

放线菌 DNA 制备过程中胞壁破碎方法的改进

姜成林 徐丽华

(云南省微生物研究所,昆明)

放线菌生物学研究中,经常要制备 DNA。由于许多放线菌对溶菌酶不敏感,这些菌的破壁就很困难;用超声波破壁,所得 DNA 片段太短;用其他物理方法破壁(如冻融、减压、加温等)则耗时费事,难于掌握。根据我们的经验和国外有关文献[1—3],综合改进如下:

1. 菌体培养:用最适生长的培养基再加 0.05% 的甘氨酸或赖氨酸(用乙醚消毒后加入)^[4],接种,培养到对数期,收集菌体。加这两种氨基酸可使菌体细胞发育不健全,便于破壁。

2. 溶壁:洗净后的菌体 2—5g 悬于 10—20 ml 0.15mol/L NaCl、0.1mol/L EDTA、1mol/L 蔗糖液 (pH8.0) 中,加入溶菌酶 10mg,37℃

作用 10 分钟至 6 小时,视溶液变粘的早迟、程度而定。然后加 25% 的 SDS 2ml,60—70℃ 处理 10 分钟,加入 5mol/L 高氯酸钠,使最终浓度为 1mol/L,以析出 DNA。然后按常法^[5]分离纯化 DNA。

我们用这种方法分析了几十株不同属、不同胞壁类型 (I—IV 型)、对溶菌酶不敏感的放线菌,都得到比其他破壁方法好得多的结果。

参 考 文 献

1. Yamada K et al.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 16:215—224, 1970.
2. Chassy B et al.: *Appl. Env. Microbiol.*, 39: 153—158, 1980.

(下转第178页)

(上接第182页)

3. Owen R J et al.: In *Chemical methods in bacterial systematics*, Goodfellow, M. et al. (eds.), Academic Press, London, pp.67—93, 1985.
4. Shirling EB et al.: *Int. J. Syst Bacteriol.*, **16**: 313—340, 1966.
5. 周惠玲: *微生物学报*, **18**: 134—139, 1978.

• 178 •