

一种简易的分离根癌土壤杆菌质粒的方法 (简报)

王 钧

(中国科学院昆明植物研究所)

A SIMPLE METHOD FOR ISOLATING PLASMIDS FROM AGROBACTERIUM TUMIFECIENS (SHOOT REPORT)

Wang Jun

(*Kunming Institute of Botany, Academia Sinica*)

土壤杆菌属的一些菌含有分子量达100兆道尔顿的大质粒。根癌土壤杆菌的Ti质粒是潜在的植物遗传工程载体。目前制备这类大质粒主要用Currier & Nester^[1]和van Larebeke & Schell^[2]的方法。一般认为土壤杆菌破壁困难,需用溶菌酶、蛋白酶。虽然Currier & Nester^[1]把DNA变性后以酚和氯仿-异戊醇清除了一些染色质,但残存染色质仍多。两法最后都靠密度梯度离心法获得纯质粒。这样,就限制了制备Ti质粒的规模。我们采用Hensen & Olsen^[3]4% SDS和热冲击方法破壁,在控制湿菌量和破壁液比例的条件下,不用酶也能破壁。然后,用酚和氯仿-异戊醇抽提去蛋白;不经DNA变性,用Zasloff等人的酸酚法去染色质DNA;再用Humphreys等人的方法,以PGA 6000沉淀浓缩质粒DNA。经琼脂糖电泳鉴定,得单一DNA带,无染色质扩散带。这就为大规模制备根癌土壤杆菌Ti质粒提供了可能。目前正在进一步工作。详细结果另行发表。

参 考 文 献

- [1] Currier, T. C., & Nester, E. W., 1976: *Anal. Biochem.* 76: 431—441.
- [2] van Larebeke, N. & Schell, J., 1976: *Nucl. Acid Res.* 3: 449—463.
- [3] Hensen, J. B. & Olsen, R. H., 1978: *J. Bact.* 135: 227—238.
- [4] Zasloff, M., et al., 1978: *Nucleic Acid Res.* 5: 1139—1152.
- [5] Humphreys, G. O. et al., 1975: *Biochem. Biophys. Acta* 383: 457—463.