

## • 技术交流 •

## 从琼脂糖凝胶中快速回收 DNA 片段的新方法

贾根深

温进坤

(河北医科大学基础医学研究所生物化学室, 石家庄 050017)

在分子生物学实验技术中,从琼脂糖凝胶中回收所需的 DNA 片段是探针制备过程中必不可少的实验步骤。目前实验室常采用“电泳脱法”、“透析袋回收法”、“低熔点琼脂糖回收法”<sup>[1,2]</sup>、“冻融法”<sup>[3]</sup>等多种方法回收 DNA 片段。最近,我们参照国外有关报道,建立了一种通过离心过滤从凝胶中快速回收 DNA 片段的新方法,此方法比其他方法简便、快速,又能达到同类方法的回收效果,不失为回收 DNA 片段的较好方法。

**1 材料** 宿主菌:JM109。重组质粒为插入 2 000 bp 癌基因(c-jun 片段)的 pUC18; RNA 酶和限制性内切酶 EcoR I 购自华美生物工程公司;琼脂糖为 Sigma 产品;Eppendorf 管;玻璃棉等。

**2 方法**

**2.1** 取 2 个 0.5 ml Eppendorf 管,一个去掉上半部并用 7 号针在底部扎上 5 个小孔,另一个去掉盖子在底部中央扎一个针孔,取适量玻璃棉,用细玻璃棒塞至第二个 Eppendorf 管的底部,然后如图 1 所示相互套在一个 1.5 ml Eppendorf 管上。



图 1 三个 Eppendorf 管套接示意图

**2.2** 将携带 c-jun DNA 片段的重组质粒用 EcoR I 酶切后,经 1% 琼脂糖凝胶电泳分离,在紫外灯下,切取含有目的 DNA 片段的凝胶区带,碎成小块,放入图 1 所示的上层管中,加少许 TE,1 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min。凝胶块在离心力的作用下,通过第一个 Eppendorf 管的微小针孔时被彻底打碎,之后在通过第二个管时,凝

胶碎块被玻璃棉截留,含有目的 DNA 片段的液体,离心至下层管中。

**2.3** 将上述步骤得到的回收液加 1/10 体积 3 mol·L<sup>-1</sup> 乙酸钠(pH 5.2)和 2 倍体积的无水乙醇, -20℃ 放置 1 h 以上,1 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,沉淀物用 75% 乙醇洗一遍,将沉淀物于室温空气干燥 10 min,溶于适量双蒸水中。



图 2 酶切质粒电泳分离

**3 结果与讨论** 本方法的原理是在离心力作用下,含有目的 DNA 片段的琼脂糖凝胶通过一组细小针孔,将凝胶彻底打碎并改变其物理结构,从而使 DNA 片段从凝胶中释出。之后,通过用玻璃棉截留凝胶碎块,使 DNA 片段与凝胶得到分离。

本实验选用插入 2 000 bp c-jun 的重组质粒,经 EcoR I 酶切后,分别取等体积酶切样品,经 1% 琼脂糖凝胶电泳分离,结果如图 2。其结果呈清晰、整齐的两条区带,深浅一致,可作为两种方法回收对比的基础。

分别取按透析袋法和本法回收的 2 000 bp DNA 片段,取等体积回收样品进行琼脂糖凝胶电泳鉴定,从图 3 可见,用两种方法回收的 DNA 片段,其电泳区带清晰,深浅一致,回收率其本相同。与原酶切质粒对比,回收片段的迁移率相等。此外,用此法回收的 DNA 片段,其含量和纯度可满足分子杂交和克隆的要求。

**参考文献**

- 1 Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular Cloning:



图3 两种回收DNA片段方法的电泳鉴定及与原酶切质粒的对比。1. 原酶切质粒。2. 本文回收方法回收的DNA片段。3. 透析袋回收法回收的DNA片段。

A Laboratory Manual. 2nd ed, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY. 1989; 6. 28~6. 35.

2 Wieslander L. A simple method to recover intact high molecular weight RNA and DNA after electrophoretic separation in low gelling temperature agarose gels. *Anal Biochem*, 1979, **93**: 305.

3 Qian L, Wikinson M. DNA fragment purification, Removal of agarose 10 minutes after electrophoresis. *Biotechniques*, 1991, **10**: 736.

4 Vaux DL. Rapid recovery of DNA from agarose gels *Biotechniques*, 1992, **8**: 81.

(本文 1995-07-29 收到)