

文章编号: 1001-411X(2000)04-0093-01

毛叶枣 APETALA1 基因的分子克隆初报

胡桂兵¹, 郑启发¹, 陈大成¹, 刘荣维², 徐明全²

(1 华南农业大学园艺系, 广东 广州 510642; 2 深圳农科中心组培室, 广东 深圳 518040)

Primary Study on Molecular Cloning of APETALA1 Gene from Ber

HU Gui-bing¹, ZHENG Qi-fa¹, CHEN Da-cheng¹, LIU Rong-wei², XU Ming-quan²

(1 Dept. of Horticulture, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;

2 Tissue Culture Research Section, Research Center of Agricultural Sciences of Shenzhen, Shenzhen 518040, China)

关键词: 毛叶枣; APETALA1 基因; PCR; 分子克隆

Key words: Ber (*Ziziphus mauritiana* Lam.); APETALA1 gene; PCR; molecular cloning

中图分类号: S665; Q943

文献标识码: A

毛叶枣 (*Ziziphus mauritiana* Lam.), 亦称印度枣、台湾青枣, 为鼠李科枣属的常绿木本果树。毛叶枣童期特别短, 无论是实生苗还是嫁接苗, 均可在种植的当年开花、结果^[1], 这一特性在众多木本果树中是罕见的。因此, 研究其极短童期形成机理, 克隆有关基因, 将对缩短木本果树乃至其他木本植物的童期, 提高有性杂交育种的效率, 产生积极深远的影响。笔者以毛叶枣栽培品种“高朗 1 号”当年嫁接树的花蕾和开放的花朵中提取的基因组 DNA 为材料, 用 PCR 扩增方法首先进行花分生组织特征的因子 APETALA1 (AP1) 基因^[2~4] 的分子克隆研究, 为从根本上揭示木本果树的童期本质迈出关键性的一步。

1 材料与方法

1.1 材料

在华南农业大学园艺系毛叶枣品种园采取台湾青枣“高朗 1 号”的花蕾和花朵, 用改良的 CTAB 法^[5] 提取并纯化其 DNA 作为模板。在比较其他物种上已克隆的 AP1 序列的保守区后设计 1 对长度均为 23 bp 的特异引物并委托上海生工公司合成, 10× PCR 缓冲液、DL2000 DNA 分子标准、Taq 酶、dNTP 均购自 TaKaRa 公司, 其他试剂均为分析纯试剂。

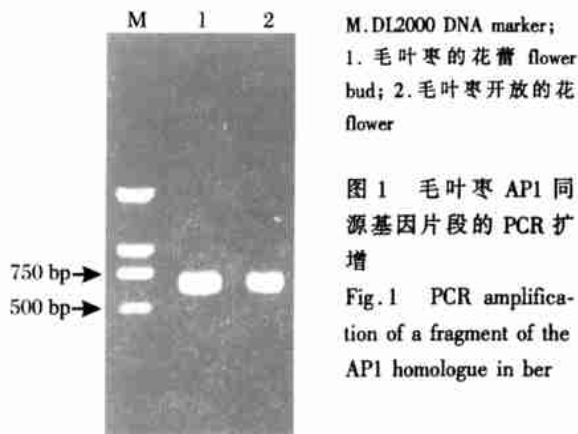
1.2 PCR 扩增方法

反应体系为: 10× PCR 缓冲液 (不含 Mg²⁺) 5.0 μL, MgCl₂ (25 mmol/L) 4.0 μL, dNTP 混合物 (各自 2.5 mmol/L) 4.0 μL, 上游引物 (10 μmol/L) 1.0 μL, 下游引物 (10 μmol/L) 1.0 μL, 模板 DNA 1.0 μL (15 ng), Taq 酶 (5 个活性单位/μL) 0.5 μL, 加灭菌双蒸水至总体积 50 μL。扩增参数为: 94℃ 变性 5 min 后, 按 94℃, 40 s; 51℃, 60 s; 71.5℃, 90 s 进行 30 个循环。循环反应于美国 BT 公司生产的 PCR 仪上进行。PCR 扩增结束后, 分别吸取 15 μL PCR 反应产物点样于 10.0 g/L 的琼脂糖凝胶上进行电泳, 用 Bio-Rad 凝胶成像分析系统进行观察和拍照。电泳缓冲液为 1×TBE, 电压为 3.5 V/cm。为验证扩增结果的可靠性, 样品均重复扩增、检测 2 次以上。

2 结果与分析

PCR 结果见图 1。样品重复扩增、观测的结果非常稳定、一致。从图中可以清楚地看出: 笔者已经特异地扩增出了长

为 700 bp 的产物, 与毛叶枣的 AP1 基因片段预计长度一致。对其序列的测定和全长基因的克隆、分析及鉴定等进一步的研究正在进行之中。



M, DL2000 DNA marker;
1. 毛叶枣的花蕾 flower bud; 2. 毛叶枣开放的花 flower

图 1 毛叶枣 AP1 同源基因片段的 PCR 扩增

Fig. 1 PCR amplification of a fragment of the AP1 homologue in ber

致谢 浙江大学园艺系徐昌杰博士提供 AP1 引物, 华南农业大学园艺系刘成明老师协助拍摄电泳凝胶照片, 深圳市科技局提供部分经费资助, 谨此致谢。

参考文献:

- [1] 刘成明, 胡桂兵, 王惠聪. 毛叶枣 (印度枣) 的驯化引种及选种优株产量品质的研究[J]. 西南农业大学学报, 1997, 19(3): 240—243.
- [2] MANDEL M A, YANOFSKY M F. A gene triggering flower formation in *Arabidopsis* [J]. Nature, 1995, 377: 522—524.
- [3] MANDEL M A, GUSTAFSON B C, SAVIDGE B et al. Molecular characterization of the *Arabidopsis* floral homeotic gene APETALA1 [J]. Nature, 1992, 360: 273—277.
- [4] IRISH V F, SUSSEX I M. Function of APETALA1 gene during *Arabidopsis* floral development [J]. Plant Cell, 1990, 2: 743—753.
- [5] 王关林, 方宏筠. 植物基因工程原理与技术 [M]. 北京: 科学出版社, 1998. 600—601.

【责任编辑 柴 焰】