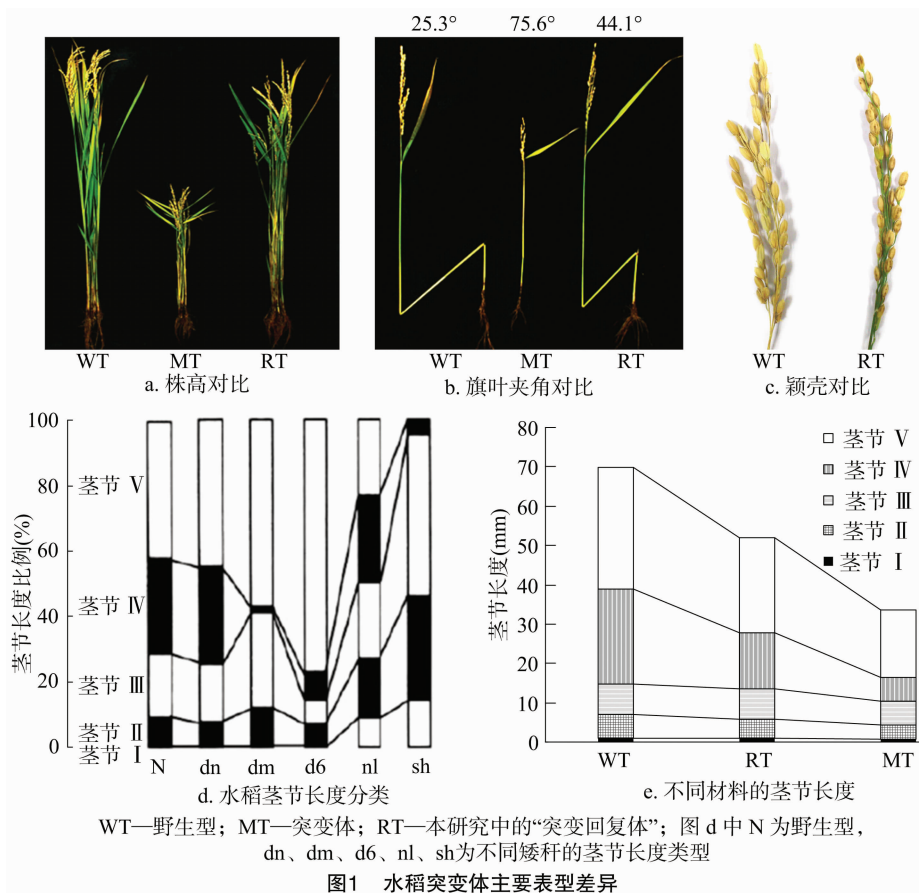
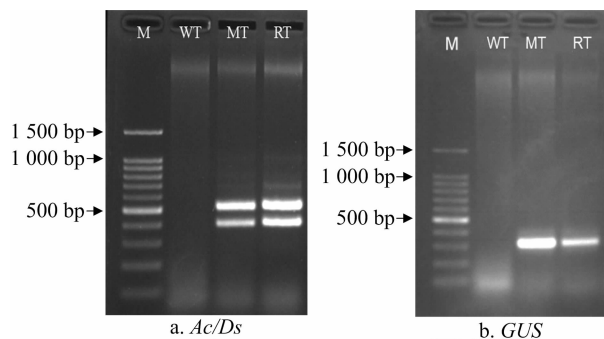
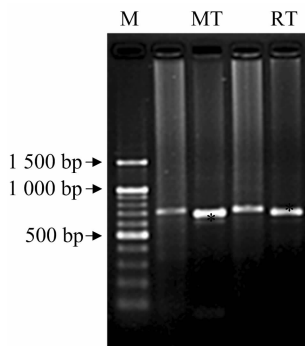
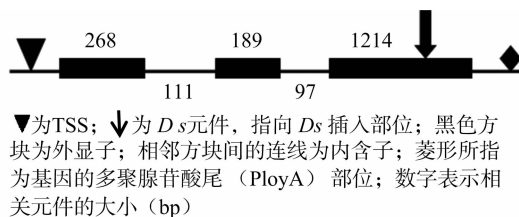


图1 水稻突变体主要表型差异

图2 *Ac/Ds* 元件的 PCR 检测图3 TAIL-PCR 扩增 *Ds* 插入侧翼序列

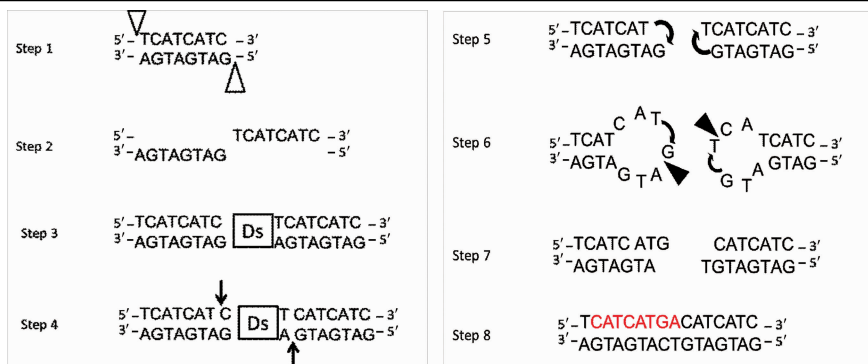
本研究中 RT 的转座机制属于“内切酶模式”^[7,21-24]。由图 5 可知,首先核酸外切酶延 5'→3' 的方向,切断水稻序列,*Ds* 得以插入;同时在基因修复机制下,碱基互补配对,空缺碱

图4 *Ds* 插入假拟氧化还原酶蛋白基因

基得以补充,从而多出 8 个碱基对;接着 *Ac* 提供转座酶,帮助 *Ds* 切离(本研究材料 *Ds* 在切离的同时带走 2 个旁侧碱基,属于“不干净”切离);伴随 *Ds* 的切离,基因序列按 5'→3' 方向自发延伸,从而形成 2 个发夹环结构,这就需要内切酶的参与,内切酶在一定范围内以一定几率切割“发夹环”的不同位点,导致环结构的消除;DNA 重新合成、修复,结果产生不同长度和排列的足迹。本研究材料中,内切酶在贡献位点的下一个碱基处切割,修复完成后,出现 2 个碱基对的颠换。与野生型相比,*Ds* 跳跃的结果是残留 8 个碱基,并伴有 1 个(实际 2 个)碱基对的转换。

3 讨论与结论

由于 *Ds* 的插入导致编码假拟氧化还原酶蛋白的基因正常功能改变,出现矮秆突变体 (MT)。这种改变有 2 种可能:(1)*Ds* 参与蛋白表达。*Ds* 可参与该基因(也可能是其他基因)的正常表达,两者形成一种“新的”基因;因为 *Ds* 条带的加入导致原有氨基酸链的增加或改变其折叠结构等,产生一种新的蛋白,最终导致原来基因功能的改变。这种蛋白可能



step1中三角形指示外切酶切离位点；step2、3分别为Ds插入、DNA修复机制下空缺碱基补全；step4中箭头指示转座酶介导下的切离位点；step5中断裂的DNA链延5'→3'方向连接，弯箭头处即为贡献位点；step6为形成的2个发夹环结构，黑色三角形指示内切酶切位点；step7为内切酶切离后，断裂的双链开始连接；step8为双链连接的同时伴有DNA的修复，最终形成8个碱基的足迹（红色字体）。

图5 “内切酶模式”转座机制

参与到水稻生理作用，也可能被其他酶降解，没有发挥作用。

(2)Ds 不参与表达。只是因为长达 4.6 kb 的 Ds 核苷酸链的插入导致该基因表达的中断，使其丧失正常表达功能，合成出其他有用或无用的蛋白。也可能因为 Ds 的插入，影响附近 DNA 链的空间结构，从而链式影响到周围相关基因的表达，产生突变体 MT。总之，不管哪种可能，都会改变该基因原有功能，导致该基因无法正常编码假拟氧化还原酶蛋白。

RT 中出现 Ds 跳跃，株高得以回复（与 WT 相差不到 5 cm），同时伴有新性状颖壳杂斑的出现。因为 Ds 的跳跃，编码假拟氧化还原酶基因得以回复原有结构，但又有一点小差异，多了“CATCATGA”8 个碱基。单从株高上分析，因为有 Ds 在该假拟氧化还原酶蛋白基因上切离，RT 株高得以回复，接近野生型。结合 MT 因为有 Ds 在该基因的插入，表型矮化的特征，可以说明该编码假拟氧化还原酶基因对株高的维持具有重要作用。现在难以确定的是 RT 中 Ds 跳跃后是插在了其他表达基因上，抑或插在非表达区，还是跳跃后被降解消失了，总之，Ds 跳跃后的去向还有待研究。目前，使用 TAIL-PCR 的方法还没有检测到新的转座位点，这就难以对该基因的功能作出更具体的判断。因为可能是 Ds 跳跃后插入新的表达基因，从而产生无法预知的变化，比如 RT 出现的颖壳带有杂斑就是佐证。

植物矮化常与 GA、BR 的代谢有关，尤其是 GA。GA 是植物生长发育过程中一类重要的调节激素，对茎的伸长和植株增高具有重要的促进作用。目前的研究显示，在 GA 的合成中，有 3 种酶起到基本作用，GA2 氧化酶、GA3 氧化酶和 GA20 氧化酶，这 3 种酶都具有保守的 2OG-Fe(II) 加氧酶蛋白结构域，属于 2OG-Fe(II) 加氧酶蛋白超家族^[11-14]，如黄瓜的 GA2 氧化酶、玉米的 GA3 氧化酶 1、烟草的 GA2 氧化酶 4、梗稻 GA3-β 羟化酶（即 GA3 氧化酶）等，都具有保守的 2OG-Fe(II) 加氧酶蛋白结构域。

本研究中的假拟氧化还原酶，同样具有保守的 2OG-Fe(II) 加氧酶蛋白结构域，属于 2OG-Fe(II) 加氧酶超家族，且从上述研究不难推断，该蛋白可能对水稻株高的维持具有重要作用。本研究中的假拟氧化还原酶蛋白是否影响到 GA 的正常合成还有待进一步的研究和验证，揭示该基因真正的功能和作用机制。

参考文献：

- [1] Matsumoto T, Wu J Z, Kanamori H, et al. The map-based sequence of the rice genome[J]. Nature, 2005, 436(7052): 793-800.
- [2] Guiderdoni E, Gantet P. Ac-Ds solutions for rice insertion mutagenesis[J]. Methods in Molecular Biology, 2012, 859: 177-187.
- [3] Jin W Z, Wang S M, Xu M, et al. Characterization of enhancer trap and gene trap harboring Ac/Ds transposon in transgenic rice[J]. Journal of Zhejiang University-Science, 2004, 5(4): 390-399.
- [4] Ito Y, Eiguchi M, Kurata N. Establishment of an enhancer trap system with Ds and GUS for functional genomics in rice[J]. Molecular Genetic and Genomics, 2004, 271(6): 639-650.
- [5] Chin H G, Choe M S, Lee S H, et al. Molecular analysis of rice plants harboring an Ac/Ds transposable element-mediated gene trapping system[J]. Plant Journal for Cell and Molecular Biology, 1999, 19(5): 615-623.
- [6] Krishnan A, Guiderdoni E, An G, et al. Mutant resources in rice for functional genomics of the grasses[J]. Plant Physiology, 2009, 149(1): 165-170.
- [7] Fujino K, Sekiguchi H. Transposition behavior of nonautonomous a hAT superfamily transposon nDart in rice (Oryza sativa L.)[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2011, 286(2): 135-142.
- [8] Yamamuro C, Ihara Y, Wu X, et al. Loss of function of a rice brassinosteroid insensitive 1 homolog prevents internode elongation and bending of the lamina joint[J]. Plant Cell, 2000, 12(9): 1591-1606.
- [9] Dayan J, Schwarzkopf M, Avni A, et al. Enhancing plant growth and fiber production by silencing GA 2-oxidase[J]. Plant Biotechnology Journal, 2010, 8(4): 425-435.
- [10] Itoh H, Tatsumi T, Sakamoto T, et al. A rice semi-dwarf gene, Tan-Ginbozu (D35), encodes the gibberellin biosynthesis enzyme, ent-kaurene oxidase[J]. Plant Molecular Biology, 2004, 54(4): 533-547.
- [11] Itoh H, Ueguchi-Tanaka M, Sentoku N, et al. Cloning and functional analysis of two gibberellin 3β-hydroxylase genes that are differently expressed during the growth of rice[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,

陶宏卫,郭广富,曹军平,等.猪圆环病毒Ⅱ型盐城株的全基因组克隆与序列分析[J].江苏农业科学,2018,46(16):39-41.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.16.009

猪圆环病毒Ⅱ型盐城株的全基因组克隆与序列分析

陶宏卫¹,郭广富¹,曹军平¹,申建荣²,张晋川¹,练国俊¹,朱爱萍¹,张佳浩¹,朱金其³

(1.江苏农牧科技职业学院动物医学院,江苏泰州 225300; 2.江苏泰州泰牧动物医院,江苏泰州 225300;

3.江苏滨海鸿盛生猪饲养有限公司,江苏滨海 224500)

摘要:采用 PCR 方法对采集自盐城地区的疑似猪圆环病毒病病料进行猪圆环病毒Ⅱ型(PCV 2)全基因组的扩增,确定了 2 份病料中的 PCV 2 的分子特征,分别命名为 BH07 株和 BH11 株,对其进行克隆、测序后,应用软件进行全基因组核苷酸序列比对分析。结果显示,BH07 株基因全长 1 767 bp,BH11 株全长为 1 766 bp,它们与天津的 AY181946 株同源性分别为 97.6%、97.8%;通过与 6 个不同基因亚型的 8 个参考株的猪圆环病毒全基因组序列进化分析,发现 BH07 株和 BH11 株均为 PCV2d 亚型。

关键词:猪圆环病毒Ⅱ型;全基因组;序列分析

中图分类号: S852.65;S858.285.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2018)16-0039-03

猪圆环病毒(porcine circovirus, PCV)为圆环病毒科(Circoviridae)、圆环病毒属(*Circovims*),是迄今为止发现的最小的动物病毒之一。根据致病性、抗原性以及核酸序列的不同,将 PCV 分为 PCV1 和 PCV2 这 2 个血清型。PCV2 感染猪

收稿日期:2016-10-14

基金项目:横向课题(编号:00010115009);江苏农牧科技职业学院级课题(编号:NSFPT201511、NSFPT201604);江苏省泰州市农业支撑项目(编号:TN201423)。

作者简介:陶宏卫(1976—),男,江苏泰州人,硕士,讲师,从事动物医学类教学及科研工作。E-mail:2260973045@qq.com。

通信作者:郭广富,硕士,讲师,从事动物医学类教学及科研工作, E-mail:ggf66@sina.com;曹军平,博士,教授,从事动物医学类教学、科研及社会服务工作, E-mail:cccc62@163.com。

2001,98(15):8909-8914.

[12] Pimenta L J, Liebrandt A, Arnold L, et al. Functional characterization of gibberellin oxidases from cucumber, *Cucumis sativus* L. [J]. Phytochemistry, 2013, 90:62-69.

[13] Spielmeyer W, Ellis M, Robertson M, et al. Isolation of gibberellin and metabolic pathway genes from barley and comparative mapping in barley, wheat and rice [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109(4):847-855.

[14] Wu J Z, Mizuno H, Sasaki T, et al. Comparative analysis of rice genome sequence to understand the molecular basis of genome evolution [J]. Rice, 2008, 1(2):119-126.

[15] Lo S F, Yu S M, Chen L J. Activation tagging of a newly identified gibberellin 2-oxidase causes a dwarf phenotype in a T-DNA insertion mutant [J]. Plant Physiology, 2006, 132(3):1283-1291.

[16] Teng F, Zhai L H, Liu R X, et al. *ZmGA3ox2*, a candidate gene for a major QTL, qPH3.1, for plant height in maize [J]. Plant Journal, 2013, 73(3):405-416.

[17] Kim C M, Piao H L, Park S J, et al. Rapid, large-scale generation of *Ds* transposant lines and analysis of the *Ds* insertion sites in rice [J]. Plant Journal, 2004, 39(2):252-263.

[18] Sun B Y, Piao H L, Park S H, et al. Selection of optimal primers for

群能引起断奶仔猪多系统衰竭综合征(postweaning multisystemic wasting syndrome, PMWS)、猪皮炎和肾病综合征(porcine dermatitis and nephropathy syndrome, PDNS)、猪呼吸道疾病综合征(porcine respiratory disease complex, PRDC)及怀孕母猪繁殖障碍(sow abortion and mortality syndrome, SAMS)等^[1]。血清学和病原学调查证实, PCV2 呈世界性分布,给养猪业造成巨大的经济损失^[2-3]。PCV2 基因组大小约 1.7 kp, 包括 5 个基因亚型: PCV2a、PCV2b、PCV2c、PCV2d 及 PCV2e^[4]。

本研究通过盐城地区疑似发生 PMWS 的 2 个养猪场采集病料, PCR 扩增 PCV2 全基因组, 并进行序列测定和比较分析, 旨在了解 PCV2 的遗传变异情况, 为今后的深入研究和科学防控该病提供依据。

TAIL-PCR in identifying *Ds* flanking sequences from *Ac/Ds* insertion rice lines [J]. Chinese Journal Biotechnology, 2004, 20(6):821-826.

[19] Takeda K. Internode elongation and dwarfism in some gramineous plants [J]. Gamma Field Symposia, 1977, 16:1-18.

[20] Buell C R, Yuan Q, Ouyang S, et al. Sequence, annotation, and analysis of synten between rice chromosome 3 and diverged grass species [J]. Genome Research, 2005, 15(9):1284-1291.

[21] Bai L, Singh M, Pitt L, et al. Generating novel allelic variation through activator insertional mutagenesis in maize [J]. Genetics, 2007, 175(3):981-992.

[22] Zhou L, Mitra R, Atkinson P W, et al. Transposition of *hAT* elements links transposable elements and V(D)J recombination [J]. Nature, 2004, 432(7020):995-1001.

[23] Scott L A, Lafoe D, Weil C F. Adjacent sequences influence DNA repair accompanying transposon excision in maize [J]. International Conference on Educational & Information Technology, 1996, 1:183-189.

[24] Lazarow K, Doll M L, Kunze R. Molecular biology of maize *Ac/Ds* elements: an overview [J]. Methods in Molecular Biology, 2013, 1057:59-82.