云南农业大学学报(自然科学)
JOURNAL OF YUNNAN AGRICULTURAL UNIVERSITY (NATURAL SCIENCE)
ISSN 1004-390X
CODEN YNDXAX
CN 53-1044/S
主办：云南农业大学

云南农业大学学报(自然科学) » 2011, Vol. 26 » Issue (4) :437-444 DOI:

一种改良的水稻细胞质基因组制备方法

1.云南农业大学 农学与生物技术学院，云南 昆明 650201； 2.云南省农业科学院 粮食作物研究所，云南 昆明 605205； 3.中国科学院昆明动物所，遗传资源与多样性国家重点实验室，云南 昆明 650223）

An Improved Method for Extraction of Rice Cytoplasmic Genome

(1.College of Agriculture and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;
2.Food Crops Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China;
3.State Key Laboratory of Genetic Resources and Evolution, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China)

摘要 水稻叶绿体和线粒体基因组较小，且均被测序清楚，可以作为研究细胞质遗传的良好材料，而如何快速有效地分离纯化获得高产量和高质量的细胞质基因组是从DNA水平上研究细胞质遗传变异的前提条件。本研究结合了蔗糖密度梯度离心法-全基因组DNA扩增法(whole genome amplification，WGA)，对细胞质基因组的制备进行了改良。改良后的方法仅使用 20 g 的水稻叶片，即可在 2 d 时间内得到浓度达 300 ng/μL 以上，总量达 40 μg 以上的高纯度(OD 260/280 值为1 8~2 0)、完整的叶绿体DNA (chloroplast DNA，cpDNA)和线粒体DNA (mitochondrial DNA，mtDNA)。该法制备的细胞质基因组可以满足多种细胞质基因组实验的要求，包括Solexa全基因组测序技术的要求。

关键词： 水稻 叶绿体DNA 线粒体DNA

Abstract： Due to the small size of rice chloroplast and mitochondria genomes, they are good models for the study on extranuclear inheritance. The key step is how to separate and purify the highquality cytoplasmic genome. In this research, we have developed a new technique based on combination of sucrose stepgradient centrifugation and whole genome amplification (WGA). Through the developed method, we can get high quality and quantity (OD 260/280=18~20) DNA and mitochondrial DNA with about 300 ng/μL of concentration and 40μgof grosses from only 20grice leaves comparing with traditional methods. The chloroplast DNA and mitochondrial DNA can fulfill the needs of much cytoplasmic genome study, even the needs of Solexa whole genome sequencing (new generation sequencing technology).

Keywords： rice chloroplast DNA mitochondrial DNA

Fund:

国家自然科学基金项目(30360054)；云南省科技厅项目(2005C0011Z)

引用本文:
万雯婷1,2，董扬3，于洋2，李丽娟2，张静2，李琼2，王荔1，胡凤益2**.一种改良的水稻细胞质基因组制备方法[J] 云南农业大学学报(自然科学), 2011,V26(4): 437-444

WAN Wen-ting1,2，DONG Yang3，YU Yang2，LI Li-juan2，ZHANG Jing2，LI Qiong2，WANG Li1， HU Feng-yi2.An Improved Method for Extraction of Rice Cytoplasmic Genome[J] Journal of Yunnan Agricultural University, 2011,V26(4): 437-444