

一种高效、快速回收 DNA 片断的方法

王文锋, 穆灵敏, 王红霞

(1. 新乡医学院生命科学技术系, 河南新乡 453003; 2. 新乡医学院基础医学院形态学实验室, 河南新乡 453003)

摘要 [目的] 介绍一种高效、快速回收 DNA 片段的方法。[方法] 在 0.5 ml 的 EP 管的管底用大头针扎孔, 将一小块玻璃棉纸放入管中, 把含有 DNA 片段的凝胶放在纸上, 速冻后离心, 收集从管底流出的液体, 用乙醇沉淀回收, 并且与 TaKaRa 回收试剂盒的结果做对比。[结果] 该方法与试剂盒产量相当。[结论] 该方法是一种经济、快速、高效回收 DNA 片段的方法。

关键词 DNA 回收; 琼脂糖凝胶; 方法

中图分类号 S188 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)28-12118-01

An Efficient and Fast Method for Redaining DNA Fragment

WANG Wenfeng et al (Department of Life Science and Technology, Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract [Objective] The research aimed to introduce an efficient and fast method for redaining DNA fragment. [Method] A pinprick was picked at the bottom of 0.5 ml EP tube by using a pin. A scrap glass cotton paper was put into the tube and the gel with DNA fragment was put on the paper. After the quickfreezing, centrifugation was made to collect the liquid from the pipe base. DNA was redained by ethanol precipitation and compared with the results by using TaKaRa recycling kit. [Result] The yield by using this method was identical with that by using the kit. [Conclusion] This method is an economical, rapid, efficient method for redaining DNA fragment.

Key words DNA redain; Agarose gel; Method

从琼脂糖凝胶电泳中回收 DNA 是进行分子生物学操作的核心技术之一, 实验方法很多, 如低熔点琼脂糖凝胶回收、冻融法、玻璃奶法等。还有一些简易的回收技术, 报道很多^[1-4], 但这些方法多数需要购买特殊的试剂材料或者需要制作一些特殊的装置, 存在耗时长、成本太高、回收率低等问题。笔者在工作中摸索出了一种快速回收 DNA 片段的方法, 只需简单离心即可从琼脂糖凝胶中高效地回收 DNA 片段。该方法简单、快速、成本低、回收率高, 值得推广应用。

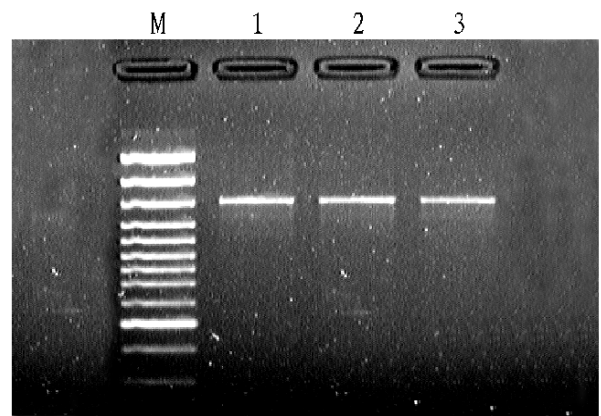
1 材料与方 法

1.1 材料 玻璃棉纸, 镊子, 大头针, 3 mol/L NaAc, 无水乙醇, TE 溶液, TaKaRa DNA 凝胶回收试剂盒。

1.2 方法 在紫外分析仪下, 切下含目的片段的琼脂糖凝胶块。取 0.5 ml 的 EP 管, 并在其底部用针钻一小孔, 用镊子放一浸润的玻璃棉纸(TE 或水浸润)。将切下来的含有目的产物的凝胶块放入准备好的 0.5 ml 的 EP 管中, 液氮速冻后, 将其 EP 管放入一个 1.5 ml 的 EP 管中。把这两个套在一起的 EP 管在室温下 15 000 r/min 离心 3 min, 将流出液体用移液枪定容。流出液加入 1/10 体积的 3 mol/L NaAc(pH 5.2) 和 2 倍体积的无水乙醇, -20℃ 沉淀 20 min 以上。4℃ 13 000 r/min 离心 3 min, 吸弃上清, 沉淀干燥后溶于 20 μl TE(pH 8.0) 的溶液。将不同回收方法得到的同样是 20 μl 体积的 DNA, 进行电泳分析。

2 结果与分析

取相同体积 DNA 产物且用同一条件电泳, 分别用上述方法及 DNA 凝胶回收试剂盒回收 DNA 产物, 最后用相同体积的 TE 缓冲液溶解, 琼脂糖凝胶电泳检测回收效果。由于回收前后的溶液总量一致, 所以各取 10 μl 上样电泳对比检测(图 1), 可见回收后条带亮度接近原条带, 并且与试剂盒条带亮度相当。结果表明, 该方法回收 DNA 的效果非常好, DNA 的损失很小。



注: M. 分子量标准; 1. 回收前 DNA 产物; 2. 玻璃棉纸过滤回收的 DNA 产物; 3. 试剂盒回收的 DNA 产物。

Note: M. Molecular weight marker; 1. DNA products before redaining; 2. DNA products redained by glass and cotton paper filtration; 3. DNA products redained by the kit.

图 1 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 回收结果

Fig. 1 The detection results of redained DNA by agarose gel electrophoresis

将该回收方法与凝胶回收试剂盒作对比试验, 分别将回收的 DNA 片段用核酸浓度仪检测回收浓度, 然后进行连接、转化、DNA 测序、PCR 等后续操作, 结果表明: 两者差异不显著, 证明该法所回收的 DNA 较纯, 完全能够满足分子生物学操作的需要。该方法充分利用了玻璃棉纸对 DNA 无吸附作用, 用液氮速冻后简单离心, 无须捣碎琼脂糖, 避免了为去除杂质而采用繁琐的抽提沉淀步骤, 保证了 DNA 的高效回收, 使得整个操作过程快速、高效、所用试剂少, 非常适合推广。

3 结论

该试验的回收方法可以完全替代回收 DNA 的商用试剂盒, 可直接应用于 DNA 重组、PCR 分析等各种分子生物学实验操作, 是一种简单、快速、高效的 DNA 回收方法。

参考文献

- [1] 蒋安, 梁慧, 陈旭, 等. 回收琼脂糖凝胶中 DNA 的简便方法[J]. 生物技术通报, 2006(2): 102-103.
- [2] 庄飞云, 茅淑敏, 姜群峰, 等. 简便实用的琼脂糖凝胶回收 DNA 片段方法[J]. 生物技术通讯, 2003, 14(3): 202-203.
- [3] 王长松, 刘友生, 李红, 等. 介绍一种简便的 DNA 胶回收方法[J]. 中国生物制品学杂志, 2005, 18(5): 428.
- [4] 张亮, 赵晓瑜, 康现江, 等. 一种有效回收小分子 DNA 片段的方法[J]. 生物技术通报, 2007(1): 99-102.

基金项目 国家自然科学基金项目(39870532)。

作者简介 王文锋(1976-), 女, 河南长垣人, 硕士, 讲师, 从事分子生物学教学及科研工作。

收稿日期 2008-07-11