

# 香鳞毛蕨 *psbA* 基因的克隆与序列分析

高 睿<sup>1</sup>, 梁彦涛<sup>2</sup>, 常 缨<sup>1</sup>

(1. 东北农业大学 生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 大庆师范学院 生命科学学院, 黑龙江 大庆 163712)

**摘 要:**以提取的香鳞毛蕨总 RNA 为试材, 采用 RACE 方法得到香鳞毛蕨 *psbA* 基因全长, 研究其序列的生物信息学特征并提交序列至 GeneBank。结果表明: 克隆的基因全长 1 425 bp, 开放阅读框为 1 062 bp, 编码 353 个氨基酸, 与其它植物相比具有很高的同源性, 基因命名为 *DfpsbA*, GeneBank 登录号为 KJ728648。该研究结果可为进一步阐明香鳞毛蕨光合作用机理、基因表达与调控奠定基础, 同时也为植物分类与进化提供依据。

**关键词:**香鳞毛蕨; *psbA*; RACE; 基因克隆

**中图分类号:**S 682.35 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)19-0098-05

香鳞毛蕨 [*Dryopteris fragrans* (L.) Schott] 属鳞毛蕨科 (Dryopteridaceae) 鳞毛蕨属 (*Dryopteris*) 多年生草本植物, 主要分布于远东高寒地区, 能够生长在滑石坡及火山熔岩表面, 具有多种生理活性<sup>[1-6]</sup>。大多数蕨类植物都是阴生植物, 喜生于散射光下。而香鳞毛蕨则能在岩石表面阳光的直射下存活, 这反映出香鳞毛蕨必有

与一般蕨类植物不同的光合作用机制以抵御阳光直射与紫外线的照射。因此, 对其光合作用的研究有着特殊的意义。

在高等植物的叶绿体中, *psbA* 基因是一个重要光调控基因, 编码分子量为 32 ku 的 D1 类囊体膜蛋白是光系统 II 反应中心的 2 个核心亚基之一, 在光合作用中主要涉及光能的转换、电子和质子的产生以及分子氧的释放<sup>[7]</sup>。*psbA* 基因的启动子具有光诱导性和高效活性, 其基因的转录、翻译、降解和修复等过程受光照、氧化压力、UV 辐射等环境因素的影响, 是研究光饱和、光抑制

**第一作者简介:**高睿(1987-), 男, 硕士研究生, 研究方向为资源植物学与植物分子生物学。E-mail: gaoruineau@163.com.

**收稿日期:**2014-04-21

[18] Lawrence P A, Ashenden T W. Effects of acidic gases and mists on the reproductive capability of three fern species [M]. Environmental Pollution, 1993.

[19] Camloh M, Vilhar B, Ravnikar M. Jasmonic acid stimulates development of rhizoids and shoots in fern leaf culture [J]. Journal of Plant Physiology, 1999, 155(6): 798-801.

[20] Melan M A, Whittier D P. Effects of inorganic nitrogen sources on spore germination and gametophyte growth in *Botrychium dissectum* [J]. Plant Cell Environ, 1990, 13: 477-482.

[21] Helena F B. Germination in cultured gametophytes of *Osmunda regalis*

[J]. Plant Cell Reports, 1997, 16(5): 358-362.

[22] Dyer A F. The culture of fern gametophytes for experimental investigation [J]. Plant Cell Tiss Org Cult, 1979, 57: 65-69.

[23] 吴华, 袁丽萍, 王洋, 等. 扇叶铁线蕨孢子无菌繁殖技术研究 [J]. 园艺学报, 2010, 37(3): 457-464.

[24] 程冶英, 张风雷. 桫欏的快速繁殖与种质保存技术的研究 [J]. 云南植物研究, 1991, 13(2): 181-188.

[25] Suzanne M, Rogers D, Banister S. Micropropagation of *Notholaena* 'Sun-Tuff' fern [J]. Hort Science, 1997, 27(1): 1224-1225.

## Study on Sporophytic Induction Technology of *Phyllitis japonica*

WANG Yang, DONG Ran, GU De-feng, LIU Mei-tong

(College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

**Abstract:** Taking spore of *Phyllitis japonica* as experimental material, the effect of general conditions and sterile conditions on the sporophyte induce of *Phyllitis japonica* were studied by using normal condition and isolated culture of breeding methods. The results showed that the best germination medium was 1/4MS sugar-free culture medium. The best multiplying culture was MS+15 g/L sucrose. The best sporophyte inductive medium was MS. The best conventional induction conditions was turf, the temperature was 20~30℃ and the air humidity was 95%.

**Keywords:** *Phyllitis japonica*; sporophytic induction; spore multiply

和质体基因表达调控机制的主要靶基因之一<sup>[8-11]</sup>。D1蛋白还能与阿特拉津(atrazine)等三嗪类除草剂和DCMU(敌草隆)等脲类除草剂特异结合从而阻断光合作用过程中电子传递<sup>[12]</sup>,抗除草剂的 *psbA* 基因和对除草剂敏感的 *psbA* 基因各自编码的 D1 蛋白仅有一个氨基酸残基之差,就决定着是否对除草剂产生抗性<sup>[13]</sup>。

此外,由于在不同植物之间,*psbA* 基因较高的保守性<sup>[14-15]</sup>,以作为属以上的分子标记应用于植物的分类和系统演化中<sup>[16-17]</sup>。对于香鳞毛蕨 *psbA* 基因序列的克隆与分析,将为香鳞毛蕨的进化与分类地位等研究提供更多的资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试香鳞毛蕨成熟孢子体采自黑龙江五大连池,培养于 25℃ 温室中。取新鲜叶片,洗净后立即置于液氮速冻,保存在 -80℃ 冰箱备用。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 总 RNA 提取及 cDNA 制备** 取香鳞毛蕨叶片样品,于液氮中迅速研磨,植物 RNA 提取试剂盒(Tiagen)提取总 RNA,确定其完整性后,移取 5 μL 总 RNA 与 Oligo-dT 混合于反转录体系中,37℃ 温育 40 min,得到的 cDNA 作为 PCR 模板。

**1.2.2 香鳞毛蕨 *psbA* 基因片段的克隆** 对照不同植物叶绿体 *psbA* 基因的高度保守区域进行 BLAST 比对,使用引物设计软件 Primer 5.0 设计引物,psbA-S: 5'-GGAAACATGTCGAGTGCGTGCGTGAT-3'; psbA-A: 5'-GACCCCACTCAAACCCCTTCCCCTGT-3'。PCR 反应体系为 10×PCR Buffer 12.5 μL, 25 mmol/L dNTP 1 μL, 10 nmol/L 引物(S/A) 1 μL, cDNA 1 μL, 5 U Super Taq 0.25 μL, ddH<sub>2</sub>O 8.25 μL。反应使用梯度 PCR,条件为 94℃ 预变型 5 min,而后进行 25 个循环,循环参数为 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 30 s, 65~55℃ 30 s, 72℃ 1 min 的顺序;循环后,72℃ 延伸 10 min。扩增结束后,取 3 μL 混合物于 1% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物并做胶回收。回收产物连接 pMD18-T 载体,转化大肠杆菌 DH5α 感受态,PCR 鉴定后测序。

**1.2.3 *psbA* 基因 RACE** 根据测序验证的 cDNA 片段,分别设计 5'-RACE 和 3'-RACE 的基因特异引物: 3' GSP1: CTCCTGTCGAGCTGCTGCCGCCG, 3' GSP2: CCAATCCGTGGTTGACAGCCAAGGTCG; 5' GSP1: AGCTGCGACAGGAGCCGAGTACGCAAC, 5' GSP2: CGGAAGCTGCTTCCCAGATTGGGTAGA。使用 Clontech 公司 SMARTer™ RACE cDNA Amplification Kit 扩增目的基因片段的 5' 和 3' 末端,产物经 TA 克隆后测序。

**1.2.4 香鳞毛蕨 *psbA* 基因生物信息学分析** 使用 ORF Finder 进行 ORF(open reading frame)预测及氨基

酸序列翻译。通过 BLAST 将此基因预测的蛋白序列在 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)网站进行比对。通过 ExPASy ProtParam tool 进行蛋白基本性质预测。通过网站 Hierarchical Neural Network 进行二级结构预测。采用 SWISS-MODEL 结构域的三维建模。根据同源比对结果,用 MEGA 5.05 以 Neighbor-joining 法对不同已知植物物种的 *psbA* 氨基酸序列构建系统树。

## 2 结果与分析

### 2.1 总 RNA 提取及 *psbA* 保守区片段 PCR

提取植物基因组 RNA 效果较好,样品浓度在 586 μg/μL 左右,且完整性较好,可用于后续试验(图 1)。以反转录制备的 cDNA 为模板的 PCR,成功地扩增到 *psbA* 片段大小为 1 059 bp,与预期相符,最佳退火温度为 55℃(图 2)。

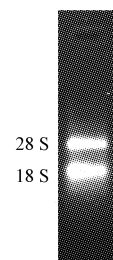
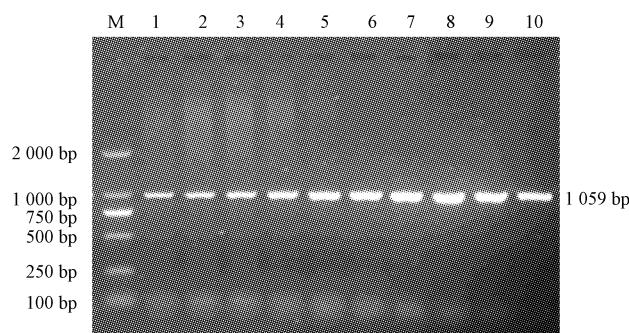


图 1 香鳞毛蕨总 RNA

Fig. 1 Total RNA extracted from *D. fragrans*



注:M:2 000 bp Marker;1~10:香鳞毛蕨 *psbA* 基因保守序列片段。

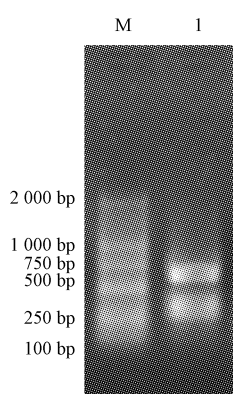
Note:M:2 000 bp Marker;1~10:conservative sequence fragment of *psbA* gene of *D. fragrans*.

图 2 香鳞毛蕨 *psbA* 基因保守序列扩增

Fig. 2 Amplification for conservative sequence of *psbA* gene of *D. fragrans*

### 2.2 获得香鳞毛蕨 *psbA* 基因全长

以香鳞毛蕨 *psbA* 基因保守区片段序列设计特异引物,完成 5' 和 3' RACE 扩增,分别得到 547 bp(3') 和 248 bp(5') 的片段(图 3、4)。将 3 个片段拼接得到香鳞毛蕨 *psbA* 全长基因 1 425 bp。以 5'、3'-UTR 设计的包含 ORF 的引物扩增全长并测序,在预测位置得到清晰且单一的条带(图 5),克隆结果与预期结果一致。

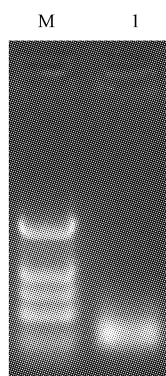


注:M;2 000 bp Marker;1:香鳞毛蕨 *psbA* 基因 3'-RACE 片段。

Note:M;2 000 bp Marker;1:3'-RACE fragment of *DfpsbA* gene.

图3 香鳞毛蕨 *psbA* 基因 3'-RACE 片段

Fig. 3 3'-RACE fragment of *psbA* gene from *D. fragrans*

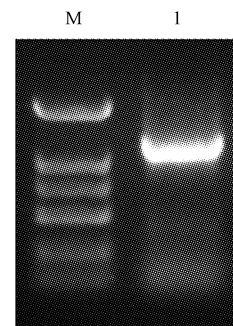


注:M;2 000 bp Marker;1:香鳞毛蕨 *psbA* 基因 5'-RACE 片段。

Note:M;2 000 bp Marker;1:5'-RACE fragment of *DfpsbA* gene.

图4 香鳞毛蕨 *psbA* 基因 5'-RACE 片段

Fig. 4 5'-RACE fragment of *psbA* gene from *D. fragrans*



注:M;2 000 bp Marker;1:香鳞毛蕨 *psbA* 基因 ORF。

Note:M;2 000 bp Marker;1:ORF of *DfpsbA* gene.

图5 香鳞毛蕨 *psbA* 基因 ORF 框

Fig. 5 The ORF of *DfpsbA* gene

### 2.3 *DfpsbA* 基因序列分析

香鳞毛蕨的 *DfpsbA* 基因全长为 1 425 bp, ORF 的范围为 244 bp~1 305 bp, 终止密码子为 TAA, 可编码 353 个氨基酸(图 6)。通过 NCBI BLAST 比对, 此基因属于 Photosystem-II\_D1 超家族, 其氨基酸序列与二歧鹿角蕨 *Platycerium bifurcatum* (JQ684679. 1)、中华双扇蕨

*Dipteris chinensis* (JQ684692. 1)、短颈蕨 *Diphyiscium foliosum* (AY312899. 1)、小叶苔 *Petalophyllum ralfsii* (AY607977. 1)、并齿蕨 *Tetraplodon mnioides* (AY312922. 1) 等植物的 *psbA* 序列同源性分别为 100%、99%、99%、98%、98%。新克隆的基因命名为 *DfpsbA*, 序列提交至 GeneBank, 获得登录号为 KJ728648。

```

1      TGGCGAGTGCCTCGCAAAAAGGCTTGACACATGACCAGATTCTCGGAGACTGATTTTGA
61     TTGGGACGCGCATTGCGTGGAGTAAAAATTGTTTGAGATATCGGGAGGAAGCCCCATAT
121    CCGAGAATTCTGGGGACTCAATTAATTTTCGGTTGACACAGATTAGTTTTTGTGATATATT
181    ATAAATTAACAAGCTTACTAGCCTGGGGAATCACCAATTATTTCTTGAAAACCGAAAAAT
241    ACCATGACCGCAACTTTAGAACGACGCGAAAGCGCAAGCCTATGGGGTTCGCTTCTCGGAC
1      M T A T L E R R E S A S L W G R F C D
301    TGGATTACCAGCACGAAAACCGTCTCTACATCGGATGGTTCGGCGTCTTAATGATTCCC
20     W I T S T E N R L Y I G W F G V L M I P
361    ACCTTGCTAACCGCAACCTCTGTATTTCATCATTGCTTCGTCGCAGCTCCTCTGTAGAC
40     T L L T A C T S V F I I A F V A A P P V D
421    ATTGATGGTATTCGCGAACCCTTTCTGGTTCTTTGTTATACGGTAACAACATTATCTCT
60     I D G I R E P V S G S L L Y G N N I I S
481    GCGCTATCATCCCTACTTCTGCAGCTATTGGGTTACATTCTACCCAATCTGGGAAGCA
80     G A I I P T S A A I G L H F Y P I W E A
541    GCTTCGTCGATGAATGGCTTTACAATGGTGGTCTTACGAACCTATCGTTCTTCACTTC
100    A S V D E W L Y N G G P Y E L I V L H F
601    CTACTTGGTGTAGCTTGCTACATGGGTCGCGAATGGGAACCTAAGCTTCCGCTAGGTATG
120    L L G V A C Y M G R E W E L S F R L G M
661    CGTCTTGGATCGCTGTTGCGTACTCGGCTCCTGTGCGAGCTGCTGCCGCGCTCTTCTG
140    R P W I A V A Y S A P V A A A A A V F L
721    ATCTACCAATTGGTCAAGGAAGTTTCTCTGACGGTATGCCTCTAGGCATTCTGTTACT
160    I Y P I G Q G S F S D G M P L G I S G T
781    TTCAACTCATGATCGTCTTCCAGGCTGAGCACAACATCCTTATGCATCCCTTCCCATG
180    F N F M I V F Q A E H N I L M H P F H M
841    TTGGGTGTAGCTGGCGTATTTCGGCGGCTCTTATTCAGTGCTATGCATGGTCTTTGGTA
200    L G V A G V F G G S L F S A M H G S L V
901    ACTTCTAGTTTATCAGAGAAACAACTGAGAATGAGTCTGCTAATGCAGGTTACAAGTTC
220    T S S L I R E T T E N E S A N A G Y K F
961    GGTCAAGAAGAAGAACTACAACATCGTAGCTGCTACGGCTATTTCCGGTCTTTGATC
240    G Q E E E T Y N I V A A H G Y F G R L I
1021  TTCCAATATGCTAGCTTCAACAATTCTCGTTCTCTGCACTTCTTTAGCTCTTGGCCC
260    F Q Y A S F N N S R S L H F F L A A W P
1081  GTAGTAGTATTTGGTTCACCGCTTTAGGCATTAGCACCATGGCATTCAACTTGAATGGT
280    V V G I W F T A L G I S T M A F N L N G
1141  TTTAACTTCAACCAATCCGTGGTTGACAGCAAGGTCGTGTTATAAACACCTGGGCTGAT
300    F N F N Q S V V D S Q G R V I N T W A D
1201  ATCATAAACCGTCTAACCTAGGTATGGAAGTCATGCATGAACGTAACGCTCATAACTTC
320    I I N R A N L G M E V M H E R N A H N F
1261  CCCCTAGACTTGGCTTCTGTTGAAGCTCCCTCTATAAACGGGTAACATCCGCTCGGTTAT
340    P L D L A S V E A P S I N G *
1321  GCAGCACAACCTGGATACCAATCTCCCACTTCAGGGGAGGTTTGGGTGCCAATGAGATG
1381  AAAGTTCATGCGGTGGAACGAAAAAAGGCTTGACACATGACCAGATTCTCGGAGACTGATTTTGA

```

图6 香鳞毛蕨 *DfpsbA* 基因序列及氨基酸序列

Fig. 6 The cDNA and amino acid sequence of *DfpsbA* gene



通过软件预测,该蛋白的分子式为  $C_{1784}H_{2667}N_{453}O_{491}S_{14}$ , 相对分子质量为 38 764.54 Daltons, 其中碱性氨基酸 15 个(K,R), 酸性氨基酸 27 个(D,E), 疏水氨基酸 156 个(A,I,L,F,W,V), 极性氨基酸 85 个(N,C,Q,S,T,Y), 等电点 pI 为 5.224。

使用 Swiss-Model Workspace 蛋白结构分析软件建立香鳞毛蕨 *DfpsbA* 编码的 D1 蛋白的三级结构。由图 7 可知, D1 蛋白的螺旋区开始于 D1 蛋白的 N-末端, N-末端区域有大量的脯氨酸、谷氨酸、丝氨酸和苏氨酸, 在 C-末端也以螺旋终止, 多个  $\alpha$  螺旋围绕形成具有球状空间构象的跨膜蛋白, 与大多数物种 D1 的结构类似。

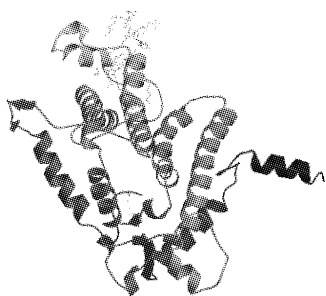


图 7 香鳞毛蕨 D1 蛋白预测三级结构

Fig. 7 Predicted protein tertiary structure of D1

将从 GenBank 中下载不同植物物种的 *psbA* 基因氨基酸序列与香鳞毛蕨 *DfpsbA* 编码的氨基酸序列在软件 MEGA5.05 上采用 Neighbor-Joining 方法构建进化树, 进行聚类分析。从图 8 可以看出, 香鳞毛蕨与铁线蕨、二歧鹿角蕨、桫欏等蕨类处于同一分支, 说明亲缘关系最近。然而通过比较发现, 问荆(*Equisetum arvense*)与劲直阴地蕨(*Botrychium strictum*)处于同一分支, 且与并齿藓(*Tetraplodon mnioides*)、铁芒箕(*Dicranopteris linearis*)、瓶尔小草(*Ophioglossum vulgatum*)、人厌槐叶萍(*Salvinia molesta*)聚集在一类中, 反映了 *psbA* 基因在分子系统演化过程中的极其保守性, 也暗示出传统分类方法中从苔藓类植物到蕨类植物的依据与当今新技术提供的依据之间有很大的差别。

### 3 讨论

RACE(Rapid Amplification of cDNA Ends)技术是建立 PCR 技术基础之上发展起来的一种分离目的基因的迅速、高效方法。RACE 能够从转录产物含量低的样本中扩增出目的 cDNA 的 3' 和 5'-UTR, 尤其是克隆微量甚至痕量转录本 cDNA 全长的方法。RACE 试验成功与否的关键在于提取 RNA 的丰度、纯度及完整性, 以保证逆转录合成完整的第一条 cDNA 链。

*psbA* 基因编码的 D1 蛋白在叶绿体内的存在水平具有动态性, 能够根据水分、光强等调节其与 D2 蛋白组

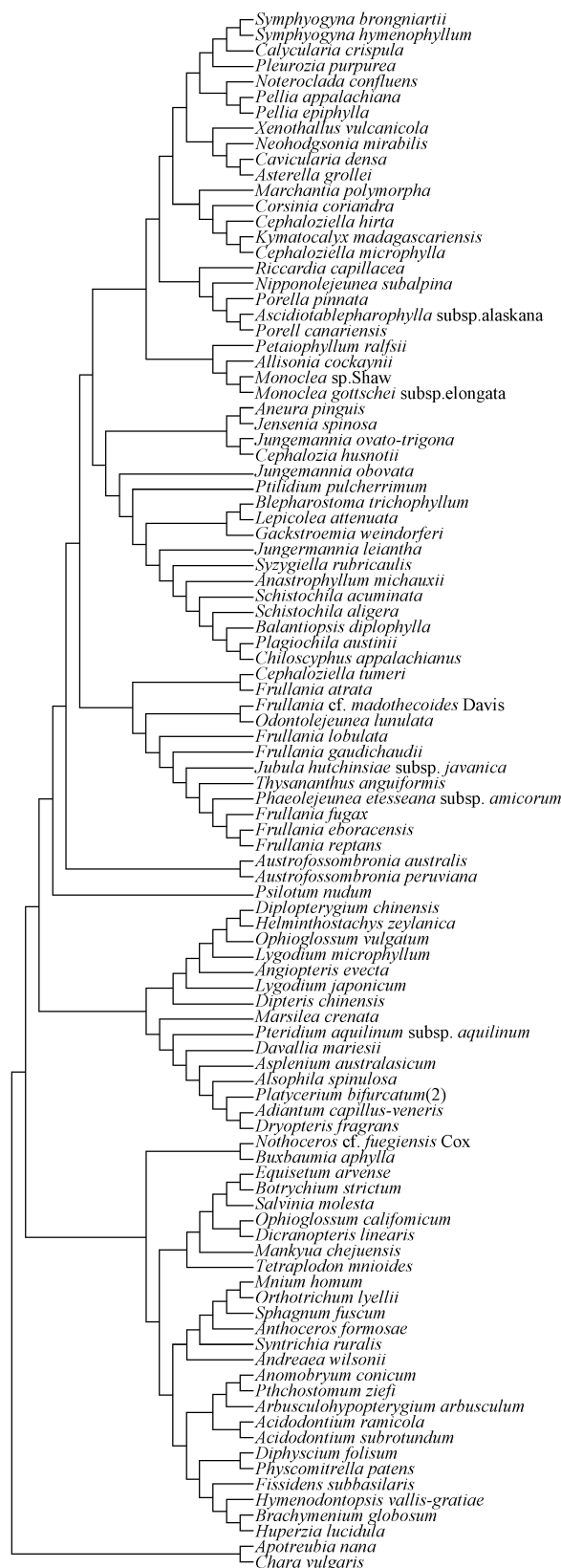


图 8 不同植物 *psbA* 基因进化树

Fig. 8 Genetic evolutionary tree for *psbA* of plant species  
装 PSII 复合体。当植物暴露于强光下或处于强光与环境胁迫相偶联的环境时, D1 的合成速率就会小于其降

解速率<sup>[18]</sup>。这种机制将为继续深入研究香鳞毛蕨能直接在阳光和紫外下进行光合作用的现象奠定基础。

叶绿体基因组的一大特性是序列高度保守,因此被广泛用于较高水平的分子系统发育关系的比较。在该研究中,课题组发现了许多蕨类植物与苔藓植物聚类在一支的现象。从植物分类学角度,在近年来以 DNA 序列标记等为基础的分子生物学技术越来越广泛地被应用于探讨蕨类植物的系统发育研究中。这些技术在为科研人员对蕨类植物系统演化和相互关系的认识提供了新的角度和思路,同时也对一些基于形态解剖学证据的传统分类学观点产生了不断的冲击和挑战。传统上蕨类植物分类系统已经发生改变<sup>[19]</sup>,该研究结果也将为其提供证据。

### 参考文献

- [1] 李红枝,沈志滨,赵瑛. 香鳞毛蕨软膏对大鼠实验性体癣的治疗作用[J]. 中药材,2005,28(10):491-492.
- [2] 沈志滨,金哲雄,张德连. 香鳞毛蕨治疗银屑病的药理作用研究[J]. 中草药,2002,33(5):844-845.
- [3] 沈志滨,马英丽,江蔚新. 香鳞毛蕨对真菌的抑制作用[J]. 中草药,2005,36(5):735-736.
- [4] Hideyuki I, Takashi M, Kazuko M, et al. Ichthyotoxic phloroglucinol derivatives from *Dryopteris fragrans* and their anti-tumor promoting activity[J]. Chem Pharm Bull, 2000, 48(8):1190-1195.
- [5] 沈志滨,金哲雄,张德连,等. 香鳞毛蕨的生药学研究[J]. 中草药,2002,33(7):661-663.
- [6] Ito H, Muranaka T, Mori K, et al. Dryofragin and aspidin PB, piscicidal components from *Dryopteris fragrans*[J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1997, 10(45):1720-1722.
- [7] Li X P, Du L F, Liang H G, et al. Preparation and identification of anti-dodecapeptide of polypeptide D1 photosystem II reaction center[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 1997, 24(3):283-288.
- [8] Nishiyama Y, Yamamoto H, Allakhverdiev S I, et al. Oxidative stress inhibits the repair of photodamage to the photosynthetic machinery[J]. The European Molecular Biology Organization Journal, 2001, 20(20):5587-5594.
- [9] Campbell D, Eriksson M J, Oquist G, et al. The cyanobacterium *Synechococcus* resists UV-B by exchanging photosystem II reaction-center D1 proteins[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998, 95(1):364-369.
- [10] 吴乃虎,方晓华,施晓梅,等. 高粱叶绿体 *psbA* 基因的结构特征及其 5'-非编码区的调控效应[J]. 中国科学(C辑), 1999, 29(4):397-406.
- [11] Sippola K, Aro E M. Expression of *psbA* genes is regulated at multiple levels in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942[J]. Photochemistry and Photobiology, 2000, 71(6):706-714.
- [12] Pfister K, Steinback K E, Gardner G, et al. Photoaffinity labeling of an herbicide receptor protein in chloroplast membranes[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1981, 78(2):981-985.
- [13] Holt J S, Stemler A J, Radosevich S R. Differential light responses of photosynthesis by triazine-resistant and triazine-susceptible *Senecio vulgaris* biotypes[J]. Plant Physiol, 1981, 67:744-748.
- [14] Hirose T, Sugiura M. Cis-acting elements and trans-acting factors for accurate translation of chloroplast *psbA*mRNAs: development of an in vitro translation system from tobacco chloroplasts [J]. The EMBO Journal, 1996, 15(7):1687-1695.
- [15] 袁进成,刘颖慧. 基于叶绿体 *psbA* 基因初步探讨植物系统发育的关系[J]. 江苏农业科学, 2009(4):46-49.
- [16] Sousa L O F, Wendt T, Brown G K, et al. Monophyly and phylogenetic relationships in *Lymania* (Bromeliaceae Bromelioideae) based on morphology and chloroplast DNA sequences[J]. Systematic Botany, 2007, 32(2):264-270.
- [17] Tsumura Y, Kawahara T, Wickneswari R, et al. Molecular phylogeny of Dipterocarpaceae in Southeast Asia using RFLP of PCR-amplified chloroplast genes[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 93:22-29.
- [18] Niyogi K. Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches [J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1999, 50:333-359.
- [19] 张宪春,卫然,刘红梅,等. 中国现代石松类和蕨类的系统发育与分类系统[J]. 植物学报, 2013, 48(2):119-137.

## Gene Cloning and Sequence Analysis of *psbA* in *Dryopteris fragrans* (L.) Schott

GAO Rui<sup>1</sup>, LIANG Yan-tao<sup>2</sup>, CHANG Ying<sup>1</sup>

(1. College of Life Science, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030; 2. College of Life Science, Daqing Normal University, Daqing, Heilongjiang 163712)

**Abstract:** Taking total RNA extracted from *Dryopteris fragrans* as material, and the RACE was employed to clone cDNA full length of *psbA* gene and complete bioinformatics analysis was conducted. The sequence had submitted to the GeneBank. The results showed that the full length of new cloned gene was 1 425 bp, containing an open reading frame of 1 062 bp, encoding 353 amino acids, there was high homology compared with other plant species. The new gene named *DfpsbA*, and its accession number was KJ728648. Successfully the result would lay a foundation for further research on photosynthesis mechanism, gene expression and regulation, as well as provide the basis for plant classification and evolution.

**Keywords:** *Dryopteris fragrans* (L.) Schott; *psbA*; RACE; gene clone