

## 蜘蛛 HMW-gDNA 的电洗脱纯化提取

陈格飞<sup>#</sup>, 张云龙<sup>#</sup>, 林森珠, 李文, 孟清<sup>\*</sup>

(东华大学 生物科学与技术研究所, 上海 201620)

**摘要:** 该文研究了蜘蛛大分子量基因组DNA (HMW-gDNA) 的提取以及一种高效电洗脱纯化装置的构建。以蜘蛛胸部肌肉组织为原料, 通过自改良CTAB法提取蜘蛛HMW-gDNA, 利用透析膜和 2 mL离心管构建一种新的HMW-gDNA快速凝胶回收装置, 并对蜘蛛HMW-gDNA进行电洗脱分离回收。结果显示, 改良CTAB法可高效提取蜘蛛HMW-gDNA (>48.5 kb), 且通过透析膜的截留作用, 对普通琼脂糖凝胶中目的HMW-gDNA进行快速电洗脱分离, 其回收率超过 75%, OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>处于 1.8~2.0 之间, 对HMW-gDNA完整性无影响。综合结果表明, 改良CTAB法可用于蜘蛛HMW-gDNA的提取, 此电洗脱纯化装置可从普通琼脂糖中高效回收HMW-gDNA, 是一种低成本、简捷、高效且实用性强的凝胶回收方法。

**关键词:** 高分子量基因组 DNA; 蜘蛛; 快速分离; 电洗脱

中图分类号: Q781; Q523; Q959.226 文献标志码: A 文章编号: 0254-5853-(2009)06-0627-06

## Extraction and Electroelution of Spiders' HMW-gDNA

CHEN Ge-fei<sup>#</sup>, ZHANG Yun-long<sup>#</sup>, LIN Sen-zhu, LI Wen, MENG Qing<sup>\*</sup>

(Institute of Biological Sciences and Biotechnology, Donghua University, Shanghai 201620, China)

**Abstract:** Extraction of high molecular weight genomic DNA (HMW-gDNA) from spider organs and construction of an electroelution system for obtaining HMW-gDNA efficiently are described. We improved the CTAB method to isolate genomic DNA from spider pectoral muscle tissues, constructed a novel electroelution system with the use of 2-mL centrifuge tube and dialysis membrane, and utilized this self-constructed electroelution system to recover target HMW-gDNA from agarose gels. The HMW-gDNA extracted using the improved CTAB method could be over 48.5 kb in size. By trapping the HMW-gDNA with dialysis membrane, the electroelution system could recover target HMW-gDNA from agarose gels rapidly and without affecting the integrity of HMW-gDNA. The recovery rate was over 75% with the OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> ranging from 1.8 to 2.0. The results demonstrate that the improved CTAB method can be used to extract spider HMW-gDNA, and the electroelution system is a general method for recovering target HMW-gDNA from agarose gels with low cost, simplicity, high efficiency and good practicability.

**Key words:** HMW-gDNA; Spider; Rapid isolation; Electroelution

高质量、高纯度大分子量基因组 DNA (high molecular weight genomic DNA, HMW-gDNA) 是大片段基因组文库构建的前提, 也是复杂基因组限制性酶切分析和 Southern 印迹的重要保证 (Wu et al, 1995)。基因组 DNA 的完整性等质量参数对于构建基因组文库和利用 DNA 标记 (如 RFLP 及 RAPD)

进行的基因分型均尤为重要 (Takemon et al, 2006)。

真核基因组 DNA 为双链 DNA, 尽管属于非常惰性的化学物质, 具有良好的化学耐久性, 但在物理上仍是易碎。高分子量基因组 DNA 链长而弯曲, 仅具有极微的侧向稳定性, 因而容易受到最柔和剪切力的伤害。裂解消化、移液、振荡和搅拌等因素

收稿日期: 2009-05-07; 接受日期: 2009-10-13

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (“863” 计划) 项目 (2006AA03Z451); 教育部博士点基金项目 (08Y10512); 东华大学青年教师科研启动基金项目 (105-10-0044018); 上海市大学生创新活动计划项目 (X120704100)

\* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: mengqing@dhu.edu.cn

<sup>#</sup> 并列第一作者 (The authors contributed equally to the work), E-mail: cgf@mail.dhu.edu.cn

都能影响高分子量 DNA 的完整性 (Shao et al, 2008), 一般分子质量越大, 获得的难度也相应增加 (Sambrook & Russell, 2005)。因此, 基因组 DNA 的提取方法应尽量简捷、高效。尤其在大片段基因组 DNA 凝胶回收过程中, 通常采用的机械捣碎法或琼脂糖酶消化法非常容易损伤基因组 DNA, 不易获取完整的基因组 DNA。目前国内外生物公司提供的 DNA 凝胶回收试剂盒主要针对 10 kb 以下的片段, 20 kb 以上 DNA 分子的回收纯化试剂盒极为少见, 并且回收率很低 (一般不超过 60%), 片段完整性也难以保证。

蜘蛛是一类捕食性的节肢动物, 在维护生态系统的平衡、农田害虫的生物防治中起着非常重要的作用。迄今为止, 有关蜘蛛 HMW-gDNA 提取方法的报道还比较少。基于上述考虑, 我们以农田害虫的天敌——蜘蛛作为实验对象, 在前人研究基础上总结出一种提取蜘蛛 HMW-gDNA 的简捷方法, 并利用实验室常见的实验材料构建了从普通琼脂糖凝胶中快速分离目的 HMW-gDNA 的电洗脱回收装置。此改良 CTAB 法可高效高质地进行蜘蛛基因组 HMW-gDNA 的分离提取, 其纯度及完整性完全适用于 PCR 分析、遗传分析、基因克隆和基因定位等分子技术; 此电洗脱回收装置可快速高效的回收目的 HMW-gDNA 且对其完整性无任何影响, 是一种简捷且实用性强的低成本快速通用凝胶回收方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料和试剂

大腹圆蛛 (*Araneus ventricosus*, 采捕于上海地区); 棒络新妇蜘蛛 (*Nephila clavata*, 采捕于山东地区); 2 mL 离心管 (Eppendorf 公司, 德国); 透析膜 (MWCO10000, Millipore 公司, 美国); 二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO); 十六烷基三甲基溴化铵 (cetyl trimethyl ammonium bromide, CTAB) (Amresco 公司, 美国); 聚乙烯吡咯烷酮 (polyvinyl pyrrolidone, PVP) (Sigma 公司, 美国); 十二烷基硫酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS) 和十二烷基磺酸锂 (lithium dodecyl sulfate, LDS) (ICN 公司, 美国);  $\beta$ -巯基乙醇 (Amresco 公司, 美国); 琼脂糖 (Biowest 公司, 西班牙); Tag DNA 聚合酶 (Promega 公司, 美国); CopyControl<sup>TM</sup> HTP Fosmid Library Production Kit (Epicentre, 美国); QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, 德国); 其它

试剂均为国产分析纯。

### 1.2 改良 CTAB 法用于蜘蛛基因组 DNA 的提取

为了避免外源 DNA 污染, 选取蜘蛛胸部肌肉组织作为实验对象。我们基于传统 CTAB 法进行了一系列改良: 首先将 $-80^{\circ}\text{C}$ 冻存的蜘蛛胸部组织 (解剖剥离备用) 置于离心管中, 加入 89% (V/V) 预冷 CTAB [2% (g/V) CTAB, 1.4 mol/L NaCl, 100 mmol/L Tris-HCl (pH8.0), 20 mmol/L EDTA (pH 8.0), 2% (g/V) PVP]、1% (V/V) SDS-LDS 预混液 [10% (g/V) SDS, 10% (g/V) LDS] 和 1% (V/V)  $\beta$ -巯基乙醇, 混匀并轻柔碾碎组织,  $65^{\circ}\text{C}$  水浴 1.5~2.0 h; 孵育后加入等体积的酚-氯仿-异戊醇 (25:24:1) 混和液, 轻柔颠倒混匀, 离心 10 min ( $4^{\circ}\text{C}$ , 12 000 r/min); 移取上清液, 加入等体积的氯仿, 轻柔颠倒混匀, 离心 10 min ( $4^{\circ}\text{C}$ , 12000 r/min); 移取上清 (勿吸取白色沉淀层), 重复上一步; 在上清液中加入等体积的异丙醇, 轻柔颠倒混匀后, 离心 10 min ( $4^{\circ}\text{C}$ , 12 000 r/min), 弃上清; 加入适量 TE 缓冲液 [10 mmol/L Tris-HCl (pH8.0), 0.1 mmol/L EDTA] 溶解沉淀, 加入 1/10 体积的 5 mol/L 乙酸钠和预冷的 2.5 倍无水乙醇, 轻柔颠倒混匀,  $-20^{\circ}\text{C}$  放置 30 min, 离心 15 min ( $4^{\circ}\text{C}$ , 12 000 r/min), 弃上清; 加入 4 mL 70%乙醇洗涤沉淀, 离心 5 min ( $4^{\circ}\text{C}$ , 8000 r/min), 弃上清, 重复 2 次; 室温干燥沉淀 5~10 min, 加入适量 TE 缓冲液溶解基因组 DNA, 保存于 $-20^{\circ}\text{C}$ 或 $4^{\circ}\text{C}$ 备用。如果需要 (对 DNA 样品纯度要求很高时) 可加入 RNase, 以降解基因组 DNA 样品中混有的微量 RNA。

### 1.3 电洗脱回收装置的构建

我们采用自主构建的凝胶回收装置进行目的 HMW-gDNA 的快速分离纯化。该系统采用 2 mL 离心管作为主要部件, 如图 1 所示, 将其在图中虚线处拆分 (剪去管帽和管底) 并截取管帽内部的“内环”, 用以固定透析膜 (要求截流分子量低于所分离基因组 DNA 分子量, 实验中透析膜规格为 MWCO10000)。采用上述“内环”从离心管上下两端压入透析膜封闭管口, 管内载有含基因组 DNA 的琼脂糖凝胶块, 其浸于适量的  $0.5\times\text{TBE}$  电泳缓冲液 (44.5 mmol/L Tris, 44.5 mmol/L 硼酸, 1 mmol/L EDTA)。将整个装置放于水平电泳槽中, 两端分别指向电场的两极, 在电场作用下即可将凝胶中的基因组 DNA 泳出, 并黏附于阳极端透析膜内侧。最后轻轻取出回收装置, 轻轻开启一端, 用

镊子取出凝胶, 移除多余上清液, 留少量 TBE 并用移液器轻轻吹打以重悬黏附于透析膜上的基因组 DNA。回收的基因组 DNA 移至一灭菌离心管中, 加入 1/10 体积 3 mol/L 乙酸钠和 2.5 倍体积无水乙醇, 轻柔颠倒混匀, 于  $-20^{\circ}\text{C}$  静置 30 min, 离心 15 min ( $4^{\circ}\text{C}$ , 12 000 r/min), 弃上清; 再用预冷的 70% 乙醇洗涤 DNA 沉淀, 离心 15 min ( $4^{\circ}\text{C}$ , 10 000

r/min), 弃上清, 重复洗涤一次; 最后室温干燥 5~10 min, 适量 TE 缓冲液溶解, 保存  $-20^{\circ}\text{C}$  中备用。

#### 1.4 HMW-gDNA 的质量鉴定

通过对已知特定基因的 PCR 扩增及序列分析, 可评估制备的基因组 DNA 样本的质量, 即基因序列纯度及完整性 (Takemon et al, 2006)。基因组 DNA 质量将直接影响后续的遗传分析及基因克隆

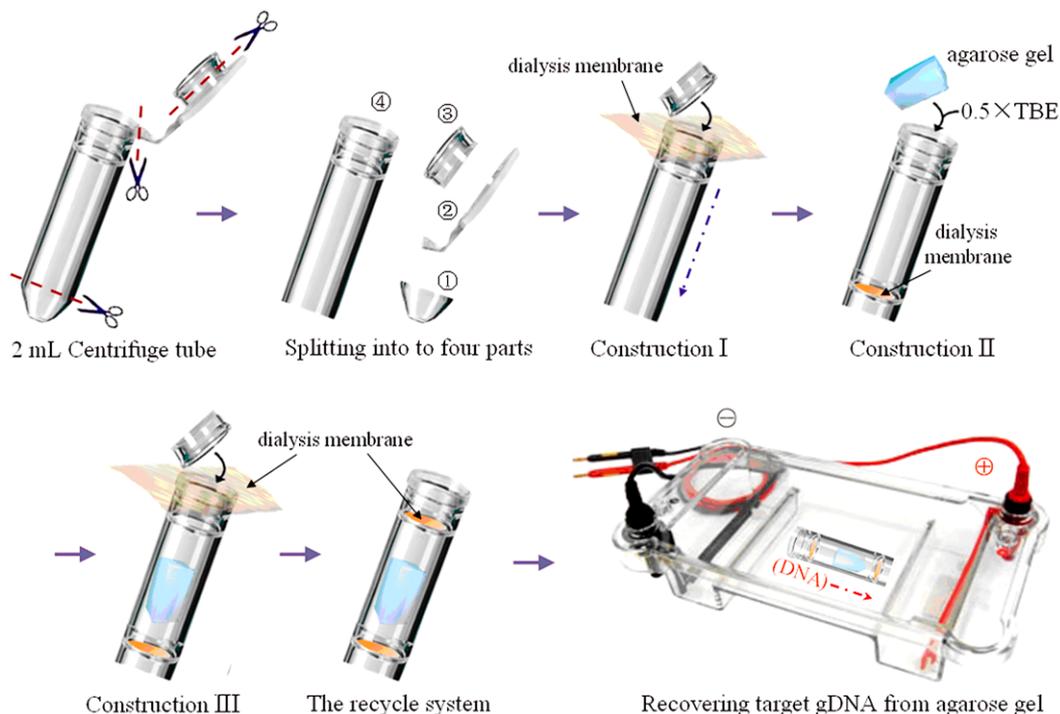


图 1 电洗脱快速回收装置的构建

Fig. 1 Construction of the electroelution system for recovering genomic DNA from agarose gels rapidly

等技术的顺利进行, 尤其是基因组文库的构建。我们随机选取已公布的两段拖丝蛋白编码基因序列, 即 *Araneus ventricosus* (DQ536504) 和 *Nephila clavata* (DQ206887) 设计 PCR 引物, (Primer1: GCAGATAAGAGGGCGTCCAT; Anti-primer1: CTTTCATCTCTCCATCACACA; Primer2: GGGACTAAAAGTGCCAAA; Anti-primer2: GACATCATCCAGAAAG)。采用前述方法提取的 *Araneus ventricosus* 和 *Nephila clavata* 基因组 DNA 为模板扩增两种蜘蛛拖丝基因片段。反应体系为 50  $\mu\text{L}$ , 即  $10\times$  Taq buffer 5  $\mu\text{L}$ , DMSO 2  $\mu\text{L}$ , 2.5 mmol/L dNTP 4  $\mu\text{L}$ , 10  $\mu\text{mol/L}$  上、下游引物各 1  $\mu\text{L}$ , 50~100 ng/ $\mu\text{L}$  模板 DNA 1  $\mu\text{L}$ , Taq 酶 (5 U/ $\mu\text{L}$ ) 1  $\mu\text{L}$ , 灭菌水 35  $\mu\text{L}$ 。反应条件为  $95^{\circ}\text{C}$  预变性 10 min;  $94^{\circ}\text{C}$  变性 40 s,  $60^{\circ}\text{C}$  退火 30 s,  $72^{\circ}\text{C}$  延伸 3 min, 进行 35 个循环; 最后  $72^{\circ}\text{C}$  继续延伸 5 min,  $4^{\circ}\text{C}$  保存。PCR

结束后, 取 2  $\mu\text{L}$  扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物。

## 2 结果与讨论

实验中, 我们选取了蜘蛛胸部肌肉组织作为实验材料, 通过改良的 CTAB 法和常规 CTAB 法提取基因组 DNA, 0.7% 琼脂糖凝胶电泳检测。改良 CTAB 法提取的蜘蛛基因组 DNA 片段远大于 48.5 kb (图 2a), 尽管由于普通琼脂糖凝胶电泳的分辨率有限而未能准确反映出 DNA 分子的实际平均分子量, 但大多数 DNA 条带大于 48.5 kb (DNA Marker, HindIII 消化的噬菌体 DNA), 且降解少, 表明此基因组 DNA 分子量高和完整性好。常规 CTAB 法提取的两种蜘蛛基因组 DNA 经检测均小于 23.1 kb (图 2b), 且降解严重, 其完整性较差。两种方法获取的基因组 DNA 样品经 U0080D 型核酸检测仪 (HITACHI) 测

定其 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 值,其中改良CTAB法提取的蜘蛛基因组DNA  $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 均处于 1.7~1.9 之间,而常规CTAB法提取基因组DNA  $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 大于 2.0,证实改良CTAB法提取的蜘蛛基因组DNA纯度较好。

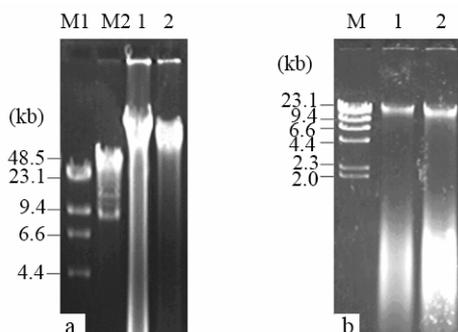


图 2 蜘蛛基因组 DNA 的电泳图谱

Fig. 2 Electrophoretic mobilities of genomic DNA of spider (a) M1:  $\lambda$  DNA/Hind III; M2: Lambda Mix Marker 19; 泳道 1: 大腹圆蛛基因组 DNA; 泳道 2: 棒络新妇基因组 DNA. (b) M1:  $\lambda$  DNA/Hind III; 泳道 1: 大腹圆蛛基因组 DNA; 泳道 2: 棒络新妇基因组 DNA. (a) M1:  $\lambda$  DNA/Hind III; M2: Lambda Mix Marker 19; Lane 1: Extracted gDNA of *Araneus ventricosus*; Lane 2: Extracted gDNA of *Nephila clavata*. (b) M1:  $\lambda$  DNA/Hind III; Lane 1: Extracted gDNA of *Araneus ventricosus*; Lane 2: Extracted gDNA of *Nephila clavata*.

大分子量基因组 DNA (HMW-gDNA) 的高效分离是基因克隆及遗传分析技术的关键步骤,另外,基因组 DNA 的提取还应尽量避免外源 DNA 污染,如实验动物体内的寄生生物和胃内含物,通常情况下,昆虫基因组 DNA 的提取常采用其肌肉组织,因为肌肉组织不含外源 DNA,且易于解剖拨离 (Henry et al, 1990)。鉴于此,我们以蜘蛛胸部肌肉组织作为实验材料。改良 CTAB 法提取的两种蜘蛛基因组 DNA 片段均大于 48.5 kb,且纯度较好,可用于基因组文库构建、Southern 印迹以及 RFLP 和 AFLP 分析。

上述改良 CTAB 法是基于传统方法进行改进。CTAB 是一种去污剂,可破碎细胞壁和细胞膜,并能与核酸形成复合物,在高盐溶液中 (1.4 mol/L NaCl) 是可溶的,当盐浓度降低到一定程度 (0.7 mol/L NaCl) 时,可从溶液中沉淀,通过离心,可将 CTAB-核酸复合物同蛋白质、部分多糖类物质分开,有效去除糖类杂质 (Kotchoni & Gachomo, 2009)。溶解于高盐溶液中的 CTAB-核酸复合物,加入乙醇可使核酸沉淀,而 CTAB 则溶于乙醇 (Luo et al, 2000)。LDS 和 SDS 能破坏蛋白质内的疏水

键,破坏细胞组分,使蛋白质变性、溶解。 $\beta$ -巯基乙醇可断开蛋白质分子内二硫键,还可防止 DNA 断裂并重聚为二聚体。PVP 是酚的络合物,能与多酚形成一种不溶的络合物,有效去除多酚,减少 DNA 中酚的污染;同时它也能和多糖结合,有效去除多糖。CTAB 与这些试剂联合使用,致使细胞释放的各种 DNA 酶类的裂解变性速度加快,降低了基因组 DNA 降解的几率。提取过程中可加入 RNase,降解基因组 DNA 样品内微量 RNA 的污染及影响。另外,改良 CTAB 法缩短了消化时间,减少了基因组 DNA 受损伤的几率,与常规 CTAB 法等相比,具有成本低、耗时短、效率高等优点,因此,这种方法更适合于蜘蛛高分子量基因组 DNA 的提取。

基于目前大分子量 DNA 提取方法和商用试剂盒还尚未解决 HMW-gDNA 高效快速分离回收问题。我们利用实验室常见材料自主构建了电洗脱快速凝胶回收装置 (图 1)。基于构建蜘蛛 Fosmid 基因组文库 (所需 DNA 片段大小 25~40 kb),我们将提取的大于 48.5 kb 的 DNA 大片段进行随机剪切 (用移液器轻微随机吹打剪切,每剪切 30 次取 1~2  $\mu$ L 检测剪切程度,防止剪切过度) 成 30~40 kb 的 DNA 片段 (图 3),并利用此回收装置进行分离。检测结果显示,该装置的回收率高达 75% 以上,且回收的 HMW-gDNA 纯度较高, $A_{260}/A_{280}$  在 1.8~2.0 之间波动 (表 1)。此外,我们也利用 CopyControl<sup>TM</sup> HTP Fosmid Library Production Kit 和 QIAquick Gel Extraction Kit 对上述样品进行回收。如图 3 所示, CopyControl<sup>TM</sup> HTP Fosmid Library Production Kit 在回收过程中对 DNA 损伤较大,大片段断裂,回收后主要集中在 23.1 kb 以下,且损失较大,而 QIAquick Gel Extraction Kit 的回收产物经电泳检测无带,不适合回收 30~40 kb 的 DNA 大片段。

该电洗脱回收装置是基于物理学理论,以电洗脱技术为支撑,依靠透析膜的截留作用洗脱凝胶内的目的基因组 DNA,避免了外源机械力或酶消化作用对基因组 DNA 的损伤。回收的 DNA 片段完整性好、纯度高,可用于构建基因组文库及 Southern 印迹等分子操作。上述两种试剂盒都涉及到低熔点琼脂糖以及琼脂糖酶等,价格较昂贵,但回收率很低,对 DNA 的损伤也较大,而此装置则是利用实验室常见的实验材料进行组装,只需普通的电泳仪及常规试剂就可从普通琼脂糖中回收 DNA 大片段,是

一种低成本、简捷高效的回收体系。

表 1 基因组 DNA 样品回收前后紫外吸收检测及回收率  
Tab. 1 The recovery rate and the result of detected by UV spectrophotometry

次数 Times	回收前 Before recovery			回收后 After recovery			回收率 Recovery rate (30~40 kb)
	OD <sub>260 nm</sub>	A <sub>260 nm</sub> / A <sub>280 nm</sub>	DNA (μg)	OD <sub>260 nm</sub>	A <sub>260 nm</sub> / A <sub>280 nm</sub>	DNA (μg)	
1	0.602	1.77	75.3	0.453	1.90	56.6	>75.2%
2	0.541	1.81	67.7	0.423	1.93	52.9	>78.1%
3	0.562	1.83	70.2	0.451	1.89	56.4	>80.4%
4	0.587	1.79	73.4	0.455	1.93	56.9	>75.5%
5	0.612	1.81	76.5	0.476	1.93	59.5	>77.8%

IOD=50 μg/mL(dsDNA).

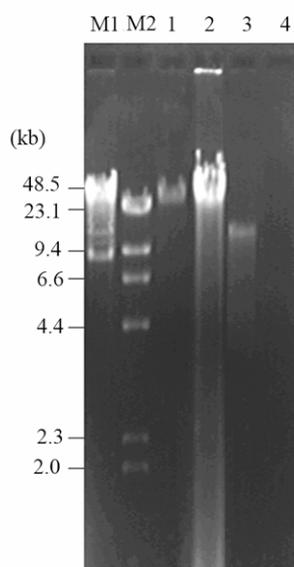


图 3 基因组 DNA 样品回收前后电泳图谱

Fig. 3 Electrophoretic mobilities of sheared genomic DNA and recovered HMW-gDNA

M1: Lambda Mix Marker 19; M2: λ DNA/Hind III; 泳道 1: 通过电洗脱纯化装置回收的基因组 DNA; 泳道 2: 随机剪切后的基因组 DNA; 泳道 3: CopyControl™ HTP Fosmid Library Production Kit 回收的基因组 DNA; 泳道 4: QIAquick Gel Extraction Kit 回收的基因组 DNA。  
M1: Lambda Mix Marker 19; M2: λ DNA/HindIII; Lane 1: Recovered gDNA by Electroelution System; Lane 2: Sheared gDNA; Lane 3: Recovered gDNA by CopyControl™ HTP Fosmid Library Production Kit; Lane 4: Recovered gDNA by QIAquick Gel Extraction Kit.

针对 HMW-gDNA 分离, 脉冲场凝胶电泳 (PFGE) 是当前的常用技术, 但其设备昂贵、操作复杂和电泳时间长等, 与其相比, 该电洗脱回收装置成本低、操作简单、效率高以及对实验室要求低等, 适合普通实验室从普通琼脂糖凝胶中分离 HMW-gDNA。另外, 该方法基于电洗脱技术和透

析膜截留功能, 不受分子量大小的限制, 最终产物浓度可自行调节, 更加方便后续实验的不同需求。

通过对已知特定蜘蛛拖丝基因的 PCR 扩增及序列分析检测基因组 DNA 样本的质量, 即基因序列的纯度及完整性。由于蜘蛛拖丝蛋白编码基因具有很高的重复性, 理论上 PCR 产物应为规律性的梯度条带 (Ayoub et al, 2007)。对上述 PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳进行检测, 其条带较清晰并呈现出合理的梯度条带 (图 4), 与预期的结果相符, 证实该方法获取的基因组 DNA 样本质量较好。

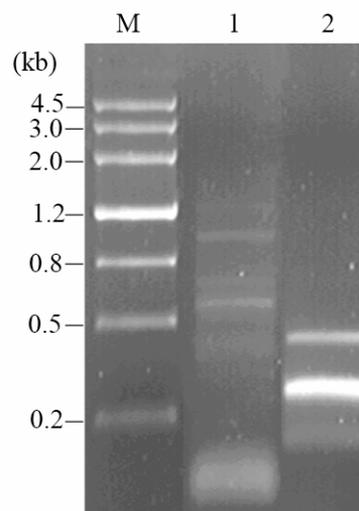


图 4 蜘蛛拖丝基因的 PCR 扩增结果

Fig. 4 Electrophoretic mobilities of PCR-amplified spider dragline gene fragments

M: Marker III; 泳道 1: 大腹圆蛛 PCR 扩增产物; 泳道 2: 棒络新妇 PCR 扩增产物。  
M: Marker III; Lane 1: PCR product of *Araneus ventricosus*; Lane 2: PCR product of *Nephila clavata*.

目前, 脉冲场凝胶电泳(PFGE)是分离 HMW-gDNA 的常用实验技术, 但其样品制备复杂、耗时(>24 h)、技术要求高、设备价格昂贵以及对实验室要求高等(Davis et al, 2003), 部分实验室无条件用其分离 HMW-gDNA。本研究结果表明, 上述自改良 CTAB 法可简捷提取蜘蛛 HMW-gDNA, 且完整性及纯度均符合分子操作需要。自主构建的凝胶回收装置通过电场泳动力和透析膜截留作用,

可快速高效的分离目的 HMW-gDNA, 其费用低、技术简单以及易于操作等, 且对 HMW-gDNA 完整性无任何影响, 常规实验室均可采用此装置快速分离回收目的 HMW-gDNA, 其质量完全符合分子生物学及遗传学实验的要求。目前, 我们正准备通过构建蜘蛛 Fosmid 基因组文库来克隆蜘蛛丝蛋白基因序列, 这一方法及装置对于基因组文库的完整性和代表性提供了保证。

### 参考文献:

- Ayoub NA, Garb JE, Tinghitella RM, Collin MA, Hayashi CY. 2007. Blueprint for a high-performance biomaterial: Full-length spider dragline silk genes[J]. *PLoS ONE*, **2**(6): e514.
- Davis MA, Hancock DD, Besser TE, Call DR. 2003. Evaluation of pulsed-field gel electrophoresis as a tool for determining the degree of genetic relatedness between strains of *Escherichia coli* O157:H7[J]. *J Clin Microbiol*, **41**(5): 1843-1849.
- Henry JM, Raina AK, Ridgway RL. 1990. Isolation of high-molecular-weight DNA from insects[J]. *Anal Biochem*, **185**(1): 147-150.
- Kotchoni SO, Gachomo EW. 2009. A rapid and hazardous reagent free protocol for genomic DNA extraction suitable for genetic studies in plants[J]. *Mol Biol Rep*, **36**(6):1633-1636..
- Luo ZY, Zhou G, Zhou SQ, Chen XH, Luo JQ, Hu WX. 2000. Construction of genomic DNA fingerprinting in *Panax ginseng* and *P. quinquefolium* by AFLP[J]. *Acta Pharm Sin*, **35**(8): 626-629. [罗志勇, 周 钢, 周肆清, 陈湘晖, 罗建清, 胡维新. 2000. AFLP 法构建人参、西洋参基因组 DNA 指纹图谱. 药学报, **35**(8): 626-629.]
- Sambrook J, Russell DW. 2005. *Molecular Cloning M*. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Pr.
- Shao H, Chang SH, Tian SQ, Wang YP, Li ZW, Qin GY. 2008. Pulsed field gel electrophoresis and its application[J]. *J Anhui Agric Sci*, **36**(35):15361-15363. [邵化, 常胜合, 田双起, 王雁萍, 李宗伟, 秦广雍. 2008. 脉冲场凝胶电泳技术及应用. 安徽农业科学, **36**(35):15361-15363.]
- Takemon Y, Yamamoto A, Nakashima M, Tanida K, Kishi M, Kato M. 2006. Isolation of sperm vesicles from adult male mayflies and other insects to prepare high molecular weight genomic DNA samples[J]. *Mol Biol Rep*, **33**(1): 65-70.
- Wu Q, Chen M, Buchwald M, Phillips RA. 1995. A simple, rapid method for isolation of high quality genomic DNA from animal tissues[J]. *Nucl Acids Res*, **23**(24): 5087-5088.

## 《灵长类的社会进化》征订单

由日本京都大学灵长类研究所博士研究生、中山大学人类学系教师张鹏和日本京都大学灵长类研究所渡边邦夫教授联合编写的《灵长类的社会进化》一书已由中山大学出版社出版。

本书从灵长类社会生态学的全新视野解释人类社会进化和家庭出现的过程。为了增加可读性, 书中增加了较多的灵长类动物图片, 略去了繁琐的科研数据图表。书中重点介绍有代表性的物种, 不仅有利于引进成熟的科学理论, 也有利于使读者对该物种有更加全面的认识。本书突破了以往出版的书籍仅是涉及单个物种的个人研究集这种模式。书中通过讨论不同研究者关于原猴类、新世界猴、旧世界猴和类人猿等物种的研究, 总结了从灵长类社会到人类家庭的进化轨迹。

本书共分十四章: 第一章阐述了人类学者对人类家庭起源的争论和形成家庭的五大条件。第二、三章阐述了灵长类的起源背景和社会行为背景。第四、五章阐述了初期灵长类的社会进化, 也就是原猴类从夜行性到昼行性、从单独生活到集群生活的变革。第六章到第十三章阐述了高等猿猴类的社会进化轨迹, 各章以典型的物种为代表描述了每个阶段灵长类社会的特征, 包括猩猩的单独生活、长臂猿的一夫一妻社会、长尾叶猴的母系一夫多妻社会、大猩猩的父系一夫多妻社会、日本猴的母系多夫多妻社会、狮尾狒狒的母系重层社会、埃及狒狒的父系重层社会、黑猩猩的父系多夫多妻社会。根据上述灵长类社会的进化轨迹, 第十四章作为本书小结强调, 灵长类的社会进化受到系统和环境的双重影响, 归纳了灵长类社会的进化机制, 并勾勒了人类社会出现的社会背景。

(下转第 644 页)