

张雨欣,高秋,逢洪波,等.小白鼠 6 种组织部位总 DNA 不同提取方法的比较[J].江苏农业科学,2015,43(10):47-50.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.10.013

小白鼠 6 种组织部位总 DNA 不同提取方法的比较

张雨欣¹,高秋²,逢洪波¹,赵佳欣¹,秦源源¹,姚丽梅¹,魏继莹¹

(1. 沈阳师范大学化学与生命科学学院,辽宁沈阳 110034; 2. 农业部全国草业产品质量监督检验测试中心,北京 100125)

摘要:为了得到经济、简便、易于操作且效果好的基因组 DNA,选取小白鼠 6 种不同的组织部位:肝、脾、肾、尾、肺和心脏,分别采用 SDS 法和 CTAB 法提取基因组 DNA,通过琼脂糖凝胶电泳、紫外分光光度计和 PCR3 种手段对其质量和浓度进行检测,结果显示:小白鼠 6 种组织部位采用 SDS 和 CTAB 法提取的基因组 DNA 均可扩增得到目的基因,满足下一步分子生物学试验的要求。但是从 DNA 的质量和产量方面,不同组织部位之间具有很大差别,CTAB 法和 SDS 法针对不同的组织部位具有不同的优势。总体来看,在小白鼠的 6 种组织部位中,肝脏最适合用来提取基因组 DNA。

关键词:SDS 法;CTAB 法;基因组 DNA;DNA 提取;小白鼠;组织器官

中图分类号:Q523 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)10-0047-03

DNA 是生物体的基本遗传物质。基因组 DNA 的提取是分子生物学的基础试验操作^[1],其提取效率和质量的的好坏直接决定了后面一系列基因工程试验的成败,如基因分离、AFLP、RAPD、SSR 等。因此,学习、掌握 DNA 提取方法并对其进行比较、总结,有利于后续试验的顺利开展。国内外研究人员已经发现并使用了多种 DNA 提取方法^[2-7],并且针对不同生物体的具体特点,对许多方法进行了改良,摸索出适用于具体物种的高效方法^[8-15]。目前,传统的 SDS 法和 CTAB 法由于其成本低廉、提取的 DNA 质量相对较好,在实际应用中仍占有主要地位。随着生物技术的普及和应用,使用试剂盒提取基因组 DNA 逐渐增多^[16-19]。基因组提取试剂盒具有操作简便、节省时间等独特优势,但是对于一般的实验室、特别是普通高等学校来说,由于价格较为昂贵,在很大程度上限制了其使用范围;尤其对刚接触分子生物学试验的初学者,只知道按照说明书流程操作,不了解试剂的化学成分、具体配制方法及作用,不利于理解、掌握试验的基本原理,动手能力差、试验技能得不到提高,最终出现一旦离开试剂盒,什么试验也不会做的情况。本试验以普通试验动物小白鼠作为提取基因组 DNA 的材料,选取小白鼠的 6 个组织部位,分别是肝、脾、肾、尾、肺和心脏,采用提取基因组 DNA 的经典方法 SDS 法和 CTAB 法,提取小白鼠的基因组 DNA,并对其质量、浓度、纯度进行检测,从中筛选出经济、简便、易于操作、质量良好的基因组 DNA,这对于今后的试验教学和科研工作具有重要的指导作用。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料 小白鼠购自沈阳医学院实验中心。

1.1.2 试剂 dNTP、DNA Marker、高保真酶均购自宝生物工程(大连)有限公司,引物于 Invitrogen 北京分公司合成,CTAB 和 SDS 法提取液配制所需药品购自 Sigma,其余所用的化学试剂(氯仿、异戊醇、异丙醇、乙醇等)均为国产分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 SDS 提取法 参照中真核基因组 DNA 提取方法[方案 5]^[1]从鼠尾或其他小样本中制备基因组 DNA 并作适当修改。此流程最初由 Palmiter 等^[20]提出,现在关于动物基因组提取的很多方法都是由此衍生而来的。其具体步骤如下:

样品预处理:解剖小鼠,PBS 磷酸缓冲液冲洗各组织部位后,将组织尽量剪碎后分别放入冻存管,液氮速冻后,保存于 -70 ℃。其中尾巴部位剪成 1 cm 左右小段。取小鼠不同部位组织至灭菌研钵中,液氮研磨。研磨好的样品放入到灭菌离心管中,为了便于试验结果的比较,将研碎的组织均加入到离心管 500 μL 刻度处。加入 500 μL SNET 裂解缓冲液,再加入 10 μL 蛋白酶 K(20 mg/mL)使终浓度达到 400 μg/mL,充分混匀后,60 ℃保温 1.5 h。待冷却至室温时加入等体积氯仿:异戊醇(24:1),上下轻柔翻转 5 min;12 000 r/min,室温离心 10 min,取上清液转移到新的 1.5 mL 离心管中。加入 2.5 μL RNaseA(10 μg/μL),37 ℃保温 30 min 除去其中的 RNA。加入等体积氯仿:异戊醇(24:1),上下轻柔翻转 5 min;12 000 r/min,离心 10 min,取上清液到 1 个新的 1.5 mL 离心管中,重复此操作 1 次。加入 2/3 倍体积异丙醇,-20 ℃静置 10 min,沉淀 DNA。4 ℃,12 000 r/min 离心 10 min 收集沉淀的 DNA。用 70% 的乙醇清洗沉淀,4 ℃12 000 r/min 离心 5 min,去上清。用冷冻的无水乙醇清洗沉淀。4 ℃12 000 r/min 离心 7 min,去上清。室温干燥 DNA。加入 20 μL TE 溶解 DNA,-20 ℃保存备用。

1.2.2 CTAB 提取法 参照 Doyle 等的方法^[3],并进行适当修改。试验流程绝大部分与 SDS 法相同,只在划线处存在变

收稿日期:2014-10-13

基金项目:国家自然科学基金(编号:31100176);沈阳师范大学生态与环境研究中心主任基金(编号:EERC-K-201404);沈阳师范大学大学生创新创业训练计划(编号:20141016613031);沈阳师范大学大学生课题资助项目。

作者简介:张雨欣(1993—),女,辽宁阜新。E-mail:1849147042@qq.com。

通信作者:逢洪波,博士,讲师,研究方向为生物化学与分子生物学。
E-mail:panghongbo800206@163.com。

动。划线处试验步骤改为:将研磨好的样品,加入预热好的 4×CTAB 提取液 500 μL,同时加入 10 μL 的 β-巯基乙醇。

1.2.3 基因组 DNA 琼脂糖凝胶电泳 2 种方法提取不同组织部位的基因组 DNA,每个样品吸取 1 μL 原液,选择 λ-HindⅢ 作为 DNA marker,0.8% 琼脂糖凝胶电泳,120 V,30 min,EB 染色后,凝胶成像仪(中国北京宾达英创科技有限公司,202D 型)拍照保存。

1.2.4 基因组 DNA 质量和浓度测定 使用超微量分光光度计 NanoDrop 2000(Thermo)检测 DNA 的纯度及浓度,分别测定基因组 DNA 在 $D_{260\text{ nm}}$ 和 $D_{280\text{ nm}}$ 的吸光度,以及 $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$ 和 $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$ 比值。同时,测定提取的基因组 DNA 的浓度。

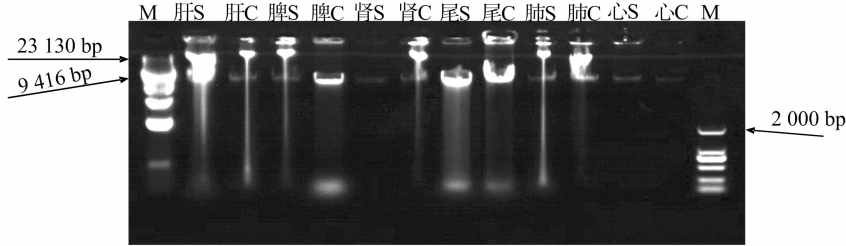
1.2.5 PCR 扩增 使用小鼠看家基因引物^[21] *Actin* F(5′-CGGGACCTGACCGACTACCT-3′)和 *Actin* R(5′-GGCCGTGATCTCCTCTGCG-3′)进行扩增,目的片段长 411 bp。试验采用 20 μL 体系,成分如下:13.7 μL ddH₂O;2.0 μL 10×PCR Ex buffer;2.0 μL dNTP (2.5 mmol/L each);0.8 μL *Actin* F (5 mmol/L);0.8 μL *Actin* R (5 mmol/L);0.5 μL DNA 模板。提取的 12 个基因组 DNA 样品,根据浓度将其稀释成不同倍数,达到终浓度大约为 8 ng/μL,用作 PCR 模板。PCR 程序设

为:94℃ 预变性 3 min;94℃ 30 s,58℃ 30 s,72℃ 45 s,30 个循环;最后 72℃ 延伸 5 min。吸取 5 μL 扩增产物,0.8% 琼脂糖电泳检测目的基因扩增情况。

2 结果

2.1 琼脂糖凝胶电泳检测结果

SDS 法和 CTAB 法提取 6 个组织部位基因组 DNA,每个部位每种方法任选 1 个作为代表,吸取 1 μL 原液,同时吸取 3 μL DNA marker 进行琼脂糖凝胶电泳后,结果如图 1 所示,12 个点样孔跑出的电泳条带,除了肾/SDS、心/SDS 和心/CTAB 条带较暗外,其余 9 个样品条带较亮、无拖尾;与 λ-HindⅢ 相比较,所有样品 DNA 大小均在 10 kb 左右(如图 2 左侧箭头所示),说明提取的基因组 DNA 完整性较好。但是几个浓度大的样品,点样孔存在不同程度 EB 吸收,并且在基因组 DNA 条带后方、靠近点样孔一侧有明亮度不同的条带,浓度低的样品则没有,而将浓度高的 DNA 样品进行稀释后,重新进行琼脂糖凝胶电泳,这一现象消失。因此推测此种现象很可能是由于 DNA 浓度过大造成的。脾/CTAB 法提取的基因组 DNA 中的 RNA 条带较为明显。



M 代表 DNA marker, 左侧 M 为 λ-HindⅢ, 右侧 M 为 DL2000; S、C 分别为 SDS 和 CTAB 的缩写
图1 基因组 DNA 琼脂糖凝胶电泳结果

2.2 紫外分光光度计检测 DNA 质量和浓度

采用紫外分光光度法测定提取的基因组 DNA 的纯度和浓度, $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$ 比值用来衡量蛋白质的去除情况, $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$ 比值用来衡量盐分去除情况,结果如表 1 所示。2 种方法提取 6 种不同组织部位的基因组 DNA,浓度和质量方面有很大差异。

在 DNA 浓度方面,SDS 法提取 6 个组织部位的基因组 DNA 中,肝脏浓度最高,达到了 $(7\,053.60 \pm 48.00)\text{ ng}/\mu\text{L}$;心脏最低,平均值只有 $13.32\text{ ng}/\mu\text{L}$,两者浓度相差了 500 多倍;其余几个部位的浓度,从高到低依次为肺>脾>尾>肾。采用 CTAB 法提取的 6 个组织部位的基因组 DNA,DNA 浓度的数值也是肝脏最大 $(2\,871.10 \pm 67.18)\text{ ng}/\mu\text{L}$,心脏最低 $(8.27 \pm 0.35)\text{ ng}/\mu\text{L}$,这点与 SDS 法相同,但是所获得的基因组 DNA 浓度均低于 SDS 法。其余 4 个部位的 DNA 浓度,从高到低依次为脾>肾>尾>肺。

在提取的 DNA 质量方面,主要根据 $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$ 和 $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$ 的比值来衡量。 $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$ 的比值可以看出基因组 DNA 中蛋白质和 RNA 的去除情况。纯净 DNA 的 $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$ 比值应为 1.8,如果小于 1.6 说明有蛋白质、酚等污染,如果大于 1.9,证明 RNA 去除不完全。

从表 1 可以看出,肾/SDS 纯度最差,平均值只有 1.47;其次是心/SDS 和心/CTAB,分别是 1.71 和 1.68;脾/CTAB 比

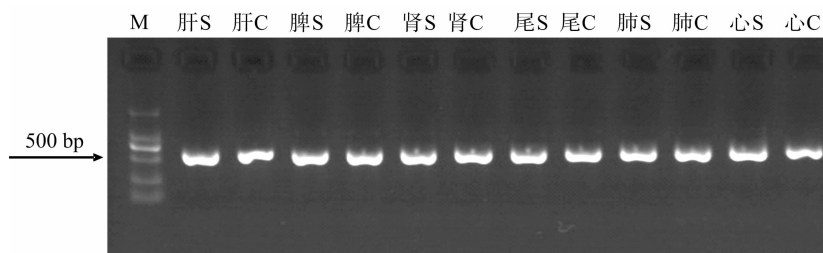
值是 2.05;而其余几个样品提取的基因组 DNA 质量较好,范围在 1.73~1.86 之间。 $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$ 的比值可以检测出基因组 DNA 中盐分的去除情况,如果 DNA 盐分去除完全, $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$ 的比值应该在 2.0 以上。提取的所有样本,除了肺/SDS、尾/SDS、脾/SDS、脾/CTAB 和肝/CTAB 这 5 个样品的值接近于 2.0(在 1.93~2.06 之间)之外,剩下的 7 个样品的盐分都没有去除完全(0.78~1.73),特别是其中的肾/SDS,比值只有 0.78。

表 1 2 种方法提取 6 个组织部位的基因组 DNA 浓度与纯度的检测结果

| 组织部位 | 提取方法 | 提取量 (ng/μL) | $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$ | $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$ |
|------|------|-----------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 肝 | SDS | $7\,053.60 \pm 48.00$ | 1.85 ± 0.006 | 1.73 ± 0.016 |
| 肝 | CTAB | $2\,871.10 \pm 67.18$ | 1.86 ± 0.009 | 1.96 ± 0.016 |
| 脾 | SDS | 845.40 ± 18.48 | 1.79 ± 0.024 | 1.99 ± 0.112 |
| 脾 | CTAB | $1\,709.13 \pm 24.05$ | 2.02 ± 0.173 | 1.93 ± 0.017 |
| 肾 | SDS | 23.47 ± 0.86 | 1.47 ± 0.059 | 0.78 ± 0.041 |
| 肾 | CTAB | $1\,348.53 \pm 46.88$ | 1.79 ± 0.022 | 1.64 ± 0.045 |
| 尾 | SDS | 731.20 ± 28.82 | 1.81 ± 0.019 | 1.93 ± 0.026 |
| 尾 | CTAB | 398.61 ± 11.53 | 1.73 ± 0.031 | 1.48 ± 0.042 |
| 肺 | SDS | 848.45 ± 14.97 | 1.86 ± 0.032 | 2.06 ± 0.135 |
| 肺 | CTAB | 266.94 ± 8.24 | 1.73 ± 0.039 | 1.42 ± 0.038 |
| 心 | SDS | 13.32 ± 0.81 | 1.71 ± 0.040 | 1.29 ± 0.179 |
| 心 | CTAB | 8.27 ± 0.35 | 1.68 ± 0.014 | 1.44 ± 0.039 |

2.3 PCR 检测

将 2 种方法 6 种不同组织部位提取的基因组 DNA 样品进行 PCR 扩增,吸取 5 μ L PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳,结果见图 2。由图 2 可见,以 0.5 μ L DNA 作为模板进行 PCR



M 为 DL2000; S、C 分别为 SDS 和 CTAB 的缩写

图2 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳图片

3 讨论

小白鼠是高校常用的一种试验动物,其组织部位由于其细胞类型、代谢产物等成分的不同,对不同的提取方法适用性也不一样。并且由于含有的一些特殊物质,导致在基因组 DNA 提取过程中,操作的难易度也不一样。试验共选取了 6 个组织部位,肝、脾、肾、尾、肺和心脏,尽管对样品进行了预处理(尽量将组织减碎),但是在研磨的难易度上,不同组织部位,差别很大。最容易研磨的部位是肝脏,并且肝脏的样品量最大,得率也最高;最不容易研磨的部位是尾巴,但是尾部除去漂浮的毛后,含的杂质最少,上清液最为清晰,后面的试验操作最为容易。而脾、肺、心的上清液都比较黏稠,后面较难操作。

为了节省时间,提高试验效率,将细胞裂解、释放基因组 DNA 的时间进行了改良,即水浴时间缩短到 1.5 h。同时为了便于比较 2 种方法的优劣,水浴的温度都定在了 60 $^{\circ}$ C,观察紫外分光光度计的检测结果,可以看出,除了肾/S、心/S 和心/CTAB 外,大部分样品的蛋白都去除得比较彻底。

SDS 法提取 6 个组织部位得到的基因组 DNA, $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$ 的比值普遍都低于 2.0,说明 SDS 法提取基因组 DNA 时,去盐不完全,但是从 PCR 结果来看,可以扩增出目的基因,说明用于普通的分子生物学操作没有问题。如果用于要求较高的分子生物学试验,可以采取无水乙醇洗涤沉淀 DNA, DNA 溶于水而不是 TE 等措施除去多余盐分,从而进一步纯化提取的基因组 DNA。而肾/SDS 相对肾/CTAB 的浓度来说,得率非常低,有可能是 SDS 法不适合用于提取肾脏部位 DNA,肾/SDS 的 $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$ 和 $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$ 的比值(均是最差的数值)也从另一方面说明了 SDS 方法提取肾脏部位的基因组 DNA 质量稍差。

CTAB 法提取的 6 个组织部位的基因组 DNA 浓度,除了肝脏(最高)和心脏(最低)外,其余 4 个部位从高到低依次为脾>肾>尾>肺;而 SDS 法为肺>脾>尾>肾,说明在这 4 个组织部位中,2 种方法各具优势。根据 $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$ 的测定结果,相对于脾/SDS = 1.79 的比值,脾/CTAB 质量稍差,达到了 2.05,说明 RNA 没有去除完全,基因组 DNA 的琼脂糖凝胶电泳图片也说明了这一点。另外一个与 SDS 法差别较大的是肾脏,SDS 法测的比值只有 1.47,而肾/CTAB 达到了 1.79。说明 CTAB 法比较合适肾脏部位基因组 DNA 的提取。

扩增,1~12 号点样孔均出现明亮、特异的条带,条带大小 400 多 bp,符合目的片段的长度。同时阴性对照无任何条带出现,证明在整个 PCR 扩增过程中没有污染。

总的来看,采用 SDS 和 CTAB 2 种方法对小鼠的 6 个组织部位基因组 DNA 进行提取,提取的基因组 DNA 基本都能满足分子生物学研究。根据琼脂糖凝胶电泳图片、DNA 的浓度和纯度,及 PCR 扩增效果,说明 SDS 和 CTAB 这 2 种提取方法,对于不同的组织部位具有不同的优势。综合来看,小鼠的 6 个组织部位中,肝脏最合适用来作为提取基因组 DNA 的材料。

参考文献:

- [1] 萨姆布鲁克 J. 分子克隆实验指南[M]. 3 版. 北京:科学出版社, 2008:461-485.
- [2] Basuni A A, Butterworth L A, Cooksley G, et al. An efficient extraction method from blood clots for studies requiring both host and viral DNA[J]. Journal of Viral Hepatitis, 2000, 7(3):241-243.
- [3] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytochem Bull, 1987, 19:11-15.
- [4] Nagori R, Sharma P, Habibi N, et al. An efficient genomic DNA extraction protocol for molecular analysis in annona reticulata[J]. National Academy Science Letters, 2014, 37(2):137-140.
- [5] 王文, 施立明. 一种改进的动物线粒体 DNA 提取方法[J]. 动物学研究, 1993, 14(2):197-198.
- [6] 汪永庆, 王新国, 徐来祥, 等. 一种动物基因组 DNA 提取方法的改进[J]. 动物学杂志, 2001, 36(1):27-29.
- [7] 张宁, 王凤山. DNA 提取方法进展[J]. 中国海洋药物, 2004, 98(2):40-46.
- [8] Di Bernardo G, Del Gaudio S, Galderisi U, et al. Comparative evaluation of different DNA extraction procedures from food samples[J]. Biotechnology Progress, 2007, 23(2):297-301.
- [9] Peano C, Samson M C, Palmieri L, et al. Qualitative and quantitative evaluation of the genomic DNA extracted from GMO and non-GMO foodstuffs with four different extraction methods[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(23):6962-6968.
- [10] Wu J, Lin I H, Hayes R B, et al. Comparison of DNA extraction methods for human oral microbiome research[J]. Journal of International Medical Research, 2014, 4(10):1980-1991.
- [11] 赵晓丽, 李晓霞, 刘德华, 等. 3 种方法对临床菌血症样本细菌 DNA 提取的比较[J]. 昆明医科大学学报, 2014, 35(4):117-120.
- [12] 陈国明, 魏海莲, 李志强, 等. 平菇 DNA 不同提取方法比较[J]. 广西林业科学, 2014, 43(1):73-78.

张超,杨永智,王舰,等. 双单倍体马铃薯 DM 再生体系的构建[J]. 江苏农业科学,2015,43(10):50-52.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.10.014

双单倍体马铃薯 DM 再生体系的构建

张超¹, 杨永智², 王舰², 周云²

(1. 青海大学, 青海西宁 810016; 2. 青海省农林科学院/教育部青藏高原生物技术重点实验室, 青海西宁 810016)

摘要:以双单倍体马铃薯 (*Solanum tuberosum*) DM1-3-516-R44 的无菌茎段、叶片作为材料, 构建马铃薯离体再生体系。结果表明, 茎段愈伤组织适宜的诱导培养基 BI 为 MS+0.5 mg/L IAA+2.5 mg/L 6-BA, 叶片愈伤组织适宜的诱导培养基 BN 为 MS+1 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA, 愈伤的平均诱导率均达 95% 以上, 甚至可以全部诱导愈伤形成; 愈伤组织分化不定芽适宜的培养基 BZ 为 MS+3 mg/L 6-BA+0.5 mg/L ZT, 分化率也达到 90% 左右。

关键词:马铃薯; 双单倍体; 愈伤组织诱导; 再生体系

中图分类号: S532.043 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)10-0050-03

马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 是粮蔬两用的经济作物^[1], 我国对马铃薯的需求量日益增加。马铃薯于 17 世纪传入我国, 并迅速在我国西北地区大面积取代低产的粮食作物, 成为当时西北地区最重要的粮食作物之一^[2]。由于马铃薯通过营养体繁殖, 繁殖数代后会出现高染病率, 从而影响马铃薯的产量、品质^[3]。近年来, 随着细胞培养技术、基因组学的发展, 马铃薯的品质得到极大提高。在我国, 大多数学者以 MS 普通培养基为基本培养基, 添加适量的植物激素, 以马铃薯茎段、叶片、薯块等为材料得到再生植株^[4]。由于不同品种马铃薯的基因型存在差异, 导致马铃薯对植物激素的耐受性也不尽相同, 因而各品种马铃薯的再生体系无法完全套用^[5-11]。本试验所用材料为 2011 年测序成功的马铃薯品种, 探究其再生体系, 旨在为后续马铃薯基因表达、转基因研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以 2011 年 7 月测序成功的双单倍体马铃薯 DM1-3-516-R44 无菌试管苗 (简称 DM) 为材料, 在 MS 基础培养基中扩繁, 培养温度为 (25±2) °C, 光照时间为 14 h/d, 白天采用日光灯补光。由于其长势较弱, 故采用生长近 1 个月的无菌苗作为材料。所用植物激素 IAA、NAA、2,4-D、6-BA、ZT^[12] 以及试剂均为生工生物工程 (上海) 股份有限公司产品。

1.2 方法

结合 DM 本身特性, 利用植物分裂素 IAA、NAA、2,4-D 和植物生长素 6-BA、ZT 不同浓度配比来诱导愈伤组织形成、不定芽分化^[9,13-17]。

1.2.1 茎段、叶片的愈伤组织诱导 选取生长 30 d 左右的 DM 无菌马铃薯试管苗, 分别切下叶片、茎段, 去除叶片边缘。切取长为 0.5 mm 左右的茎段, 不可带生长点。分别将上述材料放入加有植物激素的 MS 培养基中, 培养 25~30 d。

为了得到更加合适的配比, 设定植物分裂素与植物生长素配比从高到低为梯度, 进一步确定诱导茎段、叶片愈伤组织合适的植物激素配比。

1.2.2 愈伤分化不定芽培养基的选择 将愈伤组织放入含有

收稿日期: 2014-09-15

基金项目: 青海省 (应用) 基础研究计划 (编号: 2013-Z-720); 青海省农业科技成果转化与推广计划 (编号: 2012-N-505)。

作者简介: 张超 (1989—), 男, 陕西西安人, 硕士研究生, 主要从事马铃薯基因转化研究。E-mail: carrysimon@163.com。

通信作者: 杨永智, 硕士, 副研究员, 主要从事马铃薯种质资源创新研究。Tel: (0971) 5315270; E-mail: Zhmyyz03@yahoo.com.cn。

[13] 金晶, 朱玲, 高军, 等. 三种 DNA 抽提方法对新鲜血细胞及冻血细胞 DNA 抽提效能的比较[J]. 第二军医大学学报, 2014, 35(1): 101-105.

[14] 李晓晓, 赵焕英, 杨云廷, 等. 三种人全血基因组 DNA 提取方法的比较[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(27): 5221-5225.

[15] 白雪嵩, 赵昶灵, 陈中坚, 等. 5 种提取三七基因组 DNA 方法的比较[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(5): 54-56.

[16] Kennedy N A, Walker A W, Berry S H, et al. The impact of different DNA extraction kits and laboratories upon the assessment of human gut microbiota composition by 16S rRNA gene sequencing[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e88982.

[17] Vishnivetskaya T A, Layton A C, Lau M C, et al. Commercial DNA extraction kits impact observed microbial community composition in

permafrost samples[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2014, 87(1): 217-230.

[18] 李进波, 盛婧, 李想, 等. 五种 DNA 提取方法对鱼加工制品 DNA 提取效果的比较[J]. 生物技术通报, 2014(4): 43-49.

[19] 郭妍, 惠长野, 张文, 等. 牛肺基因组 DNA 的提取及其质量分析[J]. 中国生物制品学杂志, 2014, 27(5): 712-715.

[20] Palmiter R D, Chen H Y, Messing A, et al. SV40 enhancer and large-T antigen are instrumental in development of choroid plexus tumours in transgenic mice[J]. Nature, 1985, 316(627): 457-460.

[21] 王静华. 哺乳小白鼠在不同泌乳阶段乳铁蛋白 (lactoferrin) 基因表达的差异及铁对其表达影响的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2004: 30-31.