



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116445540 A

(43) 申请公布日 2023. 07. 18

(21) 申请号 202310475108.5

(22) 申请日 2023.04.27

(71) 申请人 中国科学院华南植物园

地址 510000 广东省广州市天河区兴科路
723号

(72) 发明人 邓书林 张艺 杨选钢 吕善武

(74) 专利代理机构 广州科粤专利商标代理有限
公司 44001

专利代理师 刘明星 朱聪聪

(51) Int. Cl.

C12N 15/84 (2006.01)

C12Q 1/24 (2006.01)

权利要求书1页 说明书5页
序列表(电子公布) 附图4页

(54) 发明名称

一种甘薯曲叶病毒侵染性克隆的构建方法
及甘薯高效简易的侵染方法

(57) 摘要

本发明公开了一种甘薯曲叶病毒侵染性克隆的构建方法及甘薯高效简易的侵染方法。是将1.01个重复的甘薯曲叶病毒基因组序列插入到双元载体中,得到甘薯曲叶病毒侵染性克隆。本发明提供了一种解决甘薯曲叶病毒接种天然宿主甘薯侵染率低的方法。通过发病症状的观察和PCR的检测,本发明成功将甘薯曲叶病毒的对不同品种甘薯接种率均提高到了100%。另外,本发明所提供的方法不仅高效,而且操作简易,可以实现大规模的接种及筛选,能为后续筛选抗性品种及甘薯曲叶病毒与甘薯相互作用的研究提供技术上的有力支持。

GTTTAAATGAGGAGCCCTCTCCTGGATTGCAAGGAAGATAGTGGGAATCCGCCCTT
AATTGAACTGGCTCCCGTATTACAGTTGGATTGCCAGTCTTCGGGCCCCATGA
ATTCCTTAAAGTGTCTTAGGTAITGGGGGTTGACGTCAJCAATGACGTTATACCAAGCA
CTATTGCTGTACACTTTGGACTAAGATCTAAATGCCACACAAATAATGTGAGGGCC
CAAAGACCTGGCCATACTGTTTGGCTATTCTGCTTGGCCCTTCAATAACAATGGATA
TGGGTCTATCCGGCCGCGCAGGGGAATCCATGACATTTTCAGCGGCCCATCGCTGAT
AATGTCAGGAACGGCATTGAATGAAGATGAAGAAAAAGGTGAAGAATATACCGAAGG
TGGAGGAGAAAAATCCTATCTAAATTAGAACTAAATATGAAATTGAAATAAATAT
TTTTAGGGAGTTTTCCCTGATTAATTGCAACGCAGCTTCTTAGAAGCTGGCGTTAGA
GCCTCTGGGGCTGGCTAATTAGCAGTCTGCTGACCTCTCTAGCAGATCTGCCGTGGAC
CTGGAATTCACCCAGGTGAGGGTATCTCCGTCCTTGTCAACGTAGGACTTGACATCGG
ACGAGGATTTAGCTCCCTGGATGTTGGGGTGAAGGTGAGCCGACCTCGTGGGTGAGAC
AAGGTGGAAGAACTCGCTATTGTGTCAGACGAATTTGCCCTCGAACTGCAACGACACA
TGGAGGTGAGGTTCCCATCTCGTGCAGTTCCTTGGCGATGTGTATGTAATTTTATTTAT
GTTGGGTTTGGATAATGTAATAATTCTGGCTTGGCTAGGCAGTCTCTTJAGAGAGAGAACAGC
GTGGATAAGTAATGAAATAATTTCTGGCTTGTATTTTAAAGCGCTTGGAGGAGCCATT
TGGAGACACGATAAGTTCAAATGAATGGAGACTGGAGACAATATATAGTATGTCTC
CAAATGGCACTCTGGTAATTTAGAAGATCTTTTAGCTTTAATTCAAATCCGACAAC
TTGGGACCAACAAAAGGGCGGGCACCGTATTAAATTTCCGGTGCCTCCGCGCC

1. 一种甘薯曲叶病毒侵染性克隆的构建方法,其特征在於,是将1.01个重复的甘薯曲叶病毒基因组序列插入到双元载体中,得到甘薯曲叶病毒侵染性克隆。

2. 根据权利要求1所述的构建方法,其特征在於,所述的1.01个重复的甘薯曲叶病毒是在甘薯曲叶病毒的基因组序列的末端重复一个病毒复制相关的关键序列茎环结构。

3. 根据权利要求1所述的构建方法,其特征在於,是将1.01个重复的甘薯曲叶病毒基因组序列插入到农杆菌转化的双元载体pCAMBIA1300的多克隆位点中,制备得到pCAMBIA1300-SPLCV-1.01侵染性克隆。

4. 根据权利要求1所述的构建方法,其特征在於,是在甘薯曲叶病毒广州株病毒基因的末端重复一个病毒复制相关的关键序列茎环结构,并通过KpnI和XbaI双酶切位点,连接到农杆菌转化的双元载体pCAMBIA1300中,获得pCAMBIA1300-SPLCV-1.01侵染性克隆,所述的甘薯曲叶病毒广州株病毒的GenBank登录号为JX286654。

5. 根据权利要求1、2、3或4所述的构建方法,其特征在於,所述的茎环结构的核苷酸序列为AAGGCGGGCACC GTATTAATATTACCGGTGCCCGCCGCGCC,其为41bp。

6. 一种高效简易的利用甘薯曲叶病毒侵染性克隆侵染甘薯的方法,将权利要求1-5任一甘薯曲叶病毒侵染性克隆导入农杆菌AGL1菌株中,获得含有甘薯曲叶病毒侵染性克隆的重组农杆菌;将6-8叶时期的甘薯苗浸泡于含有甘薯曲叶病毒侵染性克隆的重组农杆菌菌液中,转移到清水中继续浸泡,然后在移栽基质中培养。

7. 根据权利要求6所述的方法,其特征在於,所述的甘薯曲叶病毒侵染性克隆是pCAMBIA1300-SPLCV-1.01侵染性克隆。

8. 根据权利要求6所述的方法,其特征在於,所述的将6-8叶时期的甘薯苗浸泡于含有甘薯曲叶病毒侵染性克隆的重组农杆菌菌液中是将6-8叶时期,长度15cm的甘薯苗浸泡于含有甘薯曲叶病毒侵染性克隆的重组农杆菌菌液6小时后,转移到清水中继续浸泡12小时。

9. 根据权利要求6所述的方法,其特征在於,在移栽基质中培养是甘薯苗剪去多余叶片,只保留2-3片,移栽到营养土:珍珠岩:沙子体积比例为3:1:1混合的基质中继续培养。

10. 根据权利要求6所述的方法,其特征在於,所述的含有甘薯曲叶病毒侵染性克隆的重组农杆菌菌液是含有甘薯曲叶病毒侵染性克隆的重组农杆菌用相应抗性的LB培养基过夜培养后,农杆菌重悬于完全诱导培养基中,过夜培养后,农杆菌再重悬于1/4MS浸泡缓冲液中,用于浸泡接种甘薯苗。

一种甘薯曲叶病毒侵染性克隆的构建方法及甘薯高效简易的侵染方法

技术领域

[0001] 本发明涉及基因工程以及植物病毒学领域,具体涉及一种甘薯曲叶病毒侵染性克隆的构建方法及甘薯高效简易的侵染方法。

背景技术

[0002] 甘薯兼具粮食和经济作物的功能,用途广泛,具有非常重要的经济价值。我国是世界上最大的甘薯生产国。近些年来,甘薯的病虫害,特别是病毒病害的发生日益严重。甘薯属无性繁殖作物,世代繁殖很容易感染病毒。其中,甘薯曲叶病毒(Sweet potato leaf curl virus, SPLCV)是最主要的甘薯DNA病毒。要研究病毒与宿主之间的相互作用,首要条件是在实验室条件下,获得高效、稳定、可重复的接种方法。传统的嫁接接种法难以控制侵染单一病毒,病症容易受多种因素影响,稳定性和可重复性差。甘薯曲叶病毒(SPLCV)是单链DNA病毒,属于双生病毒科(Geminiviridae),菜豆金黄花叶病毒属(Begomovirus)。目前多数双生病毒侵染性克隆是将1.2-2.0个病毒基因组串联重复连接到农杆菌二元载体,然后利用农杆菌介导的叶片渗透或者茎注射法进行病毒接种。尽管如此,SPLCV与甘薯之间互作关系的研究还基本处于空白阶段,主要原因是SPLCV侵染性克隆构建不完善,接种方法不成熟,目前已报道的接种方法效率最高只能达到20%左右。

发明内容

[0003] 本发明的目的是提供一种甘薯曲叶病毒侵染性克隆的构建方法及甘薯高效简易的侵染方法。

[0004] 本发明的甘薯曲叶病毒侵染性克隆的构建方法,其是将1.01个重复的甘薯曲叶病毒(SPLCV)基因组序列插入到二元载体中,得到甘薯曲叶病毒侵染性克隆。

[0005] 优选,是将1.01个重复的甘薯曲叶病毒(SPLCV)基因组序列插入到农杆菌转化的二元载体pCAMBIA1300的多克隆位点中,制备得到pCAMBIA1300-SPLCV-1.01侵染性克隆。

[0006] 优选,所述的1.01个重复的甘薯曲叶病毒是在甘薯曲叶病毒的基因组序列的末端重复一个病毒复制相关的关键序列茎环结构。

[0007] 优选,是在甘薯曲叶病毒广州株病毒(SPLCV-GZ02)基因的末端重复一个病毒复制相关的关键序列茎环结构,并通过KpnI和XbaI双酶切位点,连接到农杆菌转化的二元载体pCAMBIA1300中,获得pCAMBIA1300-SPLCV-1.01侵染性克隆,所述的甘薯曲叶病毒广州株病毒的GenBank登录号为JX286654。

[0008] 优选,所述的茎环结构的核苷酸序列为AAGGCGGGCACCGTATTAATATTACCGGTGCCCGCGGCC,其为41bp。

[0009] 本发明还提供了一种高效简易的利用甘薯曲叶病毒侵染性克隆侵染甘薯的方法,将甘薯曲叶病毒侵染性克隆导入农杆菌AGL1菌株中,获得含有甘薯曲叶病毒侵染性克隆的重组农杆菌;将6-8叶时期的甘薯苗浸泡于含有甘薯曲叶病毒侵染性克隆的重组农杆菌菌

液中,转移到清水中继续浸泡,然后在移栽基质中培养。

[0010] 所述的甘薯曲叶病毒侵染性克隆是pCAMBIA1300-SPLCV-1.01侵染性克隆。

[0011] 优选,所述的将6-8叶时期的甘薯苗浸泡于含有甘薯曲叶病毒侵染性克隆的重组农杆菌菌液中是将6-8叶时期,长度15cm的甘薯苗浸泡于含有甘薯曲叶病毒侵染性克隆的重组农杆菌菌液6小时后,转移到清水中继续浸泡12小时。

[0012] 优选,在移栽基质中培养是甘薯苗剪去多余叶片,只保留2-3片,移栽到营养土:珍珠岩:沙子体积比例为3:1:1混合的基质中继续培养。

[0013] 优选,所述的将6-8叶时期的甘薯苗浸泡于含有甘薯曲叶病毒侵染性克隆的重组农杆菌菌液中,甘薯苗在浸泡前用小刀将甘薯苗的藤蔓切出45度的新鲜切面。

[0014] 优选,所述的含有甘薯曲叶病毒侵染性克隆的重组农杆菌菌液,其菌液浓度为 $OD_{600}=1.0$ 。

[0015] 优选,所述的含有甘薯曲叶病毒侵染性克隆的重组农杆菌菌液是含有甘薯曲叶病毒侵染性克隆的重组农杆菌用相应抗性的LB培养基过夜培养后,农杆菌重悬于完全诱导培养基中,过夜培养后,农杆菌再重悬于 $1/4$ MS浸泡缓冲液中,用于浸泡接种甘薯苗。

[0016] 本发明是将甘薯曲叶病毒(sweet potato leaf curl virus,SPLCV)基因组中的茎环结构序列在末端重复一次,构建到pCAMBIA1300载体中,制备得到一种最小单元且高效的甘薯曲叶病毒的侵染性克隆。将该侵染性克隆通过农杆菌AGL1介导的高效简易的农杆菌浸泡接种法,可以成功侵染甘薯不同品种。本发明提供了一种解决甘薯曲叶病毒接种天然宿主甘薯感染率低的方法。通过发病症状的观察和PCR的检测,本发明成功将甘薯曲叶病毒的对不同品种甘薯接种率均提高到了100%。不仅如此,本发明所提供的方法不仅高效,而且操作简易,可以实现大规模的接种及筛选,能为后续筛选抗性品种及甘薯曲叶病毒与甘薯相互作用的研究提供技术上的有力支持。

附图说明

[0017] 图1:SPLCV-1.01序列图。加边框的“TATTAATATTA”序列是双生病毒的保守序列。其中加粗的“A”是甘薯曲叶病毒的复制起始点。下划线标记的41bp的序列是侵染性克隆两端必需的重复茎环结构。

[0018] 图2:pCAMBIA1300-SPLCV-1.01侵染性克隆示意图。

[0019] 图3:广薯87接种甘薯曲叶病毒后的发病症状。对照组是用含有pCAMBIA1300空载体的农杆菌接种,实验组是用含有pCAMBIA1300-SPLCV-1.01侵染性克隆的农杆菌接种。

[0020] 图4:PCR检测10株广薯87接种20天后(20dpi)病毒DNA含量。PCR检测病毒AV 2基因,Ibe1F基因作为内参对照。用水(H_2O)和接种空载体的广薯87植株(Mock,M)做阴性对照,1-10为接种病毒的广薯87植株。

具体实施方式

[0021] 以下结合附图对本发明作进一步详细说明。

[0022] 具体实施例仅是对本发明的解释,其并不是对本发明的限制。本领域技术人员在阅读完本说明书后可以根据需要对本实施例做出没有创造性贡献的修改,例如相应扩大培养体积以适应大规模筛选,但只要在本发明的权利要求范围内都受到专利法的保护。

[0023] 实施例

[0024] 一种甘薯曲叶病毒侵染性克隆及甘薯高效简易的接种方法,包括如下步骤:

[0025] 1、根据已经公布的甘薯曲叶病毒广州株病毒(SPLCV-GZ02)基因组(GenBank登录号:JX286654,全长2829nt)为基础,在末端重复一个长度为41bp病毒复制相关的关键序列茎环(stem loop)结构,如图1和SEQ ID NO.1所示,图1中的下划线部分为茎环(stem loop)结构。通过基因合成技术,合成全长为2870bp的SPLCV-1.01序列(图1)。通过KpnI和XbaI双酶切位点,连接到农杆菌转化的双元载体pCAMBIA1300中,获得SPLCV的侵染性克隆pCAMBIA1300-SPLCV-1.01侵染性克隆。

[0026] 2、将上述pCAMBIA1300-SPLCV-1.01侵染性克隆,通过液氮速冻,37℃热激5分钟的热激法导入农杆菌AGL1菌株,通过50mg/L卡那霉素和10mg/L利福平抗性LB平板筛选,28℃倒置暗培养2天,获得含有甘薯曲叶病毒侵染性克隆的重组农杆菌单克隆。

[0027] 3、挑取重组农杆菌单克隆于5mL含有50mg/L卡那霉素和10mg/L利福平抗性的LB液体培养基中,28℃,200rpm振荡暗培养10-12小时,得到农杆菌培养物。

[0028] 4、取上述农杆菌培养物0.5mL,接种到200mL含有50mg/L卡那霉素和10mg/L利福平抗性的LB液体培养基中,28℃,200rpm振荡暗培养过夜,得到农杆菌菌液。

[0029] 5、将上述过夜培养的农杆菌菌液3000rpm离心10min,弃上清,将农杆菌沉淀重悬于500mL含有50mg/L卡那霉素抗性的完全诱导培养基(表3)中,28℃,200rpm振荡暗培养过夜,得到农杆菌菌液。

[0030] 6、将上述过夜培养的农杆菌菌液3000rpm离心10min,弃上清,将农杆菌沉淀重悬于500mL的 $1/4$ MS浸泡缓冲液(表4)中。检测 OD_{600} ,用 $1/4$ MS浸泡缓冲液稀释菌液到 $OD_{600}=1.0$,用于甘薯接种。

[0031] 7、取6-8叶时期,长度约15cm的甘薯苗,用小刀将甘薯苗的藤蔓切出45度的新鲜切面,将甘薯苗浸泡于上述 $OD_{600}=1.0$ 的菌液中,室温避光浸泡6小时后,将甘薯苗转移到清水中,继续室温浸泡12小时。

[0032] 8、将甘薯苗剪去多余叶片,只保留2-3片叶,然后移栽到营养土:珍珠岩:沙子体积比例为3:1:1混合的基质中继续培养。

[0033] 9、分别在接种后10天,20天,取甘薯新生顶叶为材料,提取DNA,用PCR检测病毒DNA含量。

[0034] 10.以广薯87为例,在接种后20天左右出现发病症状。与接种空载体的对照组相比,接种病毒后的广薯87新生叶黄化,卷曲,顶芽生长受到明显抑制,侧芽增多(图3)。

[0035] 11.以广薯87为例,接种病毒20天后的10株甘薯新生叶片中,均可以通过PCR检测到甘薯曲叶病毒(SPLCV-AV2)的DNA(图4),而对照组没有病毒DNA,说明本方法的接种率达到100%,远高于目前已报道接种方法20%的接种率。

[0036] 表1

[0037]	20× AB 盐	1 L
	NH ₄ Cl	20 g
	MgSO ₄ -7H ₂ O	6 g
	KCl	3 g
	CaCl ₂	0.2 g
	FeSO ₄ -7H ₂ O	0.05 g
	加去离子水	补齐 1 L
	高温高压灭菌	

[0038] 表2

[0039]	诱导培养基	1 L
	2- (N-吗啉代) 乙磺酸 (MES)	9.76 g
	葡萄糖	5 g
	NaH ₂ PO ₄	0.24 g
	去离子水	800 mL
	用 NaOH 调节 pH 到 5.6	
	加去离子水	补齐 1 L
	高温高压灭菌	

[0040] 表3

[0041]	完全诱导培养基	1 L
	20× AB 盐 (已灭菌)	50 mL

[0042]	200 mM 乙酰丁香酮 (无菌)	1 mL
	相应抗生素* (无菌)	x mL
	诱导培养基 (已灭菌)	补齐 1 L
	* 利福平不是必需。	

[0043] 表4

[0044]

1/4 MS 浸泡缓冲液	1 L
Murashige and Skoog 培养基粉末	1.1g
蔗糖	10 g
200 mM 乙酰丁香酮	1 mL
Silwet L-77	100 μ L
去离子水	800 mL
用 NaOH 调节 pH 到 6.0	
加去离子水	补齐 1 L
现配现用，无需灭菌。	

AAGGCGGGCACCGTATTAATATTACCGGTGCCCGCCGCGCCCTTTAAAAATGGGCCCC
ACATGGGGACCACGCGTCTTTTCCGTACTGTCTTTAATGATTACTTTGCTTTATAAGGA
CCAATCAGGTTTCCACCCTTGGCGCCCAAGTATGGCTGAATTGTGGGACCCTATGCAA
ACCCACTGCCAGATACGTTATACGGTTTTAGGTGTATGCTATCCGTAAAATACCTGCAG
GGTATTTTGAAGAAATACGAGCCAGGAACCCTAGGGTTCGAGCTCTGCTCGGAGCTCA
TCCGCATATTCAGGGTGAGGCAGTATGACAGGGCGAATGCGCGTTTCGCAGAGATTTC
ATCCGTATGGGGGGAGACCGGTAAGACGGAGGCTGAACTTCGAGACAGCTATCGTGCC
TTACACTGGGAATGCTGTCCCAATTGCTGCCCGAAGCTATGTCCCGGTTTCAAGAGGCG
TCCGGATGAAGAGAAAGAGGGGTGACCGCATCCCGAAGGGATGTGTTGGTCCCTGTAA
GGTCCAGGACTATGAGTTCAAGATGGATGTTCCCTCACACGGGAACGTTTGTCTGTGTCT
CGGATTTTACAAGGGTACTGGGCTTACCCATCGCCTGGGTAAGCGTGTTTGTGTTAAG
TCGATGGGTATAGATGGGAAGGTCTGGATGGATGACAATGTTGCCAAGAGAGATCACA
CCAATATCATCACGTATTGGTTGATTTCGTGATAGAAGGCCCAATAAGGATCCGCTGAA
CTTTGGGCAAGTTTTCCACCATGTACGACAATGAGCCCACTACTGCTAAGATCCGAATGG
ATCTGCGGGATAGAATGCAGGTCTTGAAGAAGTTTTCTGTTACAGTTTCAGGAGGTCCA
TACAGCCACAAGGAACAGGCTTIGGTTAGGAAGTTTTTTAAGGGTTGTATAACCATGT
AACTTACAATCACAAGGAAGAAGCTAAGTACGAGAATCACTTAGAGAATGCTCTCATG
CTGTATAGTGCTAGTAGTCATGCCAGTAATCCTGTGTATCAGACCCTGCGTTGCAGGGC
TTATTICTATGATTCGCACAATAATTAATAAAAATTATATTTTATTAATACAGTAATACCT
TCACATCATCATTACAATCTATTGTGTCTACTTCGTCTATCCAAGGACATGTTCTTGGTA
GACTCCTAATTACAGAACTAAATTAAGTAACTAAAAAATCCTAAATTTGCTAATTC
ATTACATATGCGCCATTTAAGGCGTTCCAAAATACCAGTCCAAGTGTGAATAGCACCA
GTTAGACGGGTCGTCGATATCCGGAATTGCAGGAAGATCTTGTGGAATCCCAGTGCTC
TTCTCTCCCTGTAGTTGACCCTCATTGGAATTTGAGGATGGTTCTCCCTGTGCGCTCT
CGTGGACATATATCAGTCTGAGGTAGAATGGTGCAGTCCGACCCACAGACATGGGGTT
GGTGTCGAATTCTAGTGCTCTCATAGTCTGAGCACGACTTAGTGATTCCCCTGTGCGTG
AATCCATGCTGGTACTTGCAGGTTGGGGTGATGAAGGCTGAACAGCCGCAGCCCTTCC
ACACTATCCTCGTCCTTTGTTTCAGGAACTTTCCCTCTTGGCCTTCTTCGCCTCCGCGTGTG
ATGGCTCCTGAATGGGACACTTCCCTCTTGTACCCAGAAGGGAGATTGGACATCGCAGA
ATATTGCGTICTTTAATGCCCAATTCTTGAGTGCTTCTTGCTCTGATTTGTCCAACCAGA

GTTTAAATGAGGAGCCCTCTCCTGGATTGCAGAGGAAGATAGTGGGAATTCCGCCTTT
AATTTGAACTGGCTTCCCGTATTTACAGTTGGATTGCCAGTCCTTCTGGGCCCCCATGA
ATTCCTTAAAGTGCTTTAGGTATTGGGGGTGACGTCATCAATGACGTTATACCAAGCA
CTATTGCTGTACACTTTTGGACTAAGATCTAAATGCCACACAAATAATTGTGAGGGCC
CAAAGACCTGGCCCATACTGTTTTGCCTATTCTGCTTGGGCCTTCAATAACAATGGATA
TGGGTCTATCCGGCCGCGCAGCGGAATCCATGACATTTTCAGCGGCCAGTCGCTGAT
AATGTCAGGAACGGCATTGAATGAAGATGAAGAAAAAGGTGAAGAATATACCGAAGG
TGGAGGAGAAAAATCCTATCTAAATTAGAACTAAATTATGAAATTGAAATAAATAT
TTTTCAGGGAGTTTTTCCCTGATTATTTGCAACGCAGCTTCTTTAGAACCTGCGTTTAGA
GCCTCTGCGGCTGCGTCATTAGCAGTCTGCTGACCTCCTCTAGCAGATCTGCCGTCGAC
CTGGAATTCACCCAGGTGAGGGTATCTCCGTCCTTGTC AACGTAGGACTTGACATCGG
ACGAGGATTTAGCTCCCTGGATGTTGGGGTGAAAGTGAGCCGACCTCGTGGGTGAGAC
AAGGTCGAAGAATCTGCTATTTGTGCAGACGAATTTGCCTTCGAACTGCACCAGCACA
TGGAGGTGAGGTTCCCATCCTCGTGCAGTTCCTTGGCGATGTGTATGTATTTTTTATTT
GTTGGGGTTTTGGATATGTAGTAATTGGGCTAGGCAGTCCTCTTTAGAGAGAGAACAGC
GTGGATAAGTAATGAAATAAATTTCTGGCTTGATTTTTAAAGCGCTTTGGAGGAGCCATT
TGGAGACACGCATAAGTTCAAATGAATTGGAGACTGGAGACAATATATAGTATGTCTC
CAAATGGCATTCTGGTAATTTAGAAGATCCTTTTAGCTTTAATTCAAATTCGACAACCT
TTGGGACCACCAAAGGGCGGGCACCGTATTAATATTAACCGGTGCCCGCCGCGCC

图1

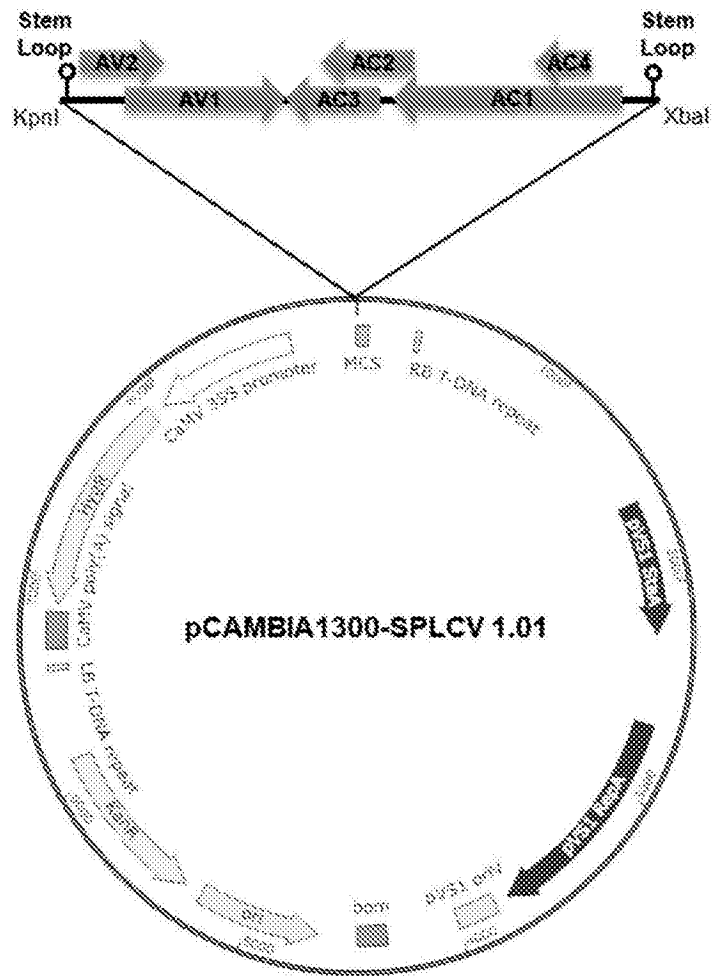


图2

对照空载体

甘薯曲叶病毒



图3

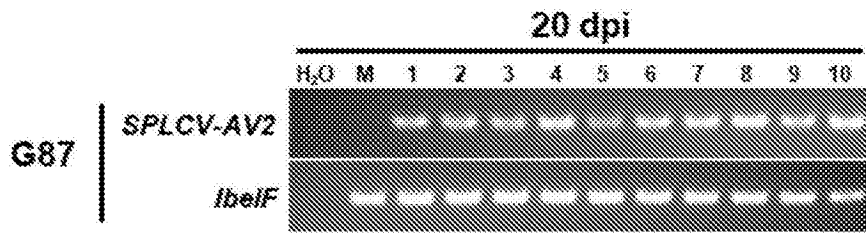


图4