

微生物鉴定的分子生物学方法举例

传统的微生物分类和鉴定方法主要以微生物的形态结构和培养特性观察、生理生化实验结果作为鉴定依据，鉴定过程较为繁琐、复杂，需花费大量的人力劳动，效率较低。由于这种技术方法的局限，直接导致相关的研究很难深入。而近年来分子生物学的发展，为微生物的分类鉴定工作，特别是真核微生物群体多样性相关研究提供了较为简便和准确的方法。

目前分子生物学手段鉴定微生物种类的方法主要包括基于 PCR 技术的分子生物学方法如克隆文库中的随机测序、变性梯度凝胶电泳（DGGE）和温度梯度凝胶电泳（TGGE）、单链构象多态性（SSCP）、末端限制性片段长度多态性（T-RFLP）、随机扩增多态 DNA（RAPD）等；不涉及 PCR 的分子方法有磷脂脂肪酸分析技术（PLFA）、荧光原位杂交技术（FISH）、DNA 联合分析技术等。这些方法相比传统的鉴定方法，更加简便、准确和可靠。

以 16S rDNA 方法鉴定细菌种类为例。16S rDNA 序列比对方法是常用的鉴定菌株的方法，这种方法的理论依据是 16S rRNA 是核糖体 RNA 的一个亚基，16S rDNA 是编码该亚基的基因，其片段长度适中，既含高度保守的序列区域，又含中度保守和高度变化的序列区域，适用于进化距离不同的各类生物亲缘关系的研究。16S rDNA 方法鉴定细菌种类步骤基本包括：①DNA 的分离与纯化；②以 16S rRNA 的保守序列作为引物进行 PCR 实验；③重复 PCR 实验得到大量的 16S rDNA；④将得到的产物进行凝胶电泳；⑤将分子量正确的 PCR 产物进行纯化；⑥采用 Sanger 法进行基因测序；⑦将所得到的序列与数据库进行比对得出鉴定结果。实践表明，16S rDNA 序列分析法在细

天美（中国）科学仪器有限公司
TECHCOMP (CHINA) LTD.

中国北京朝阳区天畅园 7 号楼 1、3 层
TEL:010-64010651
FAX:010-64060202
E-MAIL:techcomp@techcomp.cn

菌鉴定工作中，特别是针对疑难菌种的鉴定工作中，可实现快速、微量、准确简单的优势，在研究工作中已得到越来越广泛的应用。

相关仪器推荐：

1、KURABO 核酸提取系统：KURABO mini 80 结合 KURABO 专利的 80um 多孔亲水膜，此膜厚度是以往的硅胶膜或树脂膜的 1/12.5，比表面积更大。这种多孔亲水膜可以选择性的吸附核酸，在低压下可完成高纯度的提取工作，所用时间更短，效率更高。在 16S rDNA 方法鉴定中可帮助研究人员快速高效的完成 DNA 的分离和纯化。

2、DNAmaster 核酸蛋白分析仪：DNAmaster 核酸蛋白分析仪可实现最小上样量 0.5ul，轻松一按就能得到核酸的浓度值和纯度分析结果，大大缩短核酸浓度测定和纯度分析所需要的时间。除此以外，仪器还可以作为一台普通的分光光度计使用，实现菌液浓度测定、单波长多波长光度测定、波长扫描等功能。