

方法由人参毛状根制作了 lambda ZapII cDNA 文库,以大鼠的 SE cDNA 与 Arabidopsis EST 克隆(129F12T7)为探针进行筛选。

结果,从约  $6.5 \times 10^5$  的重组子中得到一个阳性克隆。亚克隆后确定了含有约 1.9kb 的插入片段的全克隆碱基序列。得到的碱基序列可对 471 个氨基酸残基构成的多肽编码。该 cDNA 克隆与大鼠、小鼠、酵母的 SE 氨基酸水平的同源性分别为 41%、44%、33%。并且 N 末端存在的辅酶 FAD 的结合区域及上述试验中用的高同源性的 2 个氨基酸区被较好地保存。目前正在对异种生物的功能表达等进行探讨。

### 366 人参属植物及其相关生药的基因分析:着眼于 18S rRNA 基因的 MASA 法及 matK 基因的碱基序列〔日〕/伏见裕利…

作者迄今确定了源于 3 种人参属植物的 18S rRNA 基因的碱基序列。发现每种植物距上游 500 碱基附近具有特异性碱基序列。相应的每种人参类生药也存在同一序列。为了开发简便的鉴定人参类生药的方法,本次着眼于其固有的碱基序列,探讨了突变等位基因特异扩增(MASA)法的应用。另外,作为新的基因区域,确定叶绿体基因上存在的 matK 基因的碱基序列,对其应用性进行了探讨。

以 18S rRNA 基因的碱基置换第 499~501 位点为引物的 3'端,合成了人参属 3 种特异的引物。以从植物及生药材料得到的 DNA 为模板,用这种引物进行 PCR,通过 1%琼脂糖凝胶电泳法确认有无 PCR 产物,对最适引物的退火及延伸反应的温度进行了探讨。确定仅与各引物相适合的植物和生药 DNA 扩增的条件。

关于 matK 基因,大井等报道用引物扩增植物及生药材料的该区域,分别确定了碱基序列。部分 matK 基因的序列均为 1259 碱

基对。人参与竹节人参间的序列相同,这 2 种与西洋参间于第 102 位点检测到碱基置换,进一步确认了以同种植物为基原的西洋参也有这种置换。

### 367 术属植物基因碱基序列的多态性〔日〕/清水亮辅…

为了分析术属植物的变异,对茅苍术 (*Atractylodes lancea*)、关苍术 (*A. japonica*) 及白术 (*A. ovata*) 的数种叶绿体基因 rbcL 及 trnK 的碱基序列多态性进行了探讨。

以新鲜叶制备的全 DNA 为模板,PCR 扩增 rbcL 及 trnK 区域,扩增产物用双脱氧链终止法直接测序。

结果,通过 rbcL:PCR 所有植物均扩增了 1.4kb 的片段。对其碱基序列测序时,茅苍术与关苍术的全基因序列一致,但白术供试的 2 个系统均在一个位点 A~C 为非同义置换。通过 trnK:PCR 得到了相当于基因全区域约 2.5kb 的片段。用各种限制性内切酶分析扩增产物的 RFLP 时,茅苍术与关苍术各种酶的切断模式完全一致,但白术被 Hinf I 切断时,生成了与上述二者不同的模式。存在于 trnK 内的内含子 ORF matK 区域三者的碱基序列完全一致,但白术 matK 上游的一个碱基序列不同。

上述结果是从基因碱基序列水平,对用 RFLP 及 RAPD 分析以往认为的三者间茅苍术与关苍术为更近缘植物结果进行的鉴定。

### 368 黄芩毛状根查耳酮合酶的 cDNA 克隆与分析〔日〕/周誉…

一般的黄酮类化合物 B 环 4'位都存在取代基,但从黄芩 (*Scutellaria baicalensis*) 毛状根分离的以黄芩甙为主的黄酮类化合物 B 环 4'位不存在取代基。为了阐明其原理,对黄芩毛状根的查耳酮合酶的 cDNA 进行了克隆与分析。