

同,也在 1 Mb 左右。因此 BAC-FISH 也不会降低定位的精确度。常规 FISH 技术包括探针的标记及纯化、探针与染色体的杂交、信号检测 3 个主要步骤, BAC-FISH 技术的方法在此基础上增加了 Cot1-DNA 的制备 (Michael et al, 1997) 和 Cot1-DNA 对探针的封阻 2 个重要步骤。Jiang 1996 年曾报道在间期核及中期分裂相中的信号检出率为 50%~90%, Yan 在 1998 年对 Pi-5 (t), Glh 及 RTSV 等基因的 BAC 克隆原位杂交定位信号检出率分别达到 46.8% 和 59.2%, 远高于过去的 RFLP (约 6%) 等探针。此外, 与动物和人不同, 植物染色体多数趋于具中间着丝粒和亚中间着丝粒, 近端点着丝粒的染色体很少, 从而造成了植物核型分析的困难。用传统的核型分析技术很难识别各条染色体。1995 年, Hanson 等人用来自含有山地棉 *G. hirsutum* (基因组型为 AADD) 多个单拷贝序列的 BAC 克隆作为探针对 2 种二倍体 (基因组型分别为 AA 和 DD) 棉花进行荧光原位杂交, 检测到了很强的荧光信号。这

预示着 BAC 克隆等分子细胞遗传学标记的发展为植物基因组的核型分析提供了新的思路, 这就有可能通过染色体上特异性的 DNA 序列作为分子标记, 通过 BAC-FISH 把染色体识别区分开来。将 BAC 克隆与具有高灵敏度的 FISH 技术 (以下简称 BAC-FISH) 结合, 无疑将大大促进植物基因组的研究, BAC-FISH 的结果可以确定基因在染色体上的真实位置, 这对于深刻认识基因间的真实连锁关系和染色体结构、改造染色体结构、目的基因的分离, 以及基因工程育种都是很重要的。定位结果还可以用于对遗传图与物理图的比较, 检验遗传图中基因次序与臂区划分的准确性。BAC-FISH 的高效精确的定位效果, 亦必将大大促进植物的比较染色体图的发展与完善。由于 BAC 克隆本身携带外源 DNA 片段的高容量特性, 无疑将进一步完善植物基因组比较染色体图, 揭示植物在进化上的来龙去脉, 促进重要的经济作物的遗传育种研究。

## 外源基因 *brn* 及 *hph* 对籼稻的遗传转化及其在受体中的遗传研究

凌定厚, 陶利珍, 马镇荣

(中国科学院华南植物研究所, 广州 510650)

以基因枪介导, 将花粉特异性核糖核酸酶基因 (*ps1-barnase* 下简称 *brn*) 及选择基因 (潮霉素磷酸化霉基因, 下简称 *hph*) 转入籼稻 *basmati-1* 等 4 个品种中。*brn* 只在花粉发育时在花粉中表达, 可引起转基因植株雄性不育, 为本试验的目的基因。*hph* 对除草剂 *hygromycin* 具有抗性, 为本实验的选择标记。本实验以这两个基因作共转化, 在转化过程中通过 *hygromycin* 对靶组织、抗性克隆及再生植株作多次不断地筛选而获得转基因植株。以 *brn* 及 *hph* 二基因的质粒 DNA 为探针, 对抗性再生植株 (拟转基因植株) 的核 DNA 作 southern blot 分子杂交证实了外源基因 *brn* 及 *hph* 整合到水稻的核基因组中。对 R0 代阳性转基

因植株表达的研究证实, *brn* 的阳性转基因植株是雄性不育的; *hph* 的阳性转基因植株可在含 *hygromycin* 的培养基上生长, 对 *hygromycin* 具有抗性。外源基因可遗传至后代, 它们在受体中的遗传规律如下:

(1) *brn* 基因在转基因植株后代中的遗传与表达: 对转基因植株的自交一代 (T1)、回交一代 (B1F1) 植株的核 DNA 分子分析 (点杂交, 基因型分析) 表明, *brn* 基因在后代中的分离与其表型 (育性) 的分离是一致的。其分离比依插入点位不同而异, 表现有 1 (阳性/不育): 1 (阴性/可育, 下同), 乃为一个点位的插入; 3:1 (两个点位), 最多观察到 3 个点位的插入 (7:1)。这表

明 brn 为显性遗传。T1 代与 B1F1 代的分离比一致表明 brn 基因对雄配子是致死的, 它只能通过雌配子传递。在转基因植株的后代(自交及回交后代)中, brn 阳性植株均表现为雄性不育或部分不育, 它们育性的表达与 T0 代一致; 而 brn 基因的阴性植株, 则为完全可育。分子检测的结果还表明, 除个别外, 所有的反交组合(供体亲本为母本与 T0 杂交) R1F1 的核 DNA 中均无 brn 的信号, 而且 R1F1 表现为可育。这从另一个侧面证实 brn 基因只能通过雌配子遗传。在一个反交组合(BN4/Basmati) R1F1 的核 DNA 中检测到 brn 的信号(brn 阳性), 但 brn 基因并不表达, 即 brn 阳性植株仍然表现为可育。

(2) hph 基因在转基因植株后代的与遗传表达: 研究了 hph 基因在 Basmati-1 的 T1、T2 和 T3 等各个世代的遗传与表达。对 T1 家系中各个体核 DNA 进行分子检测(点杂交)发现, 在 T1 代中, hph 阳性植株与阴性植株的分离比普遍为 3:1。表明 hph 基因在受体中的遗传符合单一位点显性基因控制的孟德尔遗传法则。在 T1 及 T2 代

均观察到一些异常的分離比。有一些自交株系(T1 代) hph 阳性植株与阴性植株的分离比不是预期的 3:1 而是 1:1。在 T2 代大多数株系仍然表现为 3:1 的分离比。但是在少数株系中观察到 3:1 与 1:1 的分离在世代间出现交互发生的情况。即在 T1 代为 3:1 的株系在 T2 代表现为 1:1 的分离; 或者相反, 在 T1 代表现为 1:1 的株系, 在 T2 代表现为 3:1 的分离。

(3) 外源基因的沉默与沉默基因的活化: 上文述及的反交组合(BN4/Basmati) R1F1 的核 DNA 中检测到 brn 的信号, 但 brn 阳性植株仍然表现为可育的现象, 及 hph 基因在 T1 及 T2 代呈 1:1 的异常分离比均为外源基因沉默所致。而 hph 基因为 1:1 分离比的株系其后代又回复到 3:1 的情况乃是沉默基因活化所致。

(4) brn 与 hph 两基因的相互作用: 在大多数情况下, 在转基因植株中 brn 与 hph 两基因表为相互连锁, 其遗传行为完全一致。在研究的 3 个品种中只有 2 个品种观察到 brn 与 hph 两基因发生重组, 重组率在 10% 以下。

## 轮回杂交中杂种优势大小的变化规律

毛盛贤

(首都师范大学生物系, 北京 100037)

本文重点研究了轮回杂交各世代杂种优势大小的变化规律, 为杂种优势利用的杂交方式选择提供理论依据。

首先, 根据若干早期回交世代的平均杂合度, 推出了二品种和三品种轮回杂交平均杂合度(H)的递推方程分别为

$$H_{n+2} - \frac{1}{2} H_{n+1} - \frac{1}{2} H_n = 0 \quad (1)$$

$$H_{n+3} - \frac{1}{2} H_{n+2} - \frac{1}{4} H_{n+1} - \frac{1}{4} H_n = 0 \quad (2)$$

式中为  $H_{n+i}$  为  $(n+i)$  代的平均杂合度。因此, 在已知若干早期世代平均杂合度条件下, 根据方程(1)和(2)可分别逐代求得二品种和三品种轮回杂交世代的平均杂合度或杂种优势大小(因在显性效应模型下, 子代杂种优势由其平均杂合度决定)。但

(1)和(2)有缺点: 为了求第  $n$  代的杂合度(杂种优势), 必须求出  $n$  代以前所有世代的杂合度; 平均杂合度随世代  $n$  的变化规律也欠直观。为了克服这些缺点, 通过解二阶和三阶线性常系数齐次差分方程的方法, 得以上二递推方程的通解分别为

$$H_n = \frac{2}{3} + \frac{1}{3} \left(-\frac{1}{2}\right)^n \quad (3)$$

$$H_n = \frac{6}{7} + \frac{1}{7} \left(-\frac{1}{2}\right)^n \cos n \left(\frac{2}{3}\pi\right) - \frac{2}{7\sqrt{3}} \left(\frac{1}{2}\right)^n \sin n \left(\frac{2}{3}\pi\right) \quad (4)$$

从(3)知, 二品种轮回杂交的杂合度或杂种优势大小, 随着世代  $n$  的增加, 围绕  $2/3$  作上下波动, 平衡时的稳定值为  $2/3$ 。从(4)知, 三品种轮回杂交的杂种优势大小, 随着  $n$  的增加, 围绕  $6/7$  作上下波动,