

应用精子载体法导入外源 DNA 影响家蚕遗传性的研究

Study on Effect of External DNA Introduction by Sperm Vector Method on Inheritance of the Silkworm, *Bombyx mori*

我们曾经实验表明, 无论采用直接注射幼虫方法, 还是采用精子介导的/ 交配囊法⁰, 将外源 DNA 导入蓖麻蚕或家蚕体内, 都有可能改变受体的某些遗传特性, 有的变异还可以遗传并育成稳定的新品系。实验结果还表明, 采用不同品种的家蚕 DNA 导入同一品种的蓖麻蚕体内, 对遗传性有不同的影响。为了进一步探讨外源 DNA 对家蚕的遗传作用, 也为了进一步验证精子介导的转基因技术在蚕上实际应用的可行性, 本研究采用我们建立的/ 交配囊导入法⁰, 将不同种属的蓖麻蚕和柞蚕 DNA 导入家蚕处女蛾交配囊内, 并与同种雄蛾交配, 获得受精卵, 观察由此受精卵发育的幼虫的性状特征, 对其基因组 DNA 进行 RAPD 检测。同时还设立导入自身(受体) DNA 的试验对照组和自交对照组。

为了从分子水平上验证/ 交配囊导入法⁰技术的可行性, 将带有绿色荧光蛋白(GFP)基因在家蚕中能表达的 pG350 质粒 DNA 导入处女蛾交配囊内, 在和同种雄蛾交配, 获得受精卵, 并从其 G₀ 和 G₁ 代的早期幼虫(蚁蚕)提取 DNA 进行 PCR 检测和 Southern blot 检测。

实验结果表明, 注入蓖麻蚕或柞蚕 DNA 的家蚕当代(D₀), 即由实验卵孵出的幼虫中, 出现了变异个体; 在正常情况下受体幼虫身上有斑纹, 在变异个体身上斑纹消失表现为白蚕, 变异性状能稳定地遗传, 经 5 代繁育均未出现分离, 已形成了新品系 BT₉₈₁ 和 BT₉₈₂。

在 D₁ 和 D₂ 代凡是导入外源 DNA, 包括导入受体自身 DNA 的试验组内, 都出现有卵色或卵滞育特性的变化, 但这种性状的变化没能在世代间稳定地

传递。

对新品系的 RAPD 检测发现, 在 BT₉₈₁ 的 D₀ 和 D₁ 代的扩增图谱中, 变异带(包括供受体中没有出现的新带, 缺失受体中所固有的扩增带, 以及个别与供体相同的目的带)分别占总带数的 43% 和 16%, 在试验对照组(D₀)中, 也出现 10% 的变异带。

分子验证试验表明, 在导入 GFP 基因的试验组 G₀ 代, PCR 阳性率为 3517% (5/14), G₀ 代检测 PCR 为阳性个体, 在 G₀ 和 G₁ 代 Southern blot 为阳性反应。

所得的试验结果提示: (1) 采用/ 交配囊导入法⁰以精子为载体转移外源基因技术, 在家蚕是可行的; (2) 外源 DNA 可能改变受体基因组的结构, 或干扰受体某些基因正常的表达调控, 从而引起表型的变化, 这种现象在大多数情况下与传统意义上的/ 转化现象⁰不同, 它是由于外源 DNA 作用改变了某些基因的表达和调控, 或者使某些本来开启的基因关闭, 如本实验中出现的幼虫斑纹消失, 个体由花蚕变为白蚕; 或者使本来关闭的基因重新开启, 如我们以前实验中出现的蓖麻蚕幼虫个体又由白蚕变为花蚕。由外源 DNA 作用引起的表型改变虽然是随机的, 但从某些性状变异的重演性(如蚕幼虫的斑纹, 家蚕的卵色和滞育特性)来看, 似乎对基因组的影响存在 / 热点⁰。

桂慕燕 叶向群 左正宏 吴春旭 陈元霖
(厦门大学生命科学学院, 厦门 361005)
羿红 朱明贞 林友照
(福建省蚕桑科学研究所, 福州 350003)