

自凝胶上洗脱核酸的简易方法

本法原用于从电泳后的琼脂糖凝胶上洗脱 DNA 样品 (Methods in Enzymology Vol. 68, pp176—182), 我们用来从电泳后的聚丙烯酰胺凝胶上洗脱 RNA, 在技术上作了一些改进, 洗脱效率达 70% 以上, 同时保证了样品的高纯度。其优点是在板状制备分离胶上直接洗脱核酸样品, 无需将含样品的凝胶带切下再进行洗脱。方法是在电泳后, 除去凝胶板的上层玻璃板, 借助 254nm 紫外分析仪鉴定出分离胶上的核酸样品带, 沿其下缘切出一长方形的槽(宽约 0.5 厘米), 内衬透析膜, 使成簸箕形, 且将透析膜潜插在欲洗脱样品带的下面(图 1), 并在槽内注满电泳缓冲液(为防止渗漏, 可在板胶周围以凝胶封边)。然后, 将此板胶平放在制备电泳时用的电泳槽上, 胶的两端以纸桥与电泳槽缓冲液相连接(图 2)。

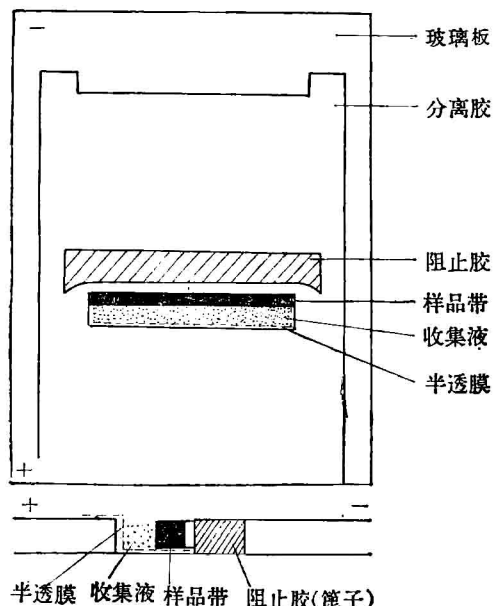


图 1 直接洗脱法示意图

上图: 俯视图 下图: 横面图

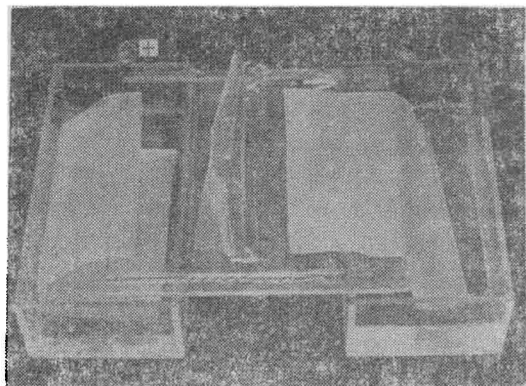


图 2 直接洗脱法装置图

电泳洗脱时的电压与制备凝胶电泳时相同 (500 伏), 电泳洗脱时间根据 RNA 各组份间的分离情况决定 (洗脱 5s RNA 为 1 小时左右)。为防止所洗脱的 RNA 样品被大分子 RNA 样品污染, 一般要求欲洗脱的 RNA 带与其上方的相邻 RNA 带的距离不小于 0.5 厘米。同时, 在洗脱前, 也可以将欲洗脱的 RNA 带上方的胶和毗邻的 RNA 带切去, 并填以空白浓胶 (20—30%)。这样就形成了一个篮子, 阻止大分子 RNA 通过。

电泳洗脱完毕后, 吸取透析膜内的洗脱液; 再用少量的重蒸水清洗透析膜, 清洗液与洗脱液合并。加 3M 醋酸钠溶液, 使终浓度为 0.3M。再加入 2.5 倍体积的 95% 乙醇, 于 -20℃ 过夜。离心收集沉淀, 依次用 70% 乙醇, 95% 乙醇, 无水乙醇洗涤沉淀, 加入少许乙醚真空干燥后, 即可得到 RNA 样品的干粉。

中国科学院生物物理研究所

韩恒湘 程振起

[本文于 1981 年 9 月 29 日收到]