

($2 \times 10^6/\text{ml}$), 直接冻存于 -70°C 冰箱, 二倍体细胞保存时间至少可达 16 个月, 传代细胞至少可达 12 个月(MA₁₀₄)或 21 个月(Hep-2)。

参 考 文 献

[1] 鄂 征等, 1984 年组织培养技术, 第二版,

p. 116-118, 人民卫生出版社。

[2] 黄祯祥等, 1990 年, 医学病毒学基础及实验技术, 第一版, p. 135, 科学出版社。

[3] 中国医学科学院流行病学防治研究所, 1978 年, 常见病毒病实验技术, 第一版, p. 72-77, 科学出版社。

琼脂糖胶中 DNA 片段的离心回收

俞 慧 吴亚兰 赵德标

(中国科学院上海细胞生物学研究所 200031)

从琼脂糖电泳中抽提单条限制性酶解的 DNA 片段, 往往是 DNA 重组克隆的关键步骤。目前常用的方法不外是电泳洗脱^[1], 低熔点胶抽提^[2]及酚冷冻萃取^[3]等几种。这些方法一般都要经过酚/氯仿抽提和沉淀浓缩等额外的纯化步骤, 从而导致 DNA 得率降低。

现介绍一种快速简便的一步法, 能有效地从琼脂糖胶带中分离所需 DNA 片段^[4]。其过程主要是: 取一只 Eppendorf 管, 用注射针头在底部穿一小孔, 在管内填上 2—3 mm 厚的硅化玻璃毛, 将该管套在另一只 Eppendorf 管上, 就组成了一个二连系统, 用高压蒸汽灭菌消毒。割下的 DNA 胶带就放入上层 Eppendorf 管内, 6000 rpm 离心 5—10 分钟, 所需 DNA 片段就随胶内水分一起被离心到下层 Eppendorf 管中, 凝胶则受玻璃毛的阻隔而不能下来。以这种方法所得到的 DNA 片段可不必经进一步纯化, 直接用于连接和同位素标记等^[4,5]。若溶液体积过大, 则可采用冰冻抽干来浓缩部分体积后再进行下一步反应。

我们分别用上述离心法和电泳法作了纯化入 DNA Hind III 酶解片段的 23 kb, 9.42 kb, 6.68 kb 三条带的比较。结果, 两者得率相差不多。而对 0.1 kb 至 3 kb 的片段, 离心法回收率可达 90% 以上^[4]。此外, 我们还取 pGEM-7Zf(-) 质粒 1 μg , 经 EcoRI 酶解。在琼脂糖胶上电泳分离后, 分别采用电泳法和离心法纯

化, 其回收情况也与上述结果相一致。然后再将上述两种方法纯化所得的片段分别经 T₄ DNA 连接酶连接后, 转化入原储于 -70°C 的 E. coli JM 105 宿主菌, 转化量相当于 0.1875 μg 初始质粒 DNA。由于感受态宿主菌制备时间太久及其他原因, 转化效率不高, 但用电泳法获得的转化率为 $3.54 \times 10^3/\mu\text{g}$ DNA (663 个菌落), 而离心法所得的转化率为 $2.48 \times 10^3/\mu\text{g}$ DNA (464 个菌落), 两者属同一数量级。由此可见, 离心法确实不失为一种有效易行的胶纯化方法。

参 考 文 献

[1] Perbal, B., 1984, In A Practical Guide to Molecular Cloning, pp. 218—220.

[2] Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T., 1989, In Molecular Cloning: a Laboratory Manual (2nd edn), Cold Spring Harbor Laboratory Press.

[3] Sealey, P. G. and Southern, E. M., 1989, in Gel Electrophoresis of Nucleic Acids, ed. by Rickwood, D. and Hames, B. D., pp. 39-76, IRL Press.

[4] D. M. Heery, F. Gannon and R. Powell, 1990, TIG., 6: 173.

[5] Mats L. Ericson, 1990, TIG., 6: 278.