

THE ISOLATION OF DNA FROM HUMAN HAIRS AND ITS PCR

Liu Jingzhong Tang Qizhi

(The Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing)

Abstract

Human hairs are one of the most easily found forms of biological evidence at crime scenes, Here we report a method isolating DNA from single hairs and the results of the gene amplification (PCR) from the hairs' DNA. Further studies on the amplified gene fragments are valuable for the forensic identification of individuals.

Key words human hairs, DNA, PCR (polymerase chain reaction)

经验交流

合成寡核苷酸的简易纯化方法

方 福 德

(中国医学科学院基础医学研究所, 北京)

关键词 合成寡核苷酸, 简易纯化法

由手工或机器合成寡核苷酸到使用它们的过程中, 纯化步骤经常成为速度限制因素, 因为目前采用的常规纯化方法比较繁复^[1,2], 特别当样品数和每份样品量多时, 往往难以满足工作的需求。有鉴于此, 1986年 Lloyd 等报道了一个简易的纯化方法^[3], 似可克服上述不足。笔者从 1986 年以来曾多次参照 Lloyd 等法(仅在某些细节上略作改变)纯化由合成机合成的脱氧寡核苷酸片段(其长度为 30-mer—50-mer), 效果不错, 在此作一介绍, 以供参考。

一、样品的处理

纯化之前, 合成寡核苷酸加等体积浓 NH_4OH 溶液密封后置于 55°C 水浴 5 小时以去三苯甲基化 (de-tritylation)。真空干燥之。

二、全长度寡核苷酸片段的分离

根据寡核苷酸长度选择适当的聚丙烯酰胺凝胶的浓度(含 8mol/L 脲)按常规方法电泳分离, 凝胶置于荧光 TLC 板上, 用紫外线照射以显示全长度 (full-length) 寡核苷酸片段区带的位置, 再用刀片切下所需胶条。

三、全长度寡核苷酸片段的纯化

胶条研碎, 加入约 1—1.5 体积蒸馏水, 于 37°C 温室振荡过夜。胶状液通过一具有 0.45μ 孔径的微孔滤膜的注射针头过滤, 收集滤过液, 真空干燥, 用无水乙醇洗涤 5 次, 每次 1—1.5ml, 沉淀物为寡核苷酸, 真空干燥后加入 50—100 μl 水使溶解, 测定 OD_{260} 值, 按 $1\text{OD}_{260} = 20\mu\text{g}$ 计算产率。

四、产率

产率取决于多种因素, 主要包括合成效率和分离纯化过程中的损失程度等。根据我们的结果, 合成 30-mer—50-mer 寡核苷酸的产率通常在投料量的 10% 左右。

五、应用

由本法纯化所得之寡核苷酸具有较多用途^[3]。我们主要将之用作标记探针筛选含特定基因的重组体克隆。例如, 我们曾合成一个与人谷胱甘肽转移酶 π (GST- π) cDNA 5' 端序列相互补的 30-mer 脱氧寡核苷酸, 用 5' 末端标记法获得了高比活 ($> 1 \times 10^6$ cpm/ μg) 的标记寡核苷酸探针, 说明合成寡核苷酸可作为 T_4 多核苷酸激酶磷酸化作用的底物。我们用此标记探针进行原位杂交, 从 cDNA 文库中筛选得到 3 个含人 GST- π 基因的重组体。实践还表明, 此法纯化的寡核苷酸也可用作核酸序列测定的引物。

参 考 文 献

- 1 Alkinson T, Smith M. In: Gait M J ed, *Oligonucleotide synthesis a practical approach*, Oxford and Washington: IRL press, 1984: 35—81
- 2 Wu R et al. in: Gait M J ed, *Oligonucleotide synthesis, a practical approach*, Oxford and Washington: IRL press, 1984: 135—151
- 3 Lloyd R S et al. *Biotechniques*, 1986; 4: 8

[本文于 1989 年 6 月 19 日收到]