

# 鲇鱼线粒体 DNA 的酶切图谱

戴建华 殷文莉 杨代淑 熊全沫

(武汉大学生命科学院, 430072)

**提 要** 采用差速离心法及 DNase I、RNase 消化法制备并纯化了鲇(*Silurus asotus*)肝脏线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA)。用8种限制性内切酶对 mtDNA 进行了分析。Bg I、Ecor I、Pst I、Bgl I、BamH I、Xba I、Hind III、Xho I 在鲇 mtDNA 分子上分别具1、1、1、2、2、7、7和0个切点。mtDNA 分子量约 $10.84 \times 10^6$ 道尔顿,大小为17.54 kilobase pairs。根据单酶和双酶解片段的数目和分子量,建立了鲇 mtDNA 的限制性酶切图谱。

**关键词** 鲇鱼,线粒体 DNA,限制性内切酶,酶切图谱

线粒体是真核细胞中普遍存在的一种重要而独特的细胞器。其 DNA 及其相对独立的遗传系统的发现,使线粒体的自主性及生物发生成为当前细胞生物学中非常活跃的研究领域。线粒体 DNA 的结构,特别是其多态性使线粒体成为探讨动植物地理分布[Mulligan 等,1989; Lawrence 等,1991]以及进化[Ranald 等,1992]的一种良好手段,而且从分子角度为动植物的分类提供了新的证据[Avise 等,1986]。

国内研究者在鸟类和哺乳类 mtDNA 研究方面做了不少工作。鱼类 mtDNA 的研究起步于80年代,对其物理图谱、基因定位、片段克隆和序列分析等方面的研究已有一些报道[陈关君等,1984;王钢锋等,1991;吴乃虎等,1991;张四明等,1991;1992;崔建勋等,1992;申宗候等,1993;戴建华等,1994a;樊连春等,1994]。鲇鱼是我国的重要经济鱼类,有关鲇鱼的人工繁殖等方面已经做了一些工作[潘伟志等,1992;钟明超等,1993],但有关鲇鱼 mtDNA 的研究尚未见报道。本文采用8种限制性内切酶对鲇鱼 mtDNA 进行了分析,并且构建了相应的酶切图谱。

## 一、材料和方法

**1. 实验材料** 鲇鱼购自武汉市水果湖集贸市场。

**2. 试剂** DNase I、RNase、Hind III、BamH I、Xba I、Xho I、EcoR I、Pst I、Bgl I、Bgl II 均购自华美生物工程公司。

**3. 鲇鱼肝 mtDNA 的分离纯化** 新鲜鱼肝组织用 buffer A(0.25M 蔗糖,10 mM Tris·HCl,1 mM Na<sub>2</sub>EDTA,pH 8.0)洗净,剪碎后用 buffer A 按1:10的重量体积比稀释,1000 g 4℃离心15分钟,除去核及细胞膜碎片。上清液15000 g 4℃离心20分钟,沉淀得线粒体。用 buffer B(0.25M 蔗糖,0.05 M Tris·HCl,7 mM MgCl<sub>2</sub>,pH 7.5)洗涤一次,并按0.5 ml/g 肝的比例悬浮,加 DNase I 使终浓度达100 μg/ml,30℃保温30分钟,冰浴冷却,加入2倍体积的 DNase I 反

应终止液(0.25M 蔗糖, 0.1M Na<sub>2</sub>EDTA, pH 8.0), 15000 g 4℃离心20分钟, 沉淀用 DNase I 反应终止液洗涤一次, 重复离心, 得纯净线粒体。

线粒体用 buffer C (0.05 M Tris·HCl, 0.1 M NaCl, 0.01 M Na<sub>2</sub>EDTA, pH 8.5) 悬浮(0.5 ml/g 肝), 加入20% SDS 至终浓度0.8%, 37℃保温15分钟, 冰浴冷却, 加等体积的饱和酚轻微振荡至溶液呈乳白色, 低温静置30分钟, 10000 g 离心10分钟, 取水相重复抽提至界面无蛋白为止。上层水相再用氯仿/异戊醇(24:1)抽提二次去酚, 水相中加入0.2倍体积的1 M NaAc, 混匀, 再加入2倍体积预冷至-20℃的无水乙醇, 混匀置于低温冰箱中过夜。15000 g 4℃离心20分钟, 真空干燥, 溶解于 TE 缓冲液(10 mM Tris·HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0), 加入预处理过的 RNase 至终浓度为50 μg/ml, 37℃保温1小时, 然后用饱和酚、氯仿/异戊醇各抽提2次, 水相中加1 M NaAc 及无水乙醇沉淀 mtDNA, 用70%乙醇洗涤2次, 真空干燥, 以 TE 溶解, 即得 mtDNA 纯品。

**4. 线粒体 DNA 的酶解** 酶解反应体系总体积15 μl, 含 mtDNA 0.2-0.5 μg。单酶酶解加内切酶1-3 u, 37℃保温1-3小时。双酶酶解将两种酶同时加入, 酶量各1-2 u, 缓冲液各加一半, 37℃保温2-4小时。反应完毕65℃10分钟终止反应。

**5. 琼脂糖凝胶电泳** 采用无桥水平板电泳装置, 琼脂糖胶浓度0.7%-0.9%。溴化乙锭加入胶中使浓度为0.5 μg/ml。缓冲系统为 TBE 电泳液(89 mM Tris·HCl, 89 mM 硼酸, 2.5 mM Na<sub>2</sub>EDTA, pH 8.3), 恒压, 3V/cm, 室温下电泳4-6小时。电泳完毕后用清水冲洗, 置于短波紫外灯下观察, 加红色或橙色滤光片, 摄像记录。

## 二、结果和分析

### 1. 线粒体 DNA 酶切片段的测定

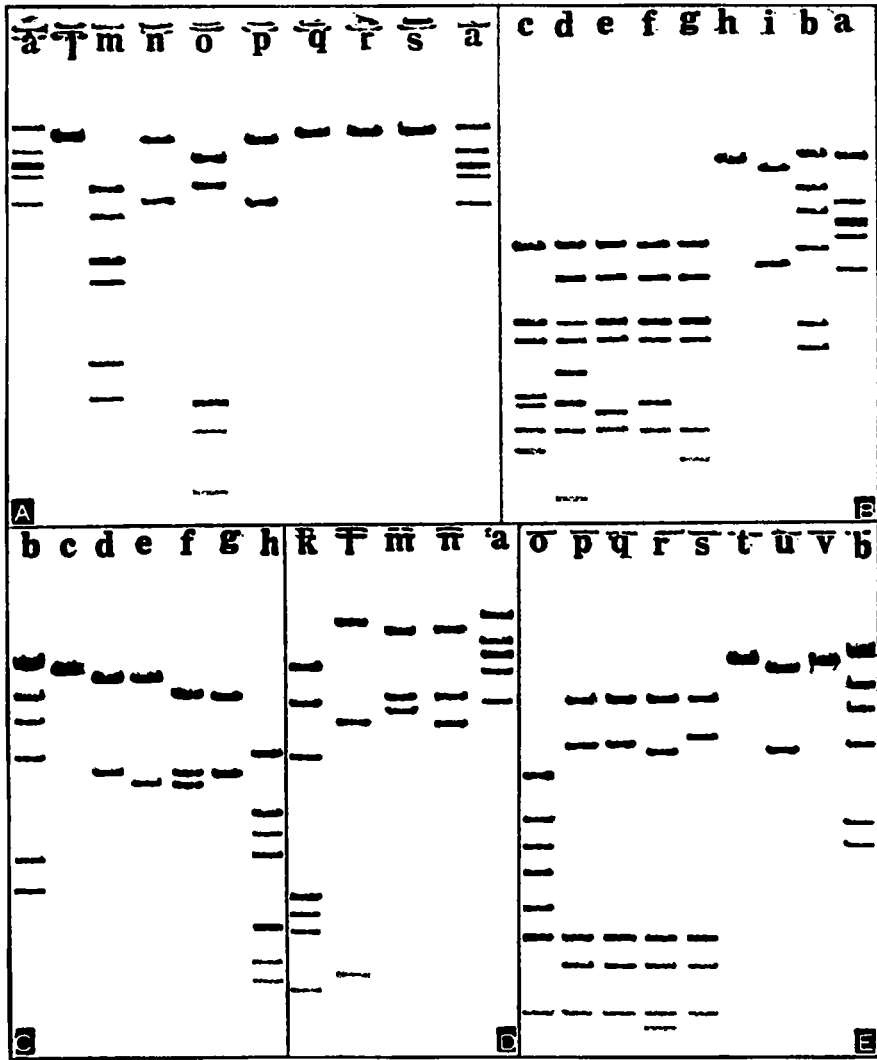
以 λDNA 的 EcoR I、Hind III 的酶解片段作为分子量标准, 利用电泳迁移率与分子量对数间的线性关系, 测得各酶切片段的分子量。根据  $1\text{kb} = 0.618 \times 10^6$  dalton 计算出各片段的大小。Bgl II、EcoR I、Pst I、Bgl I、BamH I、Xba I 和 Hind III 在鲇鱼 mtDNA 分子上分别具1、1、1、2、2、7和7个切点, Xho I 无切点(图版 I A, 表1)。双酶切电泳图谱及片段大小见图版 I 和表2。

表1 鲇鱼 mtDNA 单酶切片段 (kb)

Table 1 Mitochondrial DNA restriction fragments from *S. asotus* digested with single enzyme (Kb)

酶 \ 片段	A	B	C	D	E	F	G	总计
Xho I	无切点							
Bgl II	17.541							17.541
EcoR I	17.541							17.541
Pst I	17.541							17.541
Bgl I	13.660	3.881						17.541
BamH I	13.573	3.968						17.541
Xba I	4.560	3.419	2.463	2.421	2.145	1.374	1.158	17.540
Hind III	8.522	4.629	1.113	1.113	0.936	0.722	0.513 <sup>a</sup>	17.548

注: a 示根据分子量推算出的值



图版 I 鲇鱼 mtDNA 酶切电泳图谱 (A: 单酶切; B、C、D、E: 双酶切)

Plate I Electrophoresis patterns of the fragments of mtDNA from *S. asotus*

A: digested with single enzyme; B、C、D and E: digested with double enzyme

A: a. λDNA/EcoR I 1. Xho I m. Xba I n. BamH I o. Hind III p. Bgl I q. Pst I r. EcoR I s. Bgl II

B: a. λDNA/EcoR I b. λDNA/Hind III c. BamH I/Xba I d. Pst I/Xba I e. EcoR I/Xba I f. Xba I/Xho I g. Xba I/Bgl II h. Bgl II/Xho I i. Pst I/Bgl II

C: b. λDNA/Hind III c. Pst I/Xho I d. Bgl I/Xho I e. Bgl I/Pst I f. Bgl I/Bgl II g. EcoR I/Bgl I h. Xba I/Bgl I

D: a. λDNA/EcoR I k. Hind III/BamH I l. Pst I/BamH I m. EcoR I/BamH I n. BamH I/Bgl II

E: b. λDNA/Hind III o. Hind III/Xba I p. Hind III/EcoR I q. Hind III/Pst I r. Hind III/Bgl II s. Hind III/Xho I t. EcoR I/Bgl II u. EcoR I/Pst I v. EcoR I/Xho I

表2 鲇鱼 mtDNA 双酶切片段 (kb)

Table 2 Mitochondrial DNA restriction fragments from *S. asotus* digested with double enzymes (Kb)

酶	片 段	1	2	3	4	5	6	7	8	9	总计
BamH I /Xba I		4.560	2.463	2.421	2.145	1.420	1.374	1.158	1.001	1.001	17.543
Pst I /Xba I		4.560	3.419	2.421	2.145	1.714	1.374	1.158	0.752		17.544
EcoR I /Xba I		4.560	3.419	2.463	2.421	2.145	1.274	1.158	0.1*		17.541
Xba I /Xho I		4.560	3.419	2.463	2.421	2.145	1.374	1.158			17.541
Xba I /Bgl II		4.560	3.419	2.463	2.421	2.145	1.158	0.892	0.482*		17.541
Bgl II /Xho I		17.541									17.541
Pst I /Bgl II		13.744	3.795								17.539
Pst I /Xho I		17.541									17.541
Bgl I /Xho I		13.660	3.881								17.541
Bgl I /Pst I		13.660	3.459	0.422*							17.541
Bgl I /Bgl II		10.079	3.881	3.581							17.541
EcoR I /Bgl I		9.779	3.881	3.881							17.541
Xba I /Bgl I		4.560	2.894	2.463	2.145	1.401	1.374	1.158	1.021	0.525*	17.541
Hind III /BamH I		5.853	3.643	2.669	1.113	1.113	0.986	0.936	0.722	0.513*	17.543
Pst I /BamH I		13.573	3.322	0.647							17.542
EcoR I /BamH I		10.054	3.969	3.519							17.542
BamH I /Bgl II		10.436	3.969	3.137							17.542
Hind III /Xba I		3.419	2.464	2.051	1.764	1.374	1.158	1.113	1.113	0.722	
		0.63*	0.59*	0.513*	0.336*	0.3*					17.547
Hind III /EcoR I		8.522	4.246	1.113	1.113	0.936	0.722	0.513*	0.383*		17.548
Hind III /Pst I		8.522	4.530	1.113	1.113	0.936	0.722	0.513*	0.1*		17.549
Hind III /Bgl II		8.522	3.972	1.113	1.113	0.936	0.722	0.673	0.513*		17.551
Hind III /Xho I		8.522	4.629	1.113	1.113	0.936	0.722	0.513			17.548
EcoR I /Bgl II		17.161	0.38*								17.541
EcoR I /Pst I		13.381	4.160								17.541
EcoR I /Xho I		17.541									17.541

注:a 示根据单、双酶切片段大小推算出的值。

## 2. 鲇鱼 mtDNA 酶切图谱的构建

以 EcoR I 在鲇鱼 mtDNA 上的唯一切点作为基因组的零点(0Kb 处),取 EcoR I /BamH I -3-1-2为顺时针方向,可以确定 BamH I 的两切点分别位于10.054 kb 处和14.022 kb 处。

根据 Bgl II /BamH I 及 EcoR I /Bgl II 双酶切结果可以确定 Bgl II 的切点在零点左边 0.382 kb 处(17.161 kb 处)。同理,可以确定 Pst I 切点位于13.381 kb 处;Bgl I 两切点分别在9.779 kb 处及13.66 kb 处。

Xba I 在鲇鱼 mtDNA 上有7个切点。根据 Xba I /EcoR I、Xba I /Bgl II 双酶切结果可以确定产生 Xba I -F 片段的两切点分别在0.1 kb 处和零点左边1.274 kb 处(16.267 kb 处)。根据 Xba I /Bgl I、Pst I /Xba I 双酶切结果,可以确定产生 Xba I -D 片段的两切点分别位于12.639 kb 处和15.06 kb 处。根据 Xba I /Bgl I、BamH I /Xba I 双酶切结果可以确定 Xba I -B 从逆时针方向与 Xba I -D 片段相连,由此可以确定产生 Xba I -B 片段的另一切点位于9.22 kb 处。Xba I -D 和 F 片段之间相差约1.2 kb,这与 Xba I -G 的长度相仿,可以确定 Xba I -G 在顺时针方向与 Xba I -D 相连。

Hind III 在鲑鱼 mtDNA 分子上有7个切点。由双酶切 Hind III/EcoR I、Hind III/Bgl I 结果可以确定产生 Hind III-B 片段的两切点分别位于0.38 kb 处和零点左边4.246 kb 处(13.295 kb 处)。由 Hind III/BamH I 酶切结果可确定 Hind III-A 在逆时针方向与 Hind III-B 相连,产生 Hind III-A 的两切点为4.773 kb 处、13.295 kb 处。在 Hind III/Xba I 双酶切中,Hind III-C、D、F、G 保留,Hind III-A、B、E 分别被切成4、4、2个片段,Xba I 的 B、C、F、G 保留,A、D、E 分别被切成4、2、4个片段,其中 Hind III-E 被切成0.63 kb 和0.306 kb 两片段。根据双酶切 Hind III/Xba I 结果可以推知 Xba I-E 与 F 相连,产生 Xba I-E 的另一切点在2.245 kb 处。Hind III-F、G 在 Hind III-B、E 之间,其相对位置未定。进一步可以确定产生 Hind III-E 片段的两切点分别在1.615 kb 处和2.551 kb 处,Hind III-D、C 在 Hind III-E、A 之间。

根据已定 Xba I-E 的位置,如果 Xba I-C 与 E 相连,则产生 Xba I-C 的另一切点就位于 Hind III-C 或 D 上,这与结果不符。如果 Xba I-A 与 E 相连,则 Hind III-C、D 保留,与结果吻合。由此可以确定产生 Xba I-A 的另一切点在6.8 kb 处,Xba I 酶切片段的顺序为 Xba I-F-E-A-C-B-D-G,Hind III 酶切片段的顺序为 Hind III-B-F (or G)-G (or F)-E-C-D-A。

Xho I 在鲑鱼 mtDNA 分子上无切点,根据以上分析,构建了鲑鱼 mtDNA 的酶切图谱。

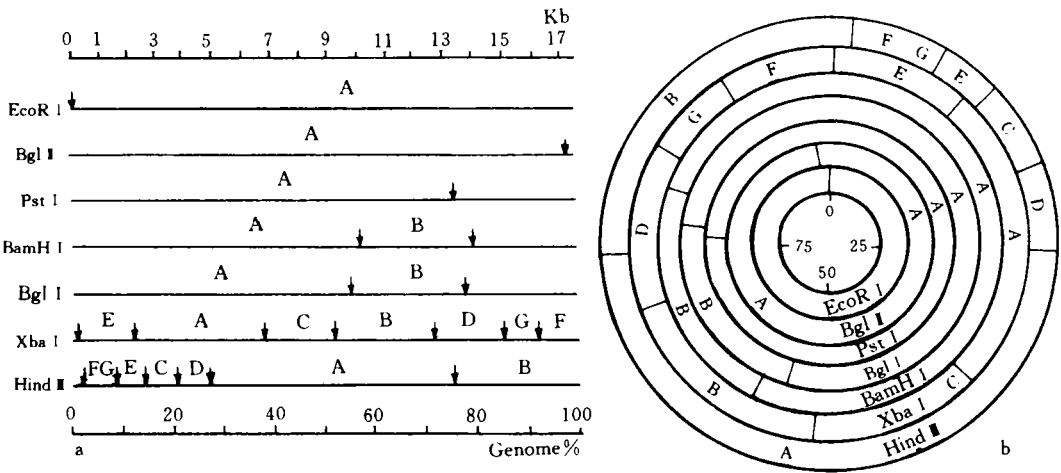


图1 鲑鱼 mtDNA 酶切图谱 a. 线型; b. 环型

Fig. 1 Restriction maps of mtDNA from *S. asotus*

a. Linear form b. Circular form

### 三、讨 论

我们实验用肝取自7条鱼,其中5条为雌鱼,2条为雄鱼。提纯的 mtDNA 经8种酶酶解均只分别出现一种酶切类型,未发现个体差异,这提示鱼类 mtDNA 类型与性别无关,取材不受性别的限制。

在单酶切及双酶切时产生一些小片段,在0.7%-0.9%的琼脂糖凝胶电泳时跑出胶外,紫

外灯下未能观察到。这些片段的大小根据总分子量以及单、双酶切相关片段的差值推算出。

鱼类 mtDNA 为共价闭合的环状双链分子,由15-18千碱基对组成,其分子量约为 $10 \times 10^6$ 道尔顿。我们测得的鲇鱼 mtDNA 分子量为 $10.84 \times 10^6$  d,大小为17.54 kb,符合文献中推论的数据[陈关君等,1984;Thomas 等,1986;Mulligan 等,1989]。

高等动物 mtDNA 的基因组织在进化上十分保守,但种间及种内却存在着广泛的差异。脊椎动物 mtDNA 的种间差异主要表现在基因组的大小和碱基组成方面。不同的鱼类,即使是一些亲缘关系很近的鱼类,其 mtDNA 也相差甚大。不但分子大小有差别,其一级结构也发生了变异。同种鱼类个体间 mtDNA 也可能存在多态性(polymorphism),我们在黄鲢、黄颡和胡子鲇中发现了多态现象[戴建华等,1994b;1994d]。

国内对鱼类 mtDNA 的研究主要集中于鲤科鱼类(表3)。不同作者对草鱼、鳊鱼、鲫鱼、方正银鲫、白鲫等 mtDNA 分子大小进行了测定。从表中数据可以看出,对于同一种鱼,不同作者得出的数据有差异,这可能与测定误差有关,也说明同种不同系的鱼的 mtDNA 大小也是有差异的。张四明等[1992]研究了同属一个种的方正银鲫、白鲫、鲫鱼的 mtDNA,发现其分子大小存在较大差异,但与三者的亲缘关系并无相关性。我们对黄鲢、鳊鱼以及鲇形目的鲇鱼、胡子鲇、长吻鲇和黄颡的 mtDNA 进行了研究。鳊鱼与黄颡在分类学上相差很远,但其分子大小却相当接近,鳊鱼为16.44 kb,黄颡为16.42 kb。在鲇形目的四种鱼中,长吻鲇与黄颡亲缘关系较近,鲇鱼与胡子鲇亲缘关系较近,但它们的 mtDNA 分子大小并不存在相应的关系。胡子鲇与长吻鲇 mtDNA 分子量非常接近,分别为16.68 kb 和16.69 kb,鲇鱼与胡子鲇分子量却相差较大,这显然与它们之间的亲缘关系不一致。其他作者的工作也说明虽然鱼类个体间 mtDNA 分子大小存在差异,但其分子大小与鱼类的遗传关系并无相关性。

表3 已报道鱼类 mtDNA 分子量及大小

Table 3 Reported molecular lengths and weights of the mtDNA in fish species

鱼名	大小(kb)	分子量( $\times 10^6$ d)	引文依据
鲤 <i>Cyprinus carpio</i>	16.990	10.50	陈关君等,1984
鲫 <i>Carassius auratus</i>	15.210	9.40	陈关君等,1984
鲤 <i>Cyprinus carpio</i>	16.4	10.13	吴乃虎等,1991
草鱼 <i>Ctenopharyngodon idellus</i>	16.3	10.07	吴乃虎等,1991
乌鳢 <i>Ophiocephalus argus</i>	17.200	10.63	张四明等,1991
鲫 <i>Carassius auratus auratus</i>	15.54 $\pm$ 0.14	10.26 $\pm$ 0.09	张四明等,1992
白鲫 <i>Carassius auratus cuvier</i>	16.60 $\pm$ 0.13	10.96 $\pm$ 0.09	张四明等,1992
方正银鲫 <i>Carassius auratus gibelio</i>	15.99 $\pm$ 0.09	10.55 $\pm$ 0.06	张四明等,1992
草鱼 <i>Ctenopharyngodon idellus</i>	17.16 $\pm$ 0.07	10.6 $\pm$ 0.04	崔建勋等,1992
鲢 <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	16.82 $\pm$ 0.09	10.39 $\pm$ 0.06	崔建勋等,1992
鳊 <i>Aristichthys nobilis</i>	16.20 $\pm$ 0.09	10.01 $\pm$ 0.06	崔建勋等,1992
鳊 <i>Aristichthys nobilis</i>	16.44	10.17	樊连春等,1994
团头鲂 <i>Megalobrama amblycephala</i>	16.6	10.2	申宗候等,1993
长吻鲇 <i>Leiocassis longirostris</i>	16.69	10.31	戴建华等,1994
鲇 <i>Silurus asotus</i>	17.54	10.84	本项研究
胡子鲇 <i>Clarias fuscus</i>	16.68	10.31	戴建华等,未发表
黄颡 <i>Pseudobagrus fulvidraco</i>	16.42	10.14	戴建华等,1994b
鳊 <i>Anguilla japonica</i>	16.44	10.16	戴建华等,1994c
黄鲢 <i>Monopterus albus</i>	16.27	10.05	戴建华等,1994d

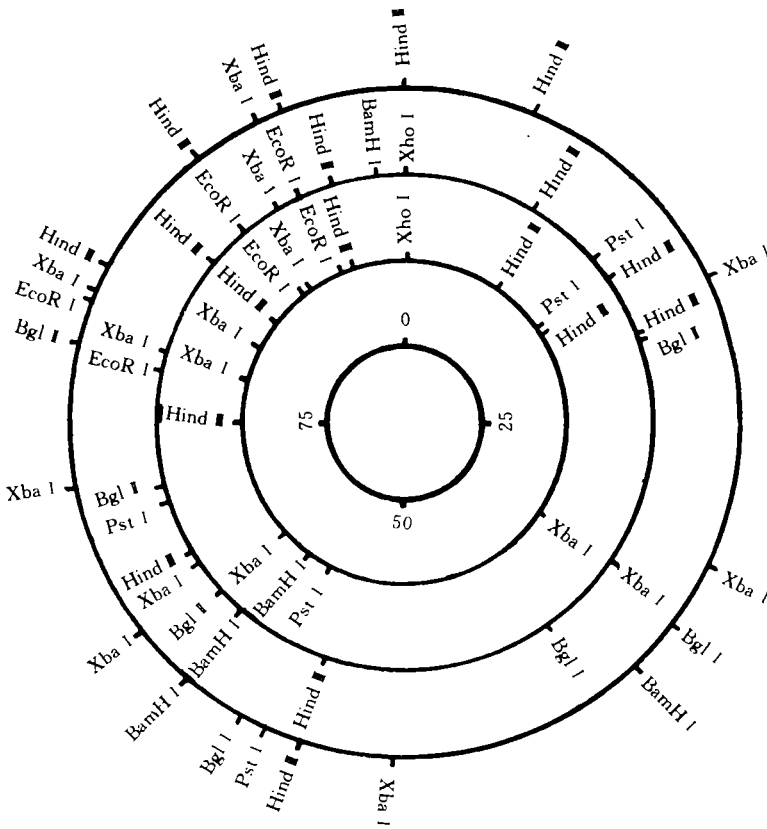


图2 黄颡、长吻鲢和鲢鱼 mtDNA 酶切图谱(由里向外)

Fig. 2 Restriction maps of mtDNA from *P. fulvidraco*, *L. longirostris* and *S. asotus* (from inside to outside)

不同鱼类的 mtDNA 酶切图谱是不同的。可以根据种间 mtDNA 的歧异程度来决定物种间的亲缘关系以及演化过程。张四明等构建了方正银鲫、白鲫以及鲫鱼的酶切图谱,并且比较了三者之间的遗传关系[张四明等,1992]。鲢鱼、长吻鲢与黄颡同属鲢形目,鲢鱼属鲢科,后两者属鲢科,其中长吻鲢属鲢属,黄颡属黄颡鱼属。鲢鱼与长吻鲢、黄颡两者之间存在较大的差异,这不仅表现在形态结构方面,在分子水平上也有显著的差异。用限制性内切酶对这三种鱼 mtDNA 进行分析,从构建的三者的酶切图谱可以看出,一些酶在黄颡、长吻鲢 mtDNA 分子上切点的位置以及片段大小较接近,这说明黄颡与长吻鲢有较近的亲缘关系(同科不同属)。鲢鱼酶切图谱与黄颡、长吻鲢酶切图谱差异显著,这与鲢鱼与黄颡、长吻鲢同目不同科相对应,从分子水平说明了三者之间的遗传关系,与传统的分类相符。

对鲢鱼 mtDNA 限制性酶切图谱进行分析发现,本文选用的8种酶(Xho I 无切点)的切点在 mtDNA 中的分布是不均匀的。Hind III 的7个切点有6个分布在基因组的0-27.2%之间,在基因组的27.2%-75.8%之间没有切点。由于在2.1%-9.2%之间除 Hind III 外其余7种酶都没有切点。因此,根据现有数据尚不能确定片段 Hind III - F、G 的相对位置。在鲢鱼 mtDNA 基因组的0-55.7%之间除 Xba I 和 Hind III 外其余6种酶都没有切点。酶切位点分布的不均匀性可

能与动物 mtDNA 中具有高度保守的 DNA 序列有关,意味着酶切位点是非随机分布的。

本文系国家自然科学基金资助课题,作者戴建华现在湖北师范学院生物系,435002。

### 参 考 文 献

- [1] 王钢锋等,1991. 鲤鱼线粒体 URFA6L 基因和 tRNA<sup>Lys</sup>基因的结构分析. 中国科学(B辑),6:609-614.
- [2] 申宗候等,1993. 武昌鱼肝线粒体 DNA 限制性内切酶解图谱与12SrRNA 基因的初步定位. 水生生物学报,17(2):174-180.
- [3] 陈关君等,1984. 鲤鱼、鲫鱼肌细胞线粒体 DNA 的限制性内切酶酶切图谱比较. 遗传学报,11(2):141-146.
- [4] 吴乃虎等,1991. 草鱼和鲤鱼线粒体 DNA 的分离纯化及其 COI 基因的分子克隆. 动物学报,37(4):375-381.
- [5] 张四明等,1991. 乌鳢线粒体 DNA 限制性内切酶酶切分析. 淡水渔业,4:38-39.
- [6] ——,1992. 方正银鲫、白鲫与鲫鱼线粒体 DNA 限制性内切酶酶切比较. 水产学报,16(2):120-129.
- [7] 钟明超等,1993. 关于鲇的卵色. 水产学报,17(3):262-263.
- [8] 崔建勋等,1992. 三种鱼 mtDNA 的限制性内切酶分析. 动物学研究,13(3):256,262.
- [9] 潘伟志等,1992. 鲈鱼的人工繁殖. 水产学报,16(3):278-281.
- [10] 樊连春等,1994. 鳊鱼线粒体 DNA 的限制性内切酶图谱. 武汉大学学报(自然科学版),1:121-125.
- [11] 戴建华等,1994. 长吻鮠肝脏线粒体 DNA 的研究. 武汉大学学报(自然科学版),1:115-120.
- [12] ——,1994b. 黄颡线粒体 DNA 多态性及酶切图谱的研究. 中国动物学会成立60周年 纪念陈桢教授诞辰100周年论文集,468-474. 中国科学技术出版社(京).
- [13] ——,1994c. 鳊鱼线粒体 DNA 的研究. 遗传,16(5):6-9.
- [14] ——,1994d. 黄鳝 mtDNA 的分离纯化及多态性的检测. 湖北师范学院学报(自然科学版),14(3):77-82.
- [15] Avise, J. C. *et al.*, 1986. mtDNA differentiation in north atlantic eels: population genetic consequences of an unusual life history pattern. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83:4350-4354.
- [16] Lawrence, R. H. *et al.*, 1991. A comprehensive study of genic variation in natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 129:103-117.
- [17] Mulligan, T. J. *et al.*, 1989. Mitochondrial DNA analysis of Chesapeake Bay white perch, *Morone americana*. *COPEIA*, 3:679-688.
- [18] Ranald, *et al.*, 1992. The Mitochondrial Genomes of Two Nematodes, *Caenorhabditis elegans* and *Ascaris suum*. *Genetics*, 130:471-498.
- [19] Thomas, W. K. *et al.*, 1986. mtDNA analysis of Pacific salmonid evolution. *Can. J. Zool.*, 64:1058-1064.

## STUDIES ON RESTRICTION ENZYME MAP OF MITOCHONDRIAL DNA FROM *SILURUS ASOTUS*

Dai Jianhua, Yin Wenli, Yang Daishu and Xiong Quanmo

(School of Life Science, Wuhan University, 430072)

**ABSTRACT** The mitochondrial DNA (mtDNA) from liver of *Silurus asotus* had been isolated and purified by the method of density gradient centrifugation and DNase I, RNase digestion. The 8 kinds of restriction endonucleases, which were Xho I, Bgl II, EcoR I, Pst I, Bgl I, BamH I, Xba I and Hind III, had been used to digest the mtDNA. On the



*S. asotus* mtDNA, the digested sites of these enzymes are 0, 1, 1, 1, 2, 2, 7 and 7, respectively. The molecular weight of *S. asotus* mtDNA is about  $10.84 \times 10^6$  and 17.54 kilobase pairs. According to the number and the size of the fragment obtained by digested with single and double enzymes, the restriction enzyme map of mtDNA from *S. asotus* was constructed.

**KEYWORDS** *Silurus asotus*, mtDNA, restriction endonuclease, restriction enzyme map