

介绍一种从胶凝中回收DNA的方法

柳海林 杨继红 郑毅 时军

(武汉市卫生防疫站 武汉)

向近敏

(湖北医学院 武汉)

A METHOD IN RECOVERY OF DNA FROM GELS

Liu Hai-Lin Yang Ji-hong Zeng Yi Shi Jun

(Wuhan Health and Prevention in Medicine station, Wuhan)

Hsiang Chin—ming

(Hubei Medical College, Wuhan)

在基因的结构与功能的研究中,如基因的物理图谱,测定DNA序列,DNA杂交,DNA重组,都必须首先获得高纯度的足量的DNA片段。如何从凝胶中回收DNA组份则是比较困难而又关键的问题。从已发表的文献来看,目前尚没有一种公认满意的方法。^[1 2 3 4 5]我们根据本实验室的具体条件,摸索建立了一种“带前洗脱槽法”,用此法从凝胶中洗脱回收DNA取得了非常满意的效果。

在紫外灯下确定DNA带的位置,在带前挖一个适当大小的凹形槽(图1)。用适当宽度的透析膜包被梳子的一面,两侧面和底面(图2)。将梳子置DNA带前,未包被透析膜的一面紧贴带的凝胶。凹形槽其余部分用较高浓度(1%)的琼脂糖凝胶填充,待此阻滞胶凝固后,小心地拔出梳子,就形成了一个由透析膜包围的带前洗脱槽(图3)。槽中加入适量的新鲜电泳缓冲液。样品槽和洗脱槽底部与玻璃板之间的距离分别为1毫米和0.5毫米,这样可保证电泳洗脱的DNA全部进入洗脱槽中。电泳一定时间,使DNA全部走出凝胶,再继续电泳5—10分钟(避免反向通电时DNA进入未用透析膜包被的凝胶面),然后反向通电10秒钟。吸出洗脱槽中的溶液,取出透析膜,用此溶液反复冲洗透析膜,并用少量的新鲜电泳缓冲液再冲洗透析膜,冲洗前后,将透析膜置紫外灯下观察,冲洗到透析膜无荧光为止。最后将两液合并,酚抽提,乙醇沉

淀, 回收率可达90%左右。

我们认为此法兼有简便, 快速, 回收率高的优点, 无需特别的仪器, 材料和试剂, 便于在普通实验室推广应用。

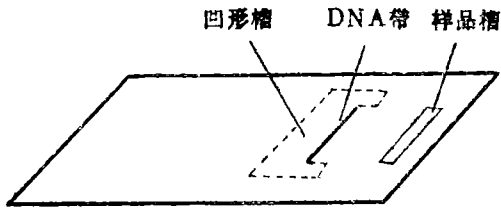


图 1

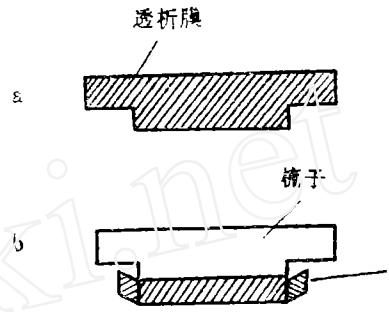


图 2

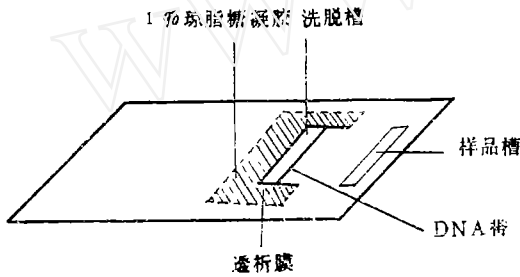
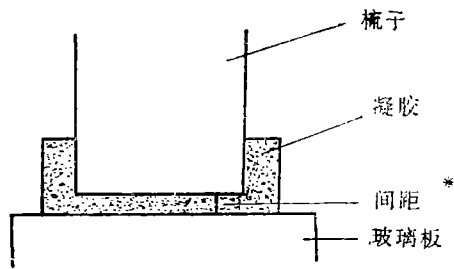


图 3



* 样品槽 1 毫米
洗脱槽 0.5 毫米

图 4

参 考 文 献

- (1) Thuring, R. W. J. et al., 1975, *Anal. Biochem.* 66: 213.
- (2) Smith N. O., 1980 *Methods in Enzymology* (Grossman L. and Moldave K. eads), Vol 65: 371. Academic Press New York.
- (3) Ledebor, A. M. et al., 1978, *B. B. A.*, 520: 498.
- (4) Wu Ray et al., 1979, *Methods in Enzymology* (Wu, R. ed.) Vol. 68: 176-182. Academic Press New York.
- (5) Wheeler, F. C. et. al., 1977. *Anal. Biochem.* 78: 260.