

雄性半死亡期增寿率为 21.30%, $P < 0.005$, 平均寿命增加 14.47%, $P < 0.025$ 。雌性在 LD_{50} 时增寿 15.9%, $P < 0.005$, 平均寿命增加 10.83%, $P < 0.025$ 。如果将果蝇胚养密度提高些, 如 40 只/管, 则增寿率还倍增。

目前, 已发现了果蝇的长寿基因, 长寿也往与抗氧化有关, 果蝇如转入上述有关基因可以延长寿命 6% ~ 30%。长寿又往往与抗逆性有关, 如: 抗干旱, 抗饥饿, 抗杀虫剂者也长寿。国内外学者用果蝇作药物实验者众, 国外学者多只用雄性, 认为雌性影响因素太多不准。

美国的 H.R. Massie 做过维生素 A, 乳酸和葡萄糖酸, 牛磺酸 Taurine, 对果蝇寿命的影响,

国内学者做过: 刺玫果 *Rosa davurica* 干粉, 东莨菪碱, 山苦茶及从云芝 *Coriolus versicolor* 中提取的云芝多糖等; 还有将中成药: 肝肾宁, 心肾灵, 录脂醒和双宝素等进行实验。其中唯肝肾宁似为显著, 但其方法叙述不清(如: 取样随机吗? 培养密度? 何时给药? 只用雌性实验?) 其平均寿命增加可有 22%, 但 $P < 0.01$ 。而维生素 A 对幼虫有效, 对成虫无效。云芸多糖则对雌果蝇有效, $P < 0.05$, 对雄果蝇无效。若与上述实验相比, 蚂蚁干粉的半死亡期的延长寿命效果是相当显著的。

致谢: 感谢上海昆虫所曹梅讯教授给予蚂蚁干粉, 特此致谢。

蚕丝昆虫分子系统学与物种分子标记研究初报

桂慕燕, 左正宏, 陈元霖, 王学民

(厦门大学细胞生物学研究室, 厦门 361005)

蚕丝昆虫一般是指那些能在体内合成、分泌并吐出蛋白质纤维的昆虫, 主要是鳞翅目 (Lepidoptera) 家蚕蛾科 (Bombycidae) 和蚕蛾科 (也叫大蚕蛾科 Saturniidae) 中的一些昆虫, 它们有重要的经济价值。从分子水平上研究这类昆虫的遗传特性, 对于丰富生物进化和物种演化理论, 革新蚕的育种技术, 促进蚕丝业的发展都有重要意义。本文报告对于不同种类的蚕丝昆虫基因组 DNA 进行 RAPD 检测的结果, 并探讨蚕丝昆虫分子系统学与物种分子标记问题。

1 材料与方 法

1.1 材料 采用家蚕蛾科和天蚕蛾科的 5 种蚕。家蚕 (*Bombyx mori*), 代表品种为 7 芙 × 湘九; 野桑蚕 (*B. mandarina*); 蓖麻蚕 (*Philosamia cynthia*), 代表品种为 镇 6; 柞蚕 (*Autheraea pernyi*), 代表品种为 方黄 2; 天蚕 (*A. Yanamai*)。

1.2 方 法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 从虫期蚕蛹提取, 具体步骤参见我们已发表的文章 [刘春宇等, 遗

传, 1998, 20 (2): 5~8]。

1.2.2 RAPD 检测 引物采用 Operon 公司出品的试剂盒, 标号为 OPI-01 至 OPI-20 和 (OPW-01 至 OPW-20), 总共 40 个引物。PCR 反应条件参见我们已发表的文章 (刘春宇等, 同上)。RAPD 产物经 1.4% 的琼脂糖凝胶电泳分离, 在多色荧光凝胶成像仪上分析。

1.2.3 数据处理 在 RAPD 扩增图谱上, 将重复性强、条带清晰的片段记为“1”, 将缺失或弱带记为“0”, 构建“1”“0”信息矩阵。2 个样本间的遗传距离 (D) 的计算公式: $D = 1 - F$ 。 F 为两个样本 RAPD 标记的共享度, 计算公式为 $F = 2N_{xy} / (N_x + N_y)$, 在此, N_{xy} 是样本 x 和样本 y PCR 扩增分子量相同的 DNA 片段总数, N_x 和 N_y 分别是样本 x 和样本 y PCR 扩增产物的 DNA 片段总数。根据遗传距离 (D), 利用 UPGMA 聚类分析法构建分子树。

2 结果与讨论

在采用 40 个随机引物中, 有 27 个引物的扩增图谱呈现重复性强而且清晰的条带。取这 27 个

引物分别对5种蚕的模板DNA进行扩增,总共出现536个DNA片段,每个引物平均数为19.9个,变动在11~28之间。每个片段的大小在0.29 kb至2.67 kb之间。

在536个片段中,可变片段520个,占总数的97%,完全相同的片段16个,表现出丰富的多态性。

家蚕与野桑蚕的遗传距离 $D=0.3760$; 天蚕与柞蚕的 $D=0.4707$; 蓖麻蚕与柞蚕和天蚕的 D 值分别为0.6320和0.7007; 家蚕与蓖麻蚕的 $D=0.7488$ 。据此构建了它们的分子树。这几种蚕在分子树上与普通分类学上表示的亲缘关系是相吻合的。

扩增图谱比较结果还表示,各种蚕都有各自独特的DNA片段,这种片段数目少者如野桑蚕为16个,多者如蓖麻蚕达66个。这种片段可作为物种的分子标记。

研究表明,由于蚕丝昆虫基因组DNA随机扩增长度多态性比较丰富,因此在进行亲缘关系和物种鉴别研究中,采用基因组RAPD方法比采用核型分析方法(陈元霖等,1993)和线粒体DNA的RFLP分析方法(陈元霖等,1997)具有简便、快捷的优点,尤其在近缘种鉴别和种下分类中应用RAPD方法,有可能解决应用普通分类法所难以解决的问题。

家蚕转座子表达载体 pSVHK1.4 的构建与 gfp 瞬时表达的初步鉴定

肖巧学¹, 黄亚东¹, 曹阳¹, 黄自然, 阮茜¹, 刘良式², 刘文华², 王春新², 余炳球³, 黄星光³, 余爱群³, 向钟怀⁴, 鲁成⁴, 周泽场⁴

(1. 华南农业大学蚕桑生物技术实验室, 广州 510642; 2. 中山大学生命科学学院, 广州 510275; 3. 广东省丝绸集团公司, 广州 510180; 4. 西南农业大学蚕桑学农业部重点实验室, 重庆 400716)

采用非转座子载体系统进行哺乳动物转基因研究已取得相当进展。对果蝇的转基因研究表明,昆虫采用非转座子载体系统难以获得能稳定遗传的转基因后代,而用转座子载体系统则可显著提高外源基因在昆虫受体基因组的整合频率。但是果蝇转座子构建的载体,难以转化异源昆虫。

本研究利用家蚕基因组中发现的 k1.4 转座子序列、黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*) sp70 强启动子(昆虫通用启动子)、木母绿色荧光蛋白报告基因(Green Fluorescence Protein gene, gfp)等遗传元件,构建家蚕转座子表达载体 pSVHK1.4,希望今后能发展为高效的载体工具,进行家蚕转基因遗传、转基因育种、转基因工程蚕研究。对 pSVHK1.4 载体的构建及鉴定的结果如下:

1 中间载体-重组质粒 pCGH 的构建及鉴

定

根据 hsp70 启动序列设计一对引物,以黑腹果蝇总 DNA 为模板,PCR 扩增得到 hsp70 启动子序列。经与 pGEM-T 载体连接获得 pGEM-T-hsp70。对含有 gfp 的质粒 pcDNA3-GFP,先用 BglII+Kpn I 双酶切,去掉它的 SP6 和 T7 启动子。然后用 BglII+Kpn I 双酶切将 hsp70 启动子从 pGEM-T-hsp70 上切割下来,与 pcDNA3-GFP 连接,经酶切、PCR 鉴定得到重组载体 pCGH,完成 hsp70 启动子和 gfp 的拼接。

2 中间载体-pSK1.4 的构建及鉴定

质粒 pUK1.4 含有 k1.4 转座子序列,用 PvuII 酶切 pUK1.4,将包含 k1.4 的 1.7kb 切割下来,再将 1.7 kb 片段插入真核表达载体 pSVL 的 PvuII 位点处,经酶切分析,筛选得到一个中间载体 pSK1.4。用通用引物对 pSK1.4 的 k1.4