

PCR筛选BAC文库和直接BAC末端测序方法的建立

何聪芬^{1, 2}, 小松田隆夫^{2, ①}

1. 北京工商大学;北京市植物资源研究开发重点实验室;北京100037; 2. 日本农业生物资源研究所;遗传多样性实验室;筑波305-8602;日本

收稿日期 修回日期 网络版发布日期 接受日期

摘要 建立了一种用PCR方法筛选富含高度重复序列的大麦BAC DNA 文库和直接对 BAC DNA进行末端测序的方法。用PCR技术进行大麦BAC DNA 文库(含816个平板, 每个平板含384个克隆)的筛选分4步进行。在实验中, 建立了两个水平的BAC DNA池(一级池和二级池)。一个二级池由一个平板(含有384个克隆)的DNA 组成, 一个一级池由连续10个稀释100倍的二级池的DNA混合而成(如1~10, 11~20等), 共82个一级池。BAC DNA 文库筛选的第一步是对82个一级池的筛选。得到阳性一级池后(如2号一级池), 对其所含的10个二级池(从11~20)进行第二步筛选。得到阳性二级池后, 培养相应的阳性平板的所有克隆(384个), 从头开始(左上侧), 每相邻的4个克隆为一组, 在96孔板上(4 X 96=384)进行第三轮PCR反应; 之后对筛选结果为阳性的4个克隆分别进行菌落 PCR(第四轮)得到单一阳性克隆。根据BAC DNA Hind III 酶切指纹图谱, 对同一引物筛选的BACs进行重叠群作图(Contig)。对代表contig 的两端的BAC DNA直接进行末端测序并对测序结果Blast, 以检测其在大麦中是否属于单拷贝序列。根据测序和Blast结果设计引物, 用中国春附加系(附加大麦染色体)对来自BAC克隆的引物进行染色体定位并用分离群体进行遗传学作图, 以确定是否可以用作下一步的染色体步行。

关键词 [BAC文库](#) [PCR法筛选](#) [指纹图谱](#) [重叠群](#)

分类号

1.Key lab of Plant Resources Research and development;Beijing Technology and Business University;Beijing 100037; China;2.Genetic Diversity Department; National Institute of Agrobiological Science; Tsukuba 305-8602; Japan

Abstract

Key words [BAC library](#) [screening by PCR](#) [fingerprinting](#) [contig](#)

DOI:

通讯作者

扩展功能

本文信息

- ▶ [Supporting info](#)
- ▶ [PDF\(261KB\)](#)
- ▶ [\[HTML全文\]\(0KB\)](#)
- ▶ [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](#)
- ▶ [复制索引](#)
- ▶ [Email Alert](#)
- ▶ [文章反馈](#)
- ▶ [浏览反馈信息](#)

相关信息

- ▶ [本刊中 包含“BAC文库”的相关文章](#)
- ▶ 本文作者相关文章

- [何聪芬](#)
-
- [小松田隆夫](#)
-