

# 一种快速提取番茄叶片 DNA 的方法

刘建新

(黑龙江省农业科学院 生物技术研究所以,黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:**以番茄的幼叶为实验材料提取总 DNA,经 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测结果发现, DNA 质量较好, 所得的 DNA 可用于 RAPD 等技术。此法具有提取速度快、质量高和经济实用等优点。

**关键词:** 番茄; DNA 提取; 快速提取

中图分类号: S641.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2009)06-0009-01

## A Rapid Method for Isolation of the Leaves DNA of Tomato

LIU Jian-xin

(Biotechnological Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

**Abstract:** Genomic DNA of tomato young leaves was extracted by a rapid isolating method. The extracted DNA was perfect quality and could be used to RAPD. The method has many fine characteristics such as high efficiency, perfect quality, practicality and so on.

**Key words:** tomato; genomic DNA extract; rapid isolation

番茄 DNA 的提取是番茄分子生物学和基因工程研究的一种基本的技术, 至今已有数种方法<sup>[1-3]</sup>。本实验以经典的 SDS 提取植物总 DNA 法为基础, 经过改良和简化后, 可以简单、快速地提取番茄叶片基因组 DNA, 产物适用于进行分子生物学研究。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 材料

1.1.1 植物材料 取新鲜幼嫩的番茄叶片 200 mg 若干份, 放入 -70℃ 冰箱内备用。

1.1.2 仪器与设备 冷冻离心机、水浴锅、紫外分光光度计和紫外扫描凝胶成像系统等。

1.1.3 药品组成及配制 包括(1)SDS 提取缓冲液: 50 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 8.0), 50 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA (pH 8.0), 500 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl, 10 mmol·L<sup>-1</sup> α-巯基乙醇, 20% SDS 溶液; 5 mol·L<sup>-1</sup> KAC; 3 mol·L<sup>-1</sup> NaAC。(2)RNase 的配制: 取 100 mg RNase 溶于 10 mL 10 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 7.5), 15 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 中, 于 100℃ 加热 15 min, 缓慢冷却至室温, 分装后于 -20℃ 保存。(3)TE 的配制: 10 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl, 1 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA, 高压灭菌后备用。

#### 1.2 方 法

1.2.1 将 200 mg 叶片放入离心管中, 用灭菌的研棒研成粉末状, 可适当添加少量液氮。

1.2.2 向离心管中加入已 65℃ 预热的 800 μL SDS 提取缓冲液, 同时加入 160 μL 的 20% SDS 溶液, 65℃ 水浴 30 min。

1.2.3 加入 80 μL 5 mol·L<sup>-1</sup> KAC 后冰浴 20 min, 于 4℃, 12 000g 的条件下离心 15 min。

1.2.4 吸上清液放入到新的离心管中, 加入等体积的酚和氯仿抽提轻轻混匀后, 放置片刻, 于 4℃, 12 000g 的条件下离心 15 min。

1.2.5 重复 1.2.4 步骤。

1.2.6 吸取上清液加入 1/5 倍体积的 NaAC 和 2.5 倍体积的 -20℃ 预冷的无水乙醇, 轻柔晃动至出现白色絮状沉淀, 放置几分钟后于 4℃, 13 000g 离心 10 min。

1.2.7 80% 乙醇漂洗沉淀 2 次, 晾干。加 40 μL TE 缓冲液溶解沉淀。

1.2.8 加 3~5 μL RNaseA 混匀, 并在 37℃ 下保温 30 min, 然后置 -20℃ 下保存备用。

### 2 结果与分析

#### 2.1 电泳检测

用该方法提取到的 DNA 颜色为透明色, 经紫外分光光度计检测, OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 在 1.8~1.9, 说明该 DNA 纯度较好。同时将提取的 DNA 在 0.8% 的琼脂糖凝胶

(下转第 27 页)

收稿日期: 2009-02-11

作者简介: 刘建新(1976-), 女, 黑龙江省齐齐哈尔市人, 硕士, 研究实习员。从事生物化学与分子生物学研究。E-mail: wendyliujx@163.com。

一定的比重,随着世代的增加非加性效应的分量会逐渐减少,因此,对此性状的选择只能在高代选择。

表 6 各性状群体遗传参数估计值

性状	加性方差	显性方差	遗传方差	环境方差	表型方差	广义遗传力/%	狭义遗传力/%
穗长	1.6782	1.1948	2.873	0.9605	3.8335	74.94	43.78
穗粗	0.1152	0.0179	0.1331	0.0152	0.1483	89.77	77.69
穗行数	3.7662	0.7075	4.4737	0.5821	5.0558	88.49	74.49
行粒数	16.0164	4.8638	20.8802	5.3624	26.2426	79.57	61.03
秃尖	0.5558	0.3009	0.8567	0.2286	1.0853	78.94	51.21
百粒重	7.4461	3.7623	11.2084	4.2058	15.4142	72.71	48.31
出籽率	2.6993	1.3898	4.0891	2.5031	6.5922	62.03	40.95
产量	0.0004	0.0001	0.0005	0.0002	0.0007	68.74	54.26

3 结论

3.1 通过对黑龙江省农家种选育的 11 个玉米—环系一般配合力测定,从双亲的一般配合力与其所组成的杂交后代各性状的观测值分析得出:自交系一般配合力大小可以反映杂交种后代的表现的优劣,就 8 个综合性状而言,木兰白头霜、五常白头霜、宾县老来瘡、五常黄金塔、呼兰老来瘡较优,可作为优良系直接利用;而其它一环系,针对个别性状较优,在实际工作中可根据育种有目的地选用,如青冈牛尾黄可以增加百粒重,五常 60 天还家和呼兰红粮子可以减少秃尖程度,五常大金顶和龙江黄马牙能增加穗行数,呼兰 8 趟增加穗长、降低穗粗、增加行粒数和减少秃尖等。

3.2 从对 44 个组合中产量高于对照 10% 的各性状特殊配合力和总效应值测定结果看出,黑龙江省地方种质资源与 Lancaster 血缘的 Mo17、旅系的 340、Reid 的 7922 及唐四平头的 444 都有较好的特殊配合力效应,因此,在当今玉米基础材料狭窄的局势下,要充分挖掘

地方种质资源的遗传基因丰富的优势。同时,每个组合地方种质的一般配合力效应在总效应中都占有主要的地位,而母本的一般配合力和双亲的特殊配合力在组合中都处在次要地位,可以说明,地方种质资源具有较高的配合力,可以直接利用。

参考文献:

[ 1 ] 孔繁玲. 植物数量遗传学[ M ]. 北京: 中国农业大学出版社, 2006: 123- 180.

[ 2 ] 白艳凤. 9 个玉米自交系主要数量性状配合力及应用潜力分析[ J ]. 玉米科学, 2001(4): 39- 42.

[ 3 ] 刘鹏 任英, 闫丽娜. 几个玉米自交系主要农艺性状的配合力和遗传参数分析[ J ]. 玉米科学, 2004, 12(4): 31- 34, 38.

[ 4 ] 许崇香, 付建江, 杨粤 等. 21 份玉米抗冷自交系配合力的分析及利用[ J ]. 玉米科学, 1999, 7(3): 24- 27.

[ 5 ] 温海霞, 蔡一林, 王久光, 等. 9 个玉米自交系主要株型性状的配合力分析[ J ]. 西南农业学报, 2002, 24(3): 223- 224.

[ 6 ] 祁永红. 从黑龙江省农家种选育的 8 个玉米自交系应用潜力分析[ J ]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2002, 24(3): 223- 224.

(上接第 9 页)

电泳上检测(见图 1)。从图 1 可以看出,该方法提取的番茄总 DNA 有清晰的主带,几乎没有降解,无 RNA 污染,所以提取的总 DNA 质量较好。

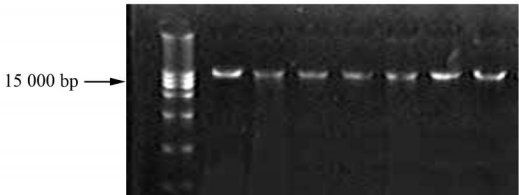


图 1 番茄总 DNA 凝胶电泳

2.2 RAPD 分析检测

将提取的番茄总 DNA 稀释后用于 RAPD 分析(见图 2),从图 2 中可以看出:所扩增的带型清晰,说明所提取的总 DNA 可以满足 RAPD 的要求。

3 讨论

该方法相对于普遍使用的 SDS 提取植物总 DNA 方法的优势在于:

3.1 直接在离心管中研磨,不但减少叶片损失还可以

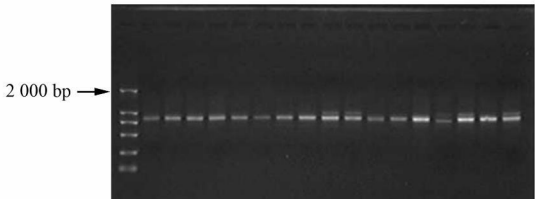


图 2 RAPD 电泳

节省时间,此方法也同样适用于其它植物叶片 DNA 的提取。

3.2 在选材方面,应尽量选取幼嫩新鲜真叶,可以减少组织内的含糖量,从而提高 DNA 的纯度。

3.3 提高了 SDS 的浓度(20%),并减少了 Tris-HCl 的浓度(从原来的 100 mmol · L<sup>-1</sup> 降至 50 mmol · L<sup>-1</sup>),这样可以有效去除番茄叶片内所含有大量酚类物质,从而提高了总 DNA 的质量。

参考文献:

[ 1 ] 董大跃, 伍新尧, 陆惠玲, 等. DNA 提取方法的比较及改良[ J ]. 中山大学学报, 2003, 24(4): 411- 412.

[ 2 ] 乙引, 罗在渠, 柯波. 几种 DNA 提取方法的比较[ J ]. 生物学通报, 2004, 39(4): 55.