

IDENTIFICATION OF Hb D-PUNJAB: AN APPLICATION OF DNA AMPLIFICATION ON STUDY OF ABNORMAL HEMOGLOBINS

Zeng Yitao Huang Shuzhen Zhou Xiadi Zhu Hao Chen Meijue
(Laboratory of Medical Genetics, Shanghai Children's Hospital)

Li Houjun Li Huiwu Li Li Zhao Xianning Xing Fali Chang Li
(Ulumuqi Military General Hospital)

Jiao Chuntang Tang Zhigui Chen Congyuan
(Chongqing Second People's Hospital)

ABSTRACT

Hemoglobin D-Punjab is a common Hb variant in China. This paper describes a new way—Eco RI mapping of the amplified β -globin DNA, for identification of Hb D-Punjab gene. The primers for PCR were designed and synthesized to enzymatically amplify an 144bp fragment which contained an Eco RI recognition site. So the D-Punjab gene could be easily detected by Eco RI digestion of the amplified sequences on agarose gel electrophoresis owing to a single base change on codon 121. Four Hb DPunjab families from Han, Tibet and Kasak nationalities were analysed by this simple method. The results were also confirmed by oligonucleotide hybridization technique.

Key words hemoglobin, gene, polymerase chain reaction, restriction endonuclease

科技消息

一种快速、简便纯化 DNA 的新方法——介绍 GeneClean kit

DNA 的传统纯化方法无非是苯酚抽提,乙醇沉淀以及用 RNaseA 除去小分子的 RNA。这些方法不足之处是操作复杂、耗时,有时不得不使用低熔点的琼脂糖凝胶。近来,国外许多分子生物学实验室都用美国加利福尼亚一个生物制品公司生产的“GeneClean” kit。此 kit 能快速从普通琼脂糖凝胶中得到高纯度的 DNA,并具有脱盐,除去小分子 RNA 和蛋白质等许多优点。对于在 DNA 样品中残留的有机溶剂如:苯酚、氯仿、乙醚有特殊的效果,特别适于小片断质粒 DNA 的制备(mini preparation)、缺口平移、末端标记等,可去除没有结合的核苷酸,它可以在 20 分钟之内完成全部过程。一个完整的 kit 可纯化 100—200 个 DNA 样品,对于分子生物学工作者是一种非常有用的 kit。

下面简单介绍具体用法:

在紫外长波长下切下琼脂糖电泳后的 DNA 条带,加 2 到 3 个体积的 NaI 溶液,45°C—55°C 水浴 5 分钟,可以观察到琼脂糖溶解的过程。如果 DNA 并不在琼脂糖胶中,直接加 2—3 倍体积的 NaI 溶液,室温 5 分钟,然后加一种叫“Glassmilk”的白色悬浊液,一般加 5 μ l 的“Glassmilk”可纯化溶液中大约含有 5 μ g 或者少于 5 μ g 的 DNA,混匀后放进冰中保持 5 分钟,在 Eppendorf 离心机中离心 5 秒钟,弃去上清,白色的沉淀用“New wash”(一种洗 Glassmilk 的溶液),洗 3 次,一般用 200—1000 μ l 是足够的了。最后加 30—50 μ l Tris-EDTA 缓冲液 pH8.0,悬浮白色沉淀,45°C—55°C 5 分钟,离心 30 秒钟,小心地取出上清液,大约 80% 以上的 DNA 能被洗脱出来。

【乌鲁木齐市中国科学院新疆化学所,郭晓慧】