

5301 真空离心浓缩仪在测序实验室的应用

Eppendorf 生产的 5301 真空离心浓缩仪有两个版本：作为配有抗腐蚀化学隔膜泵的完整系统的一部分或是作为一个便于升级的基本配置，确保高效、平缓地对您的样品（如 DNA/RNA，蛋白质）进行真空浓缩。对于许多提供商业化高通量测序服务的实验室，由于必须浓缩处理大量低浓度 DNA 样品，是该款真空离心浓缩仪最佳的“用武之地”。也许有人会考虑通过应用不同方法（如乙醇沉淀）反复浓缩以达到浓缩核酸的目的，但是这种操作既耗时且损失大量样品，无法保障精确测序的要求而被此类实验室摈弃。另外，浓缩干燥 DNA 样品也要把握适度原则，否则样品中湿度过低，DNA 不易重溶，一样会影响后续实验的效果。

本文总结了 5301 真空离心浓缩仪在测序实验室的多方面应用，不仅展示出其在浓缩核酸方面的独特优势，并且在去除醇残留、分装酶、冻干样品及干燥大量样品等方面均有上佳表现。



方法

通常，测序反应所使用的都为 0.2 ml 的小管，为了使这些小管能更有效地插入 5301 真空离心浓缩仪专配的转子，我们可以选用 Eppendorf 离心机用于 0.2 ml PCR 管相配的适配器。

1. 再浓缩 DNA 样品

许多时候，当完成循环测序通过聚丙烯酰胺凝胶分离后，却发现结果不尽如人意，我们首先需要考虑 DNA 样品是否浓缩不足？除了通过比色分析浓度、通过将样品溶入少量溶剂浓缩样品外，推荐您使用 5301 真空离心浓缩仪再浓缩 DNA 样品，通过加热 60°C 与“功能 1”命令，仅需 30 分钟就可将 150 μl DNA 水溶液浓缩至 10 μl，而且不影响 DNA 之后在测序中的反应。相同的参数条件也可用于测序中使用的引物浓缩。

对于比较敏感的样品，我们不必机械地选择温度参数，可以适当地选择相对低的温度，只要相应延长离心浓缩的时间即可。

2. 去除 DNA 样品中的醇残留

无法对重溶的 DNA 样品进行标准的测序反应，可能是由于 DNA 样品中存在醇污染，通过 5301 真空离心浓缩仪加热 60°C 与“功能 1”命令，4 分钟内就可将 DNA 样品中的醇残留去除。

3. 分装酶

通过分别称量分装小量酶如 RNase 至微量检测管，想来就是件费时费力的工作。为了在每个微量检测管中加入 1 mg 酶，先将 100 mg 酶溶入 1 ml 水中，在 Eppendorf 多道移液器的帮助下在每个微量检测管中加入 10 μl 酶溶液，接下来就是 5301 真空离心浓缩仪的强项，45°C 与“功能 1”命令，5 分钟内就可将酶溶液中的水份完全蒸发。

4. 干燥功能

大家通常都有这种经验，大量质粒 DNA 的抽提、乙醇沉淀、离心、回收都是在 25 ml/50 ml 离心管中完成，虽然 5301 真空离心浓缩仪没有适用于这类容器的转子，但仍然可以通过一点点变通来实现这类大量样品的干燥浓缩。具体的过程如下：用 Parafilm 膜将 25 ml/50 ml 离心管封口并在膜上打孔，将 5301 真空离心浓缩仪内的转子移去，把 25 ml/50 ml 离心管用 PS 环捆扎固定直接放入离心腔，在真空状态下孵育 15 分钟后选择“功能 1”命令，就可最大限度的干燥浓缩这类大量样品。

5. 冻干样品

虽然不是专门设计的功能，5301 真空离心浓缩仪还可用于冻干样品。该项应用要求样品的蒸发与冻融能同步进行。

尽管样品的温度会随着不断蒸发而下降，该用途的参数选择上的关键在于权衡样品容量与初始样品温度之间的关系。

为了冻干细胞的不同组成部分，我们将重量小于 1g 的样品预先储存在 -20°C 而将重量大于 1g 的样品储存在 -70°C，将 5301 真空离心浓缩仪内的转子移去，把预先冷冻处理的样品 PS 环固定直接放入离心腔，在真空状态下室温孵育 2-3 小时并选择“功能 1”命令，就完成了对样品的冻干处理。



小结

综上所述，5301 真空离心浓缩仪的多功能与易操作性给人留下鲜明的印象，此外该仪器还配有多种适合于不同管子类型的转子（从 8 位到 72 位）配合双层固定角转一起使用的一款间隔器，将样品数增加到 96 或 144 个，非常适合那些提供商业化高通量测序服务的实验室。

由于温度及功能等多种参数的灵活组合，5301 真空离心浓缩仪的功能因不同样品性质与实验需求可不断拓展，必将成为您实验室不可或缺的帮手。

作者 Otto Knobloch
Sequence Laboratories Göttingen GmbH, DNA-Service-Labor,
Hannah-Vogt-Str. 1, 37085 Göttingen