

基于微芯片电泳的大米品种鉴定

摘要：本文利用岛津微芯片电泳仪 MultiNA，建立了大米品种的鉴定方法。“越光米”口感香糯、柔软，味道上佳，价格也相对昂贵，作为高级大米的代表之一，极易被不法商贩以次充好。MultiNA 能够有效鉴定出“越光米”的 3 个特异性 PCR 扩增产物（0.65 kbp、0.77 kbp、0.87 kbp）。该方法操作简单，可用于大米品种的鉴定。

关键词：微芯片电泳仪 MultiNA 大米

在分子生物学试验中，PCR 扩增产物核酸片段大小一般经琼脂糖凝胶电泳或聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分析。传统的凝胶电泳分析方法虽然成熟，但在大规模、多批次的数据收集和分析时就显得耗时、耗力，而且也存在着灵敏度、分辨率不高的问题，近年来，随着生物科学的快速发展，针对 DNA 片段大小分析的快速、高通量分析仪器也不断研发出来。荧光标记微芯片电泳检测技术因具有高效、自动化的优点，在核酸片段大小分析研究中显示出极为广阔的应用前景。

第13届北京分析测试学术报告会及展览会（BCEIA, 2009）上，岛津公司展出了 MultiNA 微芯片电泳系统，其采用最新的专利技术，用于 DNA/RNA 的定性与定量分析。北京市农林科学院赵久然研究员课题组运用 MultiNA 对转基因玉米组 DNA 为研究对象进行检测，结果表明，岛津微芯片电泳检测的结果更为精确、灵敏、高效，更适用于高通量材料的检测分析。

本文采用岛津 MultiNA 微芯片电泳仪，参考 GB/T 19557.7-2004《植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南总则》建立了大米品种的鉴定方法。该方法简单、快速、定量效果好，完全满足国家对大米品种鉴定的要求。

1. 实验部分

1.1 仪器配置

MCE-202“MultiNA”微芯片电泳仪

1.2 实验条件

大米 DNA 提取组件（精米 20 粒规模），（宝生物株式会社）9103

大米判定用 PCR 组件 I，（宝生物株式会社）RR211A

DNA-2500 Reagent Kit for MultiNA，（岛津制作所）P/N 292-27912-91

SYBR Gold nucleic acid gel stain，（Invitrogen）S-11494

pGEM DNA Markers，（promega）G1741

1.3 实验步骤

对于 10 种大米样本，使用市售的大米 DNA 提取组件(宝生物)，按照组件说明书，从各样

本群体中分别取20粒提取了大米DNA，通过吸光度测定确认提取DNA的浓度后，对每样本以10 ng/L的DNA为模板，使用大米鉴定用PCR组件，按照组件的说明书实施PCR，最后使用MultiNA分析得到的PCR产物，根据获得的谱带模式进行大米品种的鉴定。

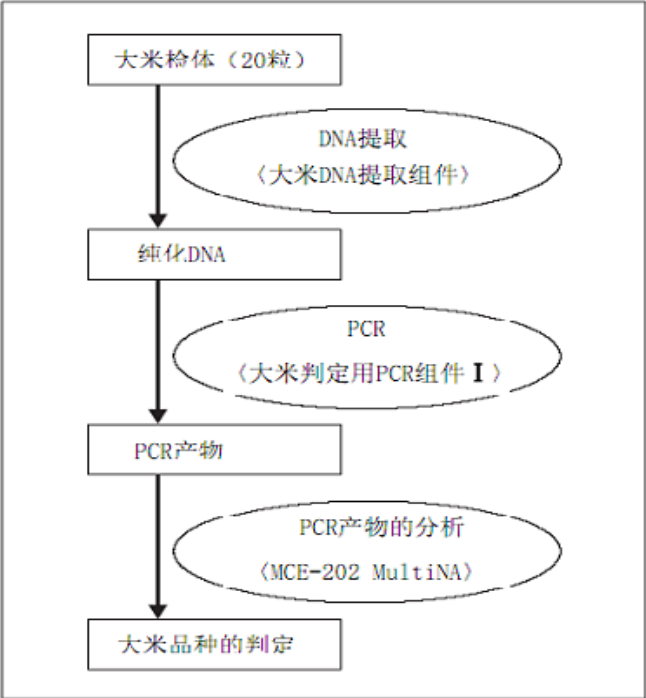


图 1 大米品种鉴定步骤

2. 实验结果

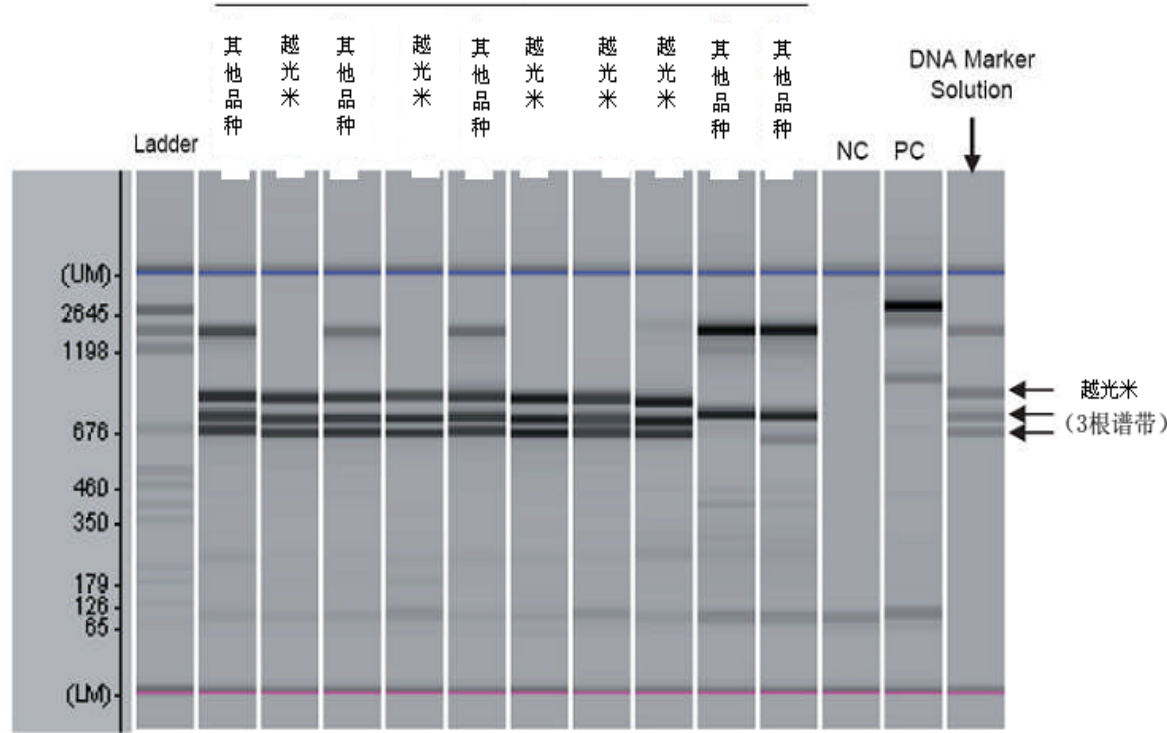


图2 大米DNA的PCR产物的分析结果

Ladder: pGEM® DNA Markers (Promega)

NC: Negative Control

PC: Positive Control

对于 10 种大米品种，从各品种的 20 粒大米提取 DNA，使用大米鉴定用 PCR 组件进行 PCR 扩增后，用 MultiNA 解析了 PCR 产物，结果如图 2 所示。图中，NC 表示 PCR 的 Negative Control 实验（无模板 DNA），PC 表示 Positive Control 实验（以 PCR 组件的 Control Template 作为模板实施 PCR）。以 Control Template 作为模板进行 PCR 时，可得到 0.88 kbp 以及 2.7 kbp 的扩增产物。根据 Negative Control 实验结果（扩增产物未检出）以及 Positive Control 实验结果（检测到特定的扩增产物），判断 PCR 正常进行。

图 2 最右端的泳道内，可看到 Marker DNA solution 中含 4 种 DNA 片段（分别为：0.65 kbp, 0.77 kbp, 0.87 kbp, 1.6 kbp）。与 Marker DNA solution 比对，可鉴定各大米品种。品种为“越光米”时可得到 0.65 kbp、0.77 kbp、0.87 kbp 3 种特异性 PCR 扩增产物，而其他品种的扩增产物的模式则不同于“越光米”，如 1.6 kbp 的 PCR 扩增产物。本次用于检测的 10 个大米品种之中，在 5 个受测样本中观察到“越光米”特有的 3 个扩增产物，所以鉴定为“越光米”。而其他 5 个受测样本，与“越光米”扩增产物的模式不同，所以鉴定为“越光米”以外的其他品种。

3. 结论

岛津 MultiNA 微芯片电泳仪采用四芯片联用单孔进样分析模式，一次可测试多达 108 个样品，一个样品从进样到数据产生的时间为 75 秒，且每个样品的成本为 1 元钱左右。它被认为是最准确的自动化 DNA/RNA 分析系统之一，完全可以用来代替琼脂糖凝胶电泳，实现快速、高通量的核酸片段分析。