

用其他电洗脱方法回收的样品,如不经处理。在重新电泳时迁移距离有改变或根本不能进胶,也不能被酶切。但样品经过一系列处理,损耗太大,最终可能无法回收。本法具有上述优点的主要原因是放在样品放置端的琼脂糖,由于本身的重量和电中性,不可能进入样品回收端,但操作必须十分仔细。此外,与DNA结合的EB,经长时间电泳而除尽,不影响DNA的再使用。

2. 稀含量DNA溶液的电泳浓缩效果见图6(封二)。如果电泳时间延长至3小时或电压提高至200V,则样品全部集中到第4部分内。浓缩效果可达60—70倍。

3. 把洗液缓冲液换成电泳缓冲液(或稀释100倍),则回收不到样品,因为随着电泳时间的延长,洗液器中的温度电流迅速增加,电泳两小时后温度达70—80℃,电流则由开始的5mA上升到30—35mA。用高离子强度的溶液作洗液缓冲液,由于持续高温可能使样品破坏。采用我们推荐的洗液缓冲液,即使电泳4

小时,温度不超过40℃,电流仅由2mA上升到10mA左右。

4. 电洗脱浓缩的时间和电压是相关的。如果电压低于100V,起始电流1mA左右,电泳即使持续到4小时,终电流也只有3—5mA,洗液效果很不理想。如果延长电泳时间,效果也不见改善。

5. 本文介绍的回收DNA片断和浓缩DNA稀溶液的缓冲系统及电泳条件,对于tRNA,也可得到满意结果。估计也可用于由聚丙烯酰胺凝胶上洗脱并浓缩DNA。

参 考 文 献

- [1] Mitchell, D. E. and J. W. Nelson: *Anal. Biochem.*, 85, 188, 1978.
- [2] 马延高等:《病毒学集刊》,第三期,141,1983。
- [3] 马延高等:《武汉大学学报》(自然科学版),第三期,96,1983。

[本文于1984年1月19日收到]

安培法测定谷物直链淀粉含量

何照范 单友谅 牛爱珍

(贵州农学院生化营养研究室,贵阳)

谷物中直链淀粉含量是衡量谷物品质优劣的主要指标之一,因此建立一个简易而精确的方法测定它,很有必要。在实践中我们感到Bates等人(1943)的安培测定法是比较满意的。我们在此基础上,根据国内条件自行试制了一台简易安培测定装置。在测定时,以热稀碱溶液处理甘汞电极,消除了甘汞电极易因淀粉沾附而钝化的弊病,提高了测量准确度。

一、材料与方 法

1. 主要试剂及仪器

1毫克/1毫升直链淀粉标准液:称取直链淀粉(纯度为96—97%)52毫克,加0.5N氢氧化钠溶液10毫升,在热水浴中溶解,以蒸馏水定容至刻度。

1毫克/1毫升支链淀粉和1毫克/1毫升糊精溶液的制备;方法同上。

安培滴定装置(图1),由旋转铂电极,甘汞电极,微安表及微量滴定管组成。旋转铂电极由电动搅拌器和铂电极改装,将铂电极上端导线外皮剥开露出铜丝,套上铜管,焊接在一起,插入电动搅拌器孔内。用一有弹性的铜片将一块石墨电刷固定在铜棒上,使铂电极旋转不受阻碍,铂电极通过电刷联一导线接微安表正

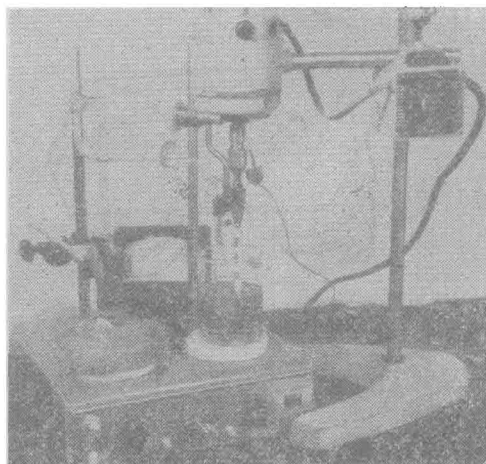


图1 安培滴定装置

极,甘汞电极上端接负极,使电磁搅拌器与铂电极旋转方向相反,确保溶液搅拌均匀。如果用DT-830型液晶显示数字万用表代替一般的微安表,可将甘汞电极接线插头插入万用表的COM孔中,铂电极接头插入mA孔中,量程开关选择在DCA合适位置。

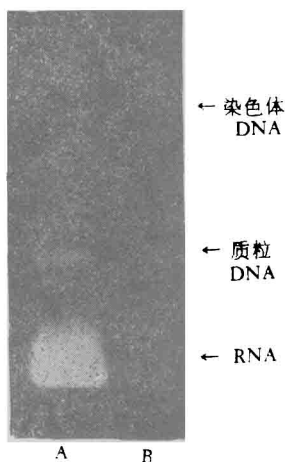


图1 质粒 DNA 粗制剂的琼脂糖凝胶电泳
A: 未用 RNA 酶消化; B: 用 RNA 酶消化

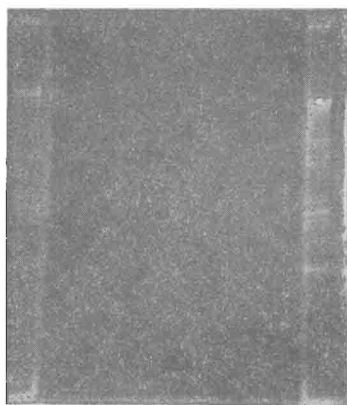


图2 制备性电泳纯化质粒 DNA 的电泳图谱
两侧的凝胶条用 EB 染色中间的宽幅凝胶未经染色

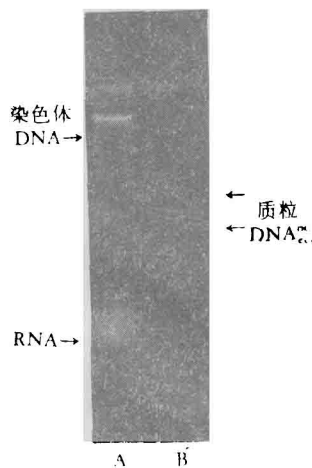


图3 用制备性电泳电泳洗脱和有机溶剂抽提得到的纯化质粒 DNA
A: 纯化前的粗制剂; B: 只含一个质粒的 DNA 纯化样品

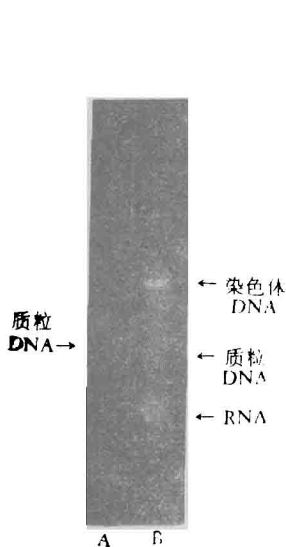


图5 用 NaCl 速度区带超离心法得到的纯化质粒 DNA
A: 纯化的质粒 DNA
B: 未纯化样品

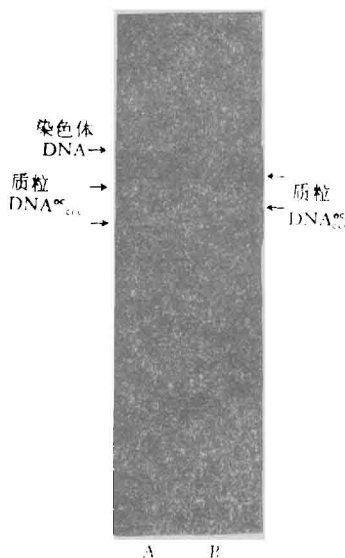


图6 用 CsCl 等密度超离心纯化得到的质粒 DNA
A: 从 *Bacillus thuringiensis* Var is-
vaeusis 4Q2-22 分离;
B: 从 *E. coli* DEC138 分离

马延高等“介绍一种回收 DNA 片段和浓缩核酸稀溶液的方法”一文的图

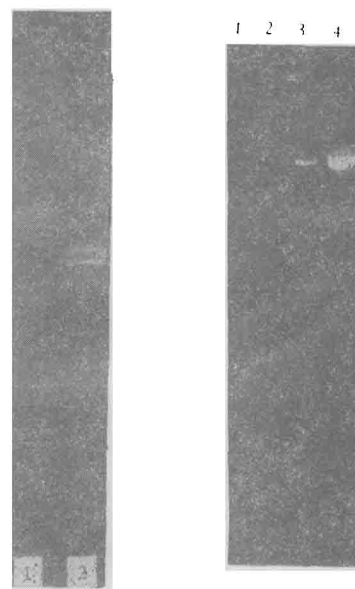


图5 回收片段的再酶切

1. 蓖麻蚕 NPV-DNA + Bgl II 的第一个片段 + EcoRI
2. 蓖麻蚕 NPV-DNA + Bgl II 的第二个片段 + EcoRI

图6 稀核酸溶液的浓缩效果

操作: 取 0.1 OD 260 的家蚕 NPN-DNA, 先对洗液缓冲液充分透析后, 取 5ml, 100V, 电泳 2 小时后, 于 1, 2, 3, 4, 四个部分中分别取 150, 150, 150, 50μl, 在 0.7% 的琼脂糖凝胶上电泳。

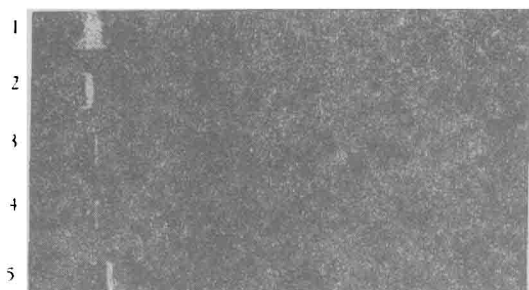


图4 回收片段的再电泳

1. 为蓖麻蚕 NPV-DNA (按文献 [2], [3] 方法制备 + Bgl II (上海东风厂或生物物理所生产), 2, 3, 4, 5 分别为回收后再电泳的蓖麻蚕 NPV-DNA + Bgl II 的四个片段