

论著

新生隐球菌基因组DNA不同抽提方法的比较

邹先彪<sup>1,2</sup>, 廖万清<sup>2</sup>, 温海<sup>2</sup>, 吴建华<sup>3</sup>, 仇芸<sup>2</sup>, 杨金水<sup>4</sup>

1. 北京市解放军总医院304临床部皮肤科, 北京, 100048;
2. 第二军医大学长征医院皮肤科, 上海, 200003;
3. 第二军医大学长海医院皮肤科, 上海, 200433;
4. 复旦大学遗传所, 上海, 200433

**摘要:** 目的 DNA是进行分子生物学研究的重要基础。在本研究中,我们建立了2种简单快速抽提基因组DNA的方法并可用作PCR扩增的模板。通过比较4种不同的DNA抽提方法以确定哪种更适合进行下一步的基因分析。方法 这4种方法是:玻璃珠法,酶法,3%SDS法和氯化苄法。玻璃珠法是用玻璃珠在涡旋器上剧烈振荡破碎细胞壁;3%SDS法是将细胞在含10mmol/LDTT的3%SDS溶液中加热,然后用5mmol/LKAc和异丙醇抽提,DNA的产量通过A260测定。结果 3%SDS溶解法、经典酶法、玻璃珠法和氯化苄法的DNA产量分别为0.4154±0.0367、0.8484±0.0756、1.2636±0.2040、0.4070±0.0339(g/L×10<sup>8</sup>CFU/mL)。结论 玻璃珠法是最敏感、重复性好、简单、费用合理的抽提方法。

关键词: 新生隐球菌 DNA抽提 方法

Comparative study of extraction methods for genomic DNA of *Cryptococcus neoformans*

ZOU Xian-biao<sup>1,2</sup>, LIAO Wan-qing<sup>2</sup>, WEN Hai<sup>2</sup>, WU Jian-hua<sup>3</sup>, QIU Yun<sup>2</sup>, YANG Jin-shui<sup>4</sup>

1. Department of Dermatology, 304th Hospital Affiliated to PLA General Hospital, Beijing 100048, China;
2. Department of Dermatology, Changzheng Hospital, The Second Military Medical University, Shanghai 200003, China;
3. Department of Dermatology, Changhai Hospital, The Second Military Medical University, Shanghai 200433, China;
4. Institute Genetic of Fudan University, Shanghai 200433, China;

**Abstract:** Objective To establish simple and rapid methods for extracting genomic DNA from *C. neoformans*. To compare and search the better one for gene analysis. Methods Glass beads method, classical lytic enzyme treatment, 3%SDS lysis and the benzyl chloride method were set up and compared. In glass beads method, cells were broken by vigorously mixing with glass beads on a vortex; In 3%SDS method, cells were heated in 3%SDS extraction buffer containing 10 mmol/L DTT for 20 minutes. The lysate was extracted with 5 mmol/L KAc and isopropanol. Yield of DNA was calculated from the A260 for clean DNA. Results DNA production by 3%SDS lysis, classical lytic enzyme treatment, glass beads method and the benzyl chloride method was 0.415 4±0.036 7, 0.848 4±0.075 6, 1.263 6±0.204 0, 0.407 0±0.033 9 (g/L×10<sup>8</sup> CFU/mL) respectively. Conclusions Glass beads method was more sensitive, reproducible, simple and cost-effective for DNA extraction.

Keywords: *Cryptococcus neoformans* DNA extraction methods

收稿日期 2010-02-11 修回日期 网络版发布日期

DOI:

基金项目:

国家自然科学基金(39770002)

通讯作者:

作者简介: 邹先彪,男(汉族),博士,副主任医师.E-mail:xbzou@126.com

作者Email:

参考文献:

- [1] Illnait-Zaragozi MT, Manínez-Machín GF, Fernández-Andreu CM, et al. Microsatellite typing of clinical and environmental *Cryptococcus neoformans* vat. grubii isolates from Cuba shows multiple genetic lineages[J]. PLoS ONE, 2010, 5(2): e9124.
- [2] 邹先彪, 廖万清, 温海, 等. 新生隐球菌原生质体形成条件的研究[J]. 第二军医大学学报, 2001, 22(11): 22-24.
- [3] Zhu H, Qu F, Zhu LH. Isolation of genomic DNAs from plants, fungi and bacteria using benzyl chloride[J]. Nucleic Acids Research, 1993, 21 (22): 5279-5280.
- [4] 彭秀玲, 袁汉英, 谢毅, 等. 基因工程实验技术[M]. 第二版. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1998.
- [5] Pericolini E, Cenci E, Monari C, et al. *Cryptococcus neoformans* capsular polysaccharide component galactoxylomannan induces apoptosis of human T-cells through activation of caspase-8[J]. Cellular Microbiology, 2006, 8 (2): 267-275.
- [6] Zaragoza O, Telzak A, Bryan RA, et al. The polysaccharide capsule of the pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans* enlarges by distal growth and is rearranged during budding[J]. Molecular Microbiology, 2006, 59(1): 67-83.
- [7] Charlier C, Chretien F, Baudrimont M, et al. Capsule structure changes associated with *Cryptococcus neoformans*

扩展功能

本文信息

- Supporting info
- PDF(KB)
- [HTML全文]
- 参考文献[PDF]
- 参考文献

服务与反馈

- 把本文推荐给朋友
- 加入我的书架
- 加入引用管理器
- 引用本文
- Email Alert
- 文章反馈
- 浏览反馈信息

本文关键词相关文章

- 新生隐球菌
- DNA抽提
- 方法

本文作者相关文章

- 邹先彪
- 廖万清
- 温海
- 吴建华
- 仇芸
- 杨金水

PubMed

- Article by ZOU Xian-biao
- Article by LIAO Wan-qing
- Article by WEN Hai
- Article by WU Jian-hua
- Article by QIU Yun
- Article by YANG Jin-shui

crossing of the blood-brain barrier[J]. Am J Pathol, 2005, 166(2): 421-432.

[8] Perfect JR. Cryptococcus neoformans: a sugar-coated killer. In molecular principles of fungal pathogenesis[J]. Heitman J, Filler SG, Edwards JE Jr, Mitchell AP, 2006: 281-303. ASM Press, Washington DC.

[9] Casadevall A, Perfect JR. Cryptococcus neoformans[M]. ASM Press, Washington DC. 1998.

[10] Sorrell-TC, Brownlee AG, Ruma P, et al. Concordance of clinical and environmental isolates of Cryptococcus neoformans var. gattii by amplification of polymorphic DNA analysis and PCR fingerprinting[J]. J Clin Microbiol, 1996, 34 (5): 1253 -1260.

[11] Rappelli P, Are R, Casu G, et al. Development of a nested PCR for detection of Cryptococcus neoformans in cerebrospinal fluid[J]. J Clin Microbiol, 1998, 36(11): 3438-3440.

[12] 吴建华, 廖万清, 柴建华. 快速抽提新生隐球菌DNA的新方法[J]. 中华皮肤科杂志, 1994, 27(1): 39-40.

[13] Wairt S, Stateva L, Palittapongarnpim P. Cloning and heterologous expression of Cryptococcus neoformans CNSRB1 cDNA in Saccharomyces cerevisiae[J]. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2008, 39(3): 484-491.

[14] Sandhu GS, Kline BC, Stockman L, et al. Molecular probes for diagnosis of fungal infections[J]. J Clin Microbiol, 1995, 33(11): 2913-2919.

[15] Varma A, Kwon-Chung KJ. Rapid method to extract DNA from Cryptococcus neoformans[J]. J Clin Microbiol, 1992, 29(4): 810-812.

[16] Sandhu GS, Kline BC, Stockman L, et al. Molecular probes for diagnosis of fungal infections[J]. J Clin Microbiol, 1995, 33(11): 2913-2919.

#### 本刊中的类似文章

1. 李平, 温海, 朱红梅, 徐红, 胡婵, 谭宏月. 隐球菌免疫相关的甘露糖受体MR重组腺病毒载体的构建及鉴定[J]. 中国真菌学杂志, 2012, (2): 70-72

2. 李秀丽, 田媛, 史玉玲, 顾俊瑛, 李晓建, 刘至显, 马越娥, 高飞, 王蓓蓓. 新生隐球菌MIS1基因的siRNA表达载体的构建及鉴定[J]. 中国真菌学杂志, 2012, 7(1): 17-19, 23

3. 李秀丽, 田媛, 史玉玲, 顾俊瑛, 刘至显, 李晓建, 高飞. 葵藜中甾体皂苷对新生隐球菌生物膜形成的抑制作用[J]. 中国真菌学杂志, 2011, 6(6): 341-343

4. 周南, 黄晨, 潘炜华, 廖万清. 舍曲林抗新生隐球菌的体外及动物实验研究[J]. 中国真菌学杂志, 2011, 6(5): 267-270

5. 潘炜华, 廖万清, 温海, 赵瑾, Ferry Hagen, Teun Boekhout. 利用微卫星标记研究新生隐球菌分子流行病学[J]. 中国真菌学杂志, 0, ( ): 281-284

6. 周南, 黄晨, 潘炜华, 廖万清. 舍曲林抗新生隐球菌的体外及动物实验研究[J]. 中国真菌学杂志, 0, ( ): 267-270

7. 潘炜华, 廖万清, 温海, 赵瑾, Ferry Hagen, Teun Boekhout. 利用微卫星标记研究新生隐球菌分子流行病学[J]. 中国真菌学杂志, 2011, 6(5): 281-284

8. 冉梦龙, 鲁巧云, 涂平, 万喆, 杨淑霞, 吴艳, 李若瑜, 王爱平. 播散性隐球菌病1例及其实验研究[J]. 中国真菌学杂志, 2011, 6(4): 207-211

9. 孙继梅, 王艳玲, 周秀珍, 郑伟, 张智洁, 刘勇. 新生隐球菌感染12例临床特点及实验室检测的回顾性分析[J]. 中国真菌学杂志, 2011, 6(3): 154-157

10. 贾祎鹏, 朱红梅, 赵瑾, 温海. STE12 $\alpha$ 基因对新生隐球菌形态学影响的初步研究[J]. 中国真菌学杂志, 2010, 5(6): 336-339

11. 张俊勇, 樊一斌, 徐红, 赵瑾, 仇芸, 温海. CD44在隐球菌性脑膜炎发病机制中的作用研究[J]. 中国真菌学杂志, 2010, 5(6): 340-343

12. 史会连, 陈澍, 蒋卫民, 朱利平, 翁心华. 以反复多发脓肿为表现的播散型隐球菌病1例[J]. 中国真菌学杂志, 2010, 5(5): 291-293

13. 王高峰, 孔庆涛, 王雪连, 刘芳, 桑红. 新生隐球菌荚膜研究现状[J]. 中国真菌学杂志, 2010, 5(5): 312-315, 320

14. 鲁莎, 鲁长明, 吴绍熙, 李春阳, 沈永年, 李希清. 应用RAPD技术对我国不同地域红色毛癣菌分离株的遗传多样性研究[J]. 中国真菌学杂志, 2010, 5(4): 206-209, 229

15. 鲁巧云, 余进, 刘伟, 杨建勋, 马蕾, 李若瑜. FTA-DNA直接提取法在病原真菌分子鉴定中的应用[J]. 中国真菌学杂志, 2010, 5(3): 137-140