

烟草花叶病毒外壳蛋白嵌合基因的重组 (简报)

王 钧 胡运乾

(中国科学院昆明植物研究所)

(中国科学院上海植物生理研究所)

RECOMBINATION OF A CHIMERIC COAT PROTEIN GENE OF TOBACCO MOSAIC VIRUS

Wang Jun, Hu Yunqiang

(*Kunming Institute of Botany, Academia Sinica*)

(*Shanghai Institute of Plant Physiology, Academia Sinica*)

关键词 烟草花叶病毒; 嵌合基因; 外壳蛋白; Ti质粒

Key words Tobacco Mosaic Virus; Chimeric gene; Coat protein; Ti plasmid

烟草花叶病在云南烟区普遍流行。通过ELISA和RNA斑点杂交法, 我们已证明云南烟区烟草花叶病毒外壳蛋白和已知RNA序列的普通烟草花叶病毒OM株同源。我们拟根据交叉保护原理, 通过植物基因工程手段来培育抗烟草花叶病的烟草新品种。为此, 对OM株外壳蛋白基因进行了下述重组工作。

首先, 我们对OM株外壳蛋白基因工作, 得到C-DNA株pCK501。然后, 切取其中带外壳蛋白基因的667bp *Hinf* I 片段, 导入带花椰菜花叶病毒35S启动子和3'末端质粒pDH51的聚核苷酸接头中, 组成带烟草花叶病毒外壳蛋白基因的嵌合基因的重组质粒pCK401。又把整个嵌合基因导入pGV1103 *neo*, 和嵌合的新霉素磷酸转移酶 II (NPT II) 基因及新霉素磷酸转移酶 I (NPT I) 基因相连接, 组成中间载体pCK403。最后在大肠杆菌GJ23帮助下, 把pCK403导入土壤杆菌, 和土壤杆菌中原有的去了致瘤基因的Ti载体pGV3850的T-DNA区pBR322片段进行同源重组, 把嵌合基因导入Ti质粒的T-DNA区, 得到pACK403。

这个嵌合的外壳蛋白基因含最强的植物启动子——花椰菜花叶病毒35S启动子, 预期在植物中会转录出大量外壳蛋白的mRNA; 又由于保留完整的外壳蛋白5'非翻译区顺序, 加上嵌合mRNA也会有较强的转译活性。和嵌合的外壳蛋白基因连接的嵌合NPT II基因在植物中会表达抗卡那霉素活性, 在用pACK403来转化植物时, 容易从未转化细胞中挑出带嵌合外壳蛋白基因的细胞。目前, 通过pACK403和烟草共培养进行植物转化的工作正在进行之中。