

最简易的“DNA粗提取与鉴定”方法

陈爱葵 (广东教育学院生物系 广州 510303)

“DNA粗提取与鉴定”是现行高中生物学课程的必做实验。实验的主要目的是让学生学会DNA粗提取和鉴定方法,观察提取出的DNA。但由于实验材料和试剂不易获得,实验成本昂贵,而且实验方法步骤繁琐,对学生的技能要求高,很多中学,尤其是农村中学无法开设此实验。经过几年与学员一起摸索和实践,总结出一套最简易的DNA粗提取与鉴定方法,降低了成本、简化了操作步骤,完全能达到实验的目的及要求。现将实验的简易步骤介绍如下:

1 简易的操作步骤

第一步,制备血细胞液:准备10%柠檬酸钠液放入洁净有盖的玻璃瓶中,取活鸡血以1:1的比例加入瓶中(可到市场向卖鸡人索取,置温度较低处静置过夜)。

第二步,提取核物质:将静置过夜的混合液取出,弃上清液,将沉淀物混匀后取2~3mL于50mL的小烧杯中,加10~15倍的洁净自来水(代替教材上用的蒸馏水,并不影响效果),一面加水,一面用玻璃棒缓慢搅拌5分钟左右,目的是使细胞破裂。

第三步,溶解核内DNA:取第二步的细胞破裂液5~10mL放入大烧杯中,加入2%的市场销售的精盐液30~40mL(以市场销售的精盐代替教材中的NaCl),先放20mL轻摇,然后再加其余的。DNA在高浓度盐液中溶解度最大。

第四步,析出DNA:沿上述烧杯壁缓慢加入洁净自来水200mL,先加100mL轻摇,再将其余加完,然后用玻璃棒顺时针搅动,可见玻璃上粘有DNA絮状物或丝状物。此步目的是降低盐液浓度,使DNA溶解度达到最低而析出。

第五步,将析出的DNA再溶解:取一个小烧杯,加入2%精盐液10mL,将粘有DNA的玻璃棒插入盐液中,逆时针方向轻轻搅拌,目的是使DNA再溶解于盐液中。

第六步,提取较纯的DNA:加入预冷的高纯度白酒(最好为68°,代替教材中所用的95%的乙醇)20mL,用玻璃棒轻轻搅拌,目的是使纯的丝状物析出,此丝状物即鸡的血细胞的DNA。

第七步,DNA的显色鉴定:取2支试管分别编号为1号、2号,各加入0.015M盐溶液2mL,二苯胺试剂4mL,将粘有DNA的玻璃棒插入1号(记住)试管中,轻轻搅拌将DNA与1号试管中的溶液混匀,然后将2支试管同时放入沸水中加热10分钟左右,取出放置冷却,观察2支试管的颜色变化,溶有DNA的试管应变为蓝色,即1号试管应变为蓝色,而2号试管不变色,说明实验成功。

2 溶液的配制方法

2%精盐溶液:称58.5g市场销售的精盐,溶于500mL洁净自来水中;

0.015M精盐溶液:称8.7g市场销售的精盐,溶于1000mL洁净自来水中;

二苯胺试剂:称0.5g二苯胺溶于50mL冰醋酸中,然后缓慢地向该溶液中加入1.25mL浓硫酸(使用前配制,注意安全及通风)。

3 经验之谈

实验中较关键的一步是红细胞的破裂,教材中红细胞与蒸馏水的比例为1:2或1:4,我们通过实验,觉得在1:10与1:15之间效果佳;可以通过观察溶液的透明或混浊判断红细胞破裂的程度,溶液如果变得较透明即说明红细胞破裂完全,如果还混浊说明红细胞破裂不完全;另一步骤关键是实验一过程中的几次搅拌,搅拌时动作要轻而且时间要充分。

实验中与教材比较有变动之处:将教材中红细胞5~10mL的用量改为2~3mL,减少了鸡血的用量,但之后提取的DNA仍能满足鉴定时所需要的DNA量;用洁净自来水代替教材中的蒸馏水、用市场销售的精盐代替教材中的NaCl、用市场销售的高度白酒代替教材中的95%的乙醇(而且用量只是20mL,教材用95%的乙醇50mL),这些东西在市场上都是价钱较低的商品;省去了教材中第4步用纱布、漏斗过滤步骤3溶液这一步;所以整个实验的成本比教材所要求的降低了很多,然而同样能取得较好的实验效果。故由于经费无法开设此实验、大多数的农村中学不妨可采用我们的这一简易方法。◆

欢迎在网上查询、发E-mail或来信索取详细介绍和定购单!上海地区可以送货上门。

联系地址:上海市中山北路3663号华东师范大学生命科学学院实验中心,邮编:200062 联系人:方老师 021-62233395 绳老师:021-62232425(华东师范大学理科大楼B301),何老师 13801811084 传真:021-62233754 E-mail: mxh1@bpe.cn.edu.cn 网址: http://life.cn.edu.cn(公告)