

# 中国大陆湖北钉螺 (*Oncomelania hupensis*) 微卫星

## DNA 库的构建\*

李石柱<sup>1</sup>, 马琳<sup>1,2</sup>, 马雅军<sup>3</sup>, 刘琴<sup>1</sup>, 王强<sup>1</sup>, 张仪<sup>1</sup>, 周晓农<sup>1\*</sup>

(1 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所, 上海, 200025; 2. 陕西师范大学生命科学学院, 西安, 710062; 3. 第二军医大学病原生物学教研室, 上海, 200433)

**摘要:** 目的: 湖北钉螺是血吸虫惟一的中间宿主, 在日本血吸虫病传播过程中起着特殊的作用。由于分布广泛、受地理隔离影响严重, 湖北钉螺在我国大陆分布多个不同的种型。本研究通过构建湖北钉螺微卫星 DNA 库, 以期深入分析湖北钉螺各种型遗传分化程度和群体遗传结构, 提供基础资料。

**方法:** 利用 *Sau3AI* 酶切湖北钉螺基因组 DNA, 回收并富集 200bp—900bp 之间的 DNA 片段, 与生物素标记的(AAT)<sub>17</sub>, (GA)<sub>25</sub>, (CCT)<sub>17</sub>, (AC)<sub>25</sub>, (CAG)<sub>17</sub>, (CA)<sub>18</sub>, (CAC)<sub>5</sub>, (TC)<sub>10</sub>, (GT)<sub>8</sub> 和(TG)<sub>18</sub> 等寡核苷酸探针杂交, 结合亲和素后超滤离心, 浓缩杂交片段, 重复 2 次并利用 PCR 反应扩增富集杂交片段, 插入 T 载体, 转化大肠杆菌 (*E. coli*), 筛选含微卫星 DNA 序列的阳性克隆, 测定分析其序列。

**结果:** 本研究应用(AAT)<sub>17</sub>, (GA)<sub>25</sub>, (CCT)<sub>17</sub>, (AC)<sub>25</sub>, (CAG)<sub>17</sub>, (CA)<sub>18</sub>, (CAC)<sub>5</sub>, (TC)<sub>10</sub>, (GT)<sub>8</sub> 和(TG)<sub>18</sub> 共 10 个寡核苷酸探针对湖北钉螺进行微卫星 DNA 的分离和筛选, 测序获得有效序列 295 条, 所有序列经 Chromas 和 Clustal X 等软件包进行核准与比对, 结果显示其中含有微卫星的有效序列 207 条。其中以双核苷酸重复占多数, 三核苷酸重复序列重复次之, 多核苷酸重复比较少见; 重复序列以(CA)<sub>n</sub> 和(GT)<sub>n</sub> 数量最为丰富, 重复次数最多的(CA)<sub>n</sub> 可达 98 次。根据 Weber (1990) 对微卫星 DNA 序列的分类标准, 本研究获得完整重复序列 51 条 (24.6%), 非完整重复序列 124 条 (59.9%), 复合重复序列有 32 条 (15.5%)。

**讨论:** 微卫星 DNA 核心序列在基因组中呈串联重复排列, 其重复序列和长度表现较高的多态性, 对于揭示物种遗传多态性具有重要意义。由于缺少湖北钉螺基因组的数据, 目前仍少有湖北钉螺微卫星 DNA 的研究报道。本研究初步构建了湖北钉螺微卫星 DNA 库, 为进一步探讨湖北钉螺不同种型遗传分化、群体遗传变异奠定了基础。

**关键词:** 湖北钉螺; 微卫星 DNA; 文库

\*作者简介: 李石柱, 博士, 流行病学与卫生统计学专业, stonelicdc@sh163.net

通讯作者: 周晓农, 研究员/博士生导师, ipdzhouxn@sh163.net