

生物技术

烟草T-DNA插入位点侧翼序列扩增方法的筛选与优化

刘慧^{1,3}, 刘贯山¹, 刘峰^{2,3}, 龚达平¹, 张雪峰^{1,3}, 崔萌萌¹, 路铁刚², 王元英¹

1. 中国农业科学院烟草研究所, 中国农业科学院烟草遗传改良与生物技术重点开放实验室, 青岛 266101;
2. 中国农业科学院生物技术研究所, 北京 100081;
3. 中国农业科学院研究生院, 北京 100081

摘要:

烟草T-DNA激活标签插入突变体库的创制过程中, 需要进行大量的T-DNA插入位点的侧翼序列扩增, 因此选择一种适用于烟草T-DNA侧翼序列扩增的高效方法尤为必要。本研究比较了TAIL-PCR、PCR-walking、FPNI-PCR三种方法对T-DNA插入位点侧翼序列的扩增效率、插入位点确定的比例和同源蛋白比对结果, 并对3种方法的PCR程序、体系和引物设计等方面进行了优化, 确定TAIL-PCR更适合烟草的侧翼序列扩增, 通过产率、条带长度、插入位点和同源蛋白比对结果的比较, 得出TAIL-PCR更适合烟草的侧翼序列扩增。这一结果为应用烟草突变体开展烟草基因功能的研究奠定了基础。

关键词: 烟草 T-DNA 插入位点 侧翼序列 筛选

收稿日期 2013-01-08 **修回日期** 2013-06-19 **网络版发布日期**

DOI: 10.13496/j.issn.1007-5119.2014.01.018

基金项目:

中国烟草总公司烟草基因组计划重大专项项目“烟草突变体库创制、筛选与分析”[110201101009 (JY-03)]; “烟草突变体筛选与鉴定”[110201201004 (JY-04)]; “烟草全基因组过表达和RNA干涉体系构建”(110200902036)

通讯作者: 王元英

作者简介: 刘慧, 女, 在读硕士, 研究方向为烟草分子育种。E-mail: liuhui20062988@126.com。