

一种分离回收 DNA 的简捷方法

崔晓江 彭学贤

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

从凝胶中分离回收 DNA 有多种方法, 如常用的低熔点胶法, 普通胶液氮速冻法等。Bio101 公司生产的 Geneclean 试剂盒使 DNA 回收避免了苯酚抽提和乙醇沉淀, 简单快速, 回收率高, 但有效分离回收的 DNA 片段长度处于 500 bp—15kb 的范围内。Promega 公司近年推出的 Magic (现改称 Wizard) 试剂盒则将 DNA 片段有效回收的范围扩展到 200bp-50kb, 回收率可达 100%。但直至目前, Magic 系列试剂盒只能回收溶液或低熔点胶中的 DNA 片段。我们经多次试验, 对该方法作了改进, 使之能从普通胶中回收 DNA, 无需苯酚抽提和乙醇沉淀, 15 分钟内可以完成整个过程。

在紫外灯下 (最好用长波) 回收含特定长

度 DNA 片段的琼脂糖凝胶, 凝胶块越小越好, 并置于 1.5ml 离心管中, 加 500 μ l 6mol/L NaI 溶液, 在 45℃—55℃ 保温使凝胶溶解, 再放冰浴中大约 1 分钟, 使 NaI 溶液冷却至 25℃ 左右, 再加 1ml 试剂盒中的 Resin (树脂), 上下颠倒离心管几次, 使核酸吸附在树脂上, 后面的步骤按试剂盒使用说明书进行。需注意的是所加 NaI 溶液体积最好不要超过 500 μ l, 否则会使 Resin 过于稀释。另外 NaI 溶液要冷却到 30℃ 以下再加 Resin, 温度太高会影响 Resin 结合 DNA 的能力, 但温度太低会使 Resin 结晶析出。用该法回收的 DNA 可用于连接、酶切、PCR 等各种反应, 回收效率在 90% 以上。从回收率和简便性上看, 该法优于其它已知的回收方法。

1993-12-14 收稿。