

从水稻 Ac/Ds 插入突变体扩增 Ds 侧翼序列的最适 TAIL-PCR 引物

孙丙耀^{1,2*} PIAO Hai-Long² PARK Sung-Han² HAN Chang-Deok²

¹(苏州大学生命科学学院, 苏州 215006)

²(国立庆尚大学植物分子生物学与生物技术研究中心, 韩国晋州 660-701)

摘 要 温度非对称交互 PCR(TAIL-PCR)技术已广泛应用于从多种生物体系克隆侧翼于已知序列的 DNA 片段的分子操作中,并极大地促进了反向遗传学研究。但是,可能由于不同物种间基因组大小和序列存在显著差异,在采用该技术进行转座元件 Ds 水稻插入突变体鉴定过程中,常因 TAIL-PCR 反应的稳定性差而影响突变体筛选效率。有鉴于此,根据 Ds 核苷酸序列设计了分别对应或互补于 Ds 插入元件两端长度不同的 12 个特异引物组成 32 个组合,在大量预试验基础上与 6 个不同简并性(32~256)的随机简并引物分别组合进行 TAIL-PCR 反应,较系统地研究了引物特性对以水稻基因组 DNA 为模板的 TAIL-PCR 反应效率的影响。结果发现,第一反应采用长序列特异引物(36~40mer)可显著提高扩增特异性,随机简并引物的简并度对反应的影响显著。还选择出两个适于从水稻 Ds 插入突变体基因组高效扩增出 Ds 插入侧翼片段的最优特异引物组合和最适简并引物。应用本研究结果可显著地提高 TAIL-PCR 技术筛选水稻插入突变体的效率。

关键词 随机简并(AD)引物, Ds-特异引物, Ds 侧翼序列, 水稻, 温度非对称交互 PCR

中图分类号 Q756 **文献标识码** A **文章编号** 1000-3061(2004)06-0821-06

收稿日期:2004-03-15, 修回日期:2004-06-22。

基金项目:韩国 21 世纪前沿研究计划作物功能基因组学中心资助项目(No. CG1613)、国家自然科学基金(No. 30170556)及江苏省自然科学基金(No. BK2001139)项目资助。

* 通讯作者。 Tel:86-512-65226781; E-mail: sunbingyao@suda.edu.cn

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>