



组 DNA 的提取至关重要。传统的基因组提取方法比较繁琐,费时费力,特别是常用的酚-仿抽提法,其对人体的毒害较大<sup>[7]</sup>。本研究在参考前人基因组 DNA 提取方法的基础上,建立了一种简单的 DNA 提取方法,可以快速有效地对鸭基因组 DNA 进行提取,并能用于进一步的 PCR 检测和酶切。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料与主要试剂

试验鸭只来自长江大学动物科学学院实验鸭场。所用异丙醇等试剂均为分析纯。Buffer A: 100 mmol/L Tris - Cl(pH 7.5), 100 mmol/L EDTA, 100 mmol/L NaCl, 0.5% SDS; Buffer B: 200 mL 5 mol/L CH<sub>3</sub>COOK, 500 mL 6 mol/L LiCl, 混合, 4℃冷藏, 使用时可温水浴溶解。

### 1.2 鸭基因组 DNA 的提取

1.2.1 DNA 提取 参考 Audrey 等<sup>[8]</sup> 和杨军等<sup>[9]</sup> 的方法, 作适当改进。①取约 20g 冻存鸭肉放入 5 mL 离心管中, 加入 200 μL Buffer A, 用眼科镊剪碎, 再加入 200 μL Buffer A 继续; ②将剪好的样品在 65℃水浴 30 min(每隔几分钟颠倒混匀); ③温浴后的样品加入 800 μL Buffer B, 颠倒混匀后置于冰上 20 min, 然后室温下 12 000 r/min 离心 15 min; ④将 1 mL 上清液转移到新的离心管中, 加入 600 μL 异丙醇沉淀 DNA, 室温下 12 000 r/min 离心 15 min; ⑤倒掉异丙醇, 用 75% 酒精洗涤沉淀、风干, 用 150 μL TE 溶解 DNA, -20℃保存。

1.2.2 DNA 电泳检测 取溶解好的 DNA 样品 2 μL, 于 0.7% 琼脂糖凝胶上样电泳 30~45 min; 然后将凝胶放入 EB 染色 15~20 min, 取出检测成像。

## 2 结果与分析

在 0.7% 琼脂糖凝胶上电泳检测所提取的鸭基因组 DNA 的完整性, 结果见图 1。所检测样品基因组 DNA 电泳条带清晰, 没有弥散现象, 且点样孔干

净。说明所提取的基因组 DNA 完整性好, 且没有多糖、蛋白质的污染, 完全可以用于酶切、PCR 等分子生物学试验操作。

## 3 讨论

在前人研究的基础上, 本研究建立了一套快速提取鸭基因组 DNA 的试验方法, 且得到了较为理想的试验结果。该方法是从果蝇基因组 DNA 提取步骤改进而来, 与以往传统的酚-仿抽提法相比, 具有以下显著特点: 首先, 操作步骤简单, 不需要长时间消化样品, 可在短时间内进行大批量样品 DNA 的提取; 其次, 不需使用有毒害的苯酚和氯仿, 不需要到抽风厨中进行, 既减少污染又节约了成本; 最后, 所得到的基因组 DNA 质量较高, 样品中几乎无多糖和蛋白质残留, 未出现降解。

### 参考文献:

- [1] 伍革民, 郝正林, 许晓风. 5 个鸭品种生长激素基因座位遗传多态性检测[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(5): 1300-1301.
- [2] 龚道清, 张红, 张军, 等. 运用微卫星标记分析 11 个鸭种(群)的亲缘关系[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 36(12): 1256-1260.
- [3] 黎真, 牛冬, 阮晖, 等. 猪、鸡、鸭 Myostatin 成熟区段 DNA 的克隆及其同源性分析[J]. 畜牧兽医学报, 2005, 36(4): 323-332.
- [4] Muir W M. Use of molecular genetics in poultry breeding[C] //Proc 7<sup>th</sup> WCGALP, 2002: 19-23.
- [5] Yinhua H, Jianfeng T, Xuebo C, et al. Characterization of 35 novel microsatellite DNA markers from the duck (*Anas platyrhynchos*) genome and cross amplification in other birds[J]. Genet Sel Evol, 2005, 37: 455-472.
- [6] Yinhua H, Yonghui Z, C S Haley, et al. A genetic and cytogenetic map for the duck (*Anas platyrhynchos*) [J]. Genetics, 2006, 173: 287-296.
- [7] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南[M]. 3 版. 黄培堂, 译. 北京: 科学出版社, 2002.
- [8] Audrey M H, Rehm E J, Rubin G M. Recovery of DNA sequences flanking P element insertions: inverse PCR and plasmid rescue[M] //Sullivan W, Ashburner M, Hawley R S. Drosophila protocols. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2000: 429-437.
- [9] 杨军, 连林生, 赵春江, 等. 412 元件插入引起的棒眼果蝇杂交后代 scarlet 基因突变分析[J]. 农业生物技术学报, 2006, 14(5): 669-672.

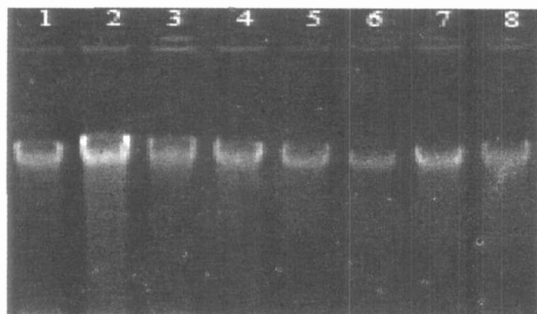


图 1 鸭基因组 DNA 电泳结果