外源DNA导入大豆其后代的同工酶酶谱分析*

卢翠华 雷勃钧 李希臣 钱 华 吕云波

(黑龙江省农科院生物研究中心)

摘 要

采用聚丙稀酰胺凝胶电泳的方法,对通过外源DNA导入法所获的大豆变异后代,进行过氧化物酶和酯酶的酶谱分析。其结果是酶谱谱带清晰,变异后代与亲本的谱带有明显差异,并与该材料的表型性状相一致。因此,我们认为可以用同工酶分析法做为鉴定外源DNA导入大豆的生化指标之一。

关键词 大豆;外源DNA;过氧化物酶;酯酶;酶谱

近年来,国内外许多研究都以同工酶为"生化指标"来探讨高等植物中的许多理论和实践问题,作物杂种优势的预测就是其中一项。后代中的"互补带"、"杂种带"、"酶活性"都是通过同工酶分析来完成的。借鉴于此,我们也利用同工酶分析技术,鉴定外源DNA直接导入大豆的变异后代,试图从遗传学角度验证供体的基因是否已整合到受体基因组中,为大豆的分子育种提供理论依据。

材料和方法

供试材料 受体黑农34,供体龙泉大豆及后代(D_3)共八份材料,列于表1。

样品制备 将种子发芽,芽长1厘米时剪下,称芽1.5克加样品提取液4毫升,冰浴研磨成匀浆,以4000转/分离心10分钟,取上清液,分别装入小瓶,放入冰箱冷冻贮藏备用。

电泳 采用薄层垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳法,浓缩胶浓度为2.8%,分离胶浓度为7.5%,电极缓冲系统为pH8.3的Tris—甘氨酸,每板12个样品,每穴加样70微升,每个样品电流强度为2毫安,可重复点样,在4℃冰箱内电泳,历时6~7小时。

染色 过氧化物酶染色采用醋酸联苯胺染色法,谱带呈棕褐色。酯酶染色采用α萘酯

* 本文于1993年8月2日收到。
This paper was received on Aug. 2, 1993.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

表 1 大豆农艺性状及同工酶酶谱迁移率(Rf)

Table 1 Agronomic character and Rf of the isozyme pattern of the soybean

编号 No.	材料 Material	种皮色 Seed colour	百粒重(g) 100-seed weight	过氧化物酶同工酶的迁移率 Rf of the peroxidase isozyme							
				0.13	0.25	0.28	0.31	0.34	0.40	0..53	0.56
1	受体黑农 34 Recipient Heinong 34	黄色 yellow	21.8	+	0	0	0	+	+	+	+
2	供体龙泉大豆 Donor Longquandadou	花色 mixed colou	31.1	+	0	+	0	+	+	+	0
3	D_3 554	黄色 yellow	21.5	+	+	0	0	+	+	+	+
4	D_3 555	黄色 yellow	24.0	+	+	0	0	+	+	+	+
5	D_3 556	黄色 yellow	21.7	+	0	0	+	+	+	+	+
6	D_3 557	花色 mixed colour	25.3	+	+	0	0	+	+	+	+
7	D_3 558	黄色 yellow	22.0	+	+	0	0	+	+	+	+
8	D_3 559	黄色 yellow	22.4	+	+	0	0	+	+	+	+

编号 No.	材料 Material	种皮色 Seed colour	百粒重(g) 100-seed weight	酯酶同工酶迁移率 Rf of the lipase isozyme						
				0.33	0.53	0.55	0.63	0.66	0.72	0.75
1	受体黑农 34 Recipient Heinong 34	黄色 yellow	21.8	+	+	+	+	+	+	0
2	供体龙泉大豆 Donor Longquandadou	花色 mixed colour	31.1	+	+	+	+	+	0	+
3	D_3 554	黄色 yellow	21.5	+	+	+	+	+	+	0
4	D_3 555	黄色 yellow	24.0	+	+	+	+	+	+	+
5	D_3 556	黄色 yellow	21.7	+	+	+	+	+	+	0
6	D_3 557	花色 mixed colour	25.3	+	+	+	+	+	+	+
7	D_3 558	黄色 yellow	22.0	+	+	+	+	+	+	+
8	D_3 559	黄色 yellow	22.4	+	+	+	+	+	+	+

*：+表示有此带，0 表示无此带。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

坚牢兰染色法,谱带呈棕色。染色后,用清水漂洗胶板,置 7%醋酸溶液中固定,测迁移率、绘图、照像及封存干胶。

结果与讨论

一、过氧化物酶同工酶酶谱分析

供试材料的酶谱及迁移率如图 1 及表 1 所示,按谱带的集中程度分为 a、b、c 三区,谱带的差异主要发生在 b 区。

1. 受体与供体之间谱带有差异,供体比受体多出 b_2 带,而又比受体少 c_2 带,这与它们的表型性状不同所决定,见表 1。

2. 迁移率为 0.40 的供体 b_5 带,带幅宽,颜色深、酶的活性强,不同于受体。

3. 6 个后代材料中,都含有供体的一条谱带,分别为 b_1、b_2、b_3,而受体不含此带,但它们的迁移率不同。

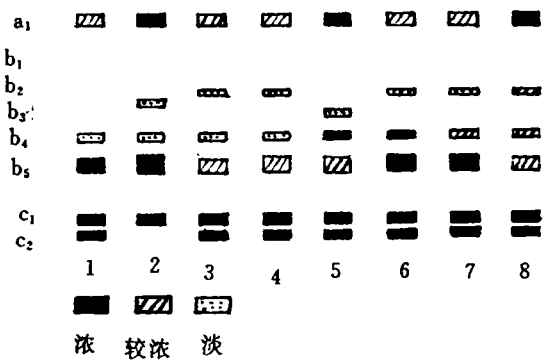

图 1　大豆过氧化物酶酶谱示意图

Fig. 1　Peroxidase isozyme patterns of soybean

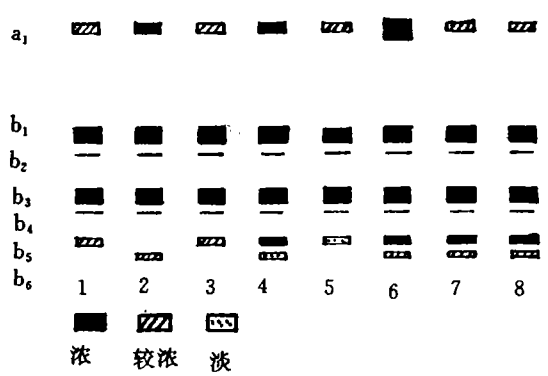

图 2　大豆酯酶酶谱示意图

Fig. 2　Lipase isozyme patterns of soybean

4. 6 号材料,b_4 和 b_5 带,颜色深,浓于受体与供体,这可能是谱带发生了重合现象,而

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

6号材料的农艺性状又特别接近供体，种皮色为花色，百粒重高于受体。

二、酯酶同工酶酶谱分析

酯酶同工酶的酶谱及迁移率如图2及表1所示，谱带数目多，带幅窄，多数集中在中下部，差异也在下部。各材料之间差别不太大，唯一的差别是最下面的一条谱带，后代中基本上含有一条供体的谱带 b_6，而受体不含有此带，后代中酶的活性强，特别是6号材料，a_1 和 b_5 带酶活性最强，这与过氧化物酶的酶谱特点一样。

综上所述，外源DNA导入大豆其后代的同工酶酶谱有明显变化，其中过氧化物酶在本组合中表现的差异比酯酶更为明显。酶谱间的差异与它们的农艺性状(株型、种皮色及百粒重)的差异是一致的。这说明酶的差异能够反映基因及性状的差异，受体导入了外源DNA后，同工酶系统发生了质和量的变化。因此，用同工酶技术对由于导入外源DNA而引起的变异后代进行分析鉴定是一种简单可行的方法，进而从分子水平上为外源DNA导入技术提供理论依据。

参 考 文 献

[1] 周光宇：1978，从生物化学角度探讨远缘杂交理论，中国农业科学，(2)：16～18

[2] 雷勃钧等：1989，外源野生大豆导入栽培大豆引起变异，中国油料，(3)：11～13

[3] 卢翠华等：1991，外源DNA导入栽培大豆的后代过氧化物同工酶酶谱分析，中国油料，(3)：35～36

AN ANALYSIS OF ISOZYME PATTERNS IN PROGENIES OF SOYBEAN RECEIVED FOREIGN DNA

Lu Cuihua Lei Buojun Li Xichen
Qian Hua Lu Yunbo

(*Biotechnology Research Center, Heilongjiang Academy of Agri. Sci.*)

Abstract

With the method of polyacrylamide gel electrophoresis analysis of the patterns of peroxidase and lipase for introduced foreign DNA in soybean was conducted. The result was that the difference of the bands was clear and obviously different in the parents and their progenies and it was corespondent with the phenotypes. Therefor, we think that isozyme can be used as a biochemical indicater for evaluating soybean having received foreign DNA.

Key words Soybean; Foreign DNA; Peroxidase; Lipase; Pattern

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n