

从水样中分离宏基因组 DNA 的新方法

Epicentre 最近推出了宏基因组 DNA 分离试剂盒 (Metagenomic DNA Isolation Kit for Water), 能从水样中分离已随机剪切的, 可直接用于 fosmid 克隆的 DNA 片段。

利用 fosmid 克隆系统的宏基因组文库构建是探索环境微生物的理想选择。Fosmid 克隆系统通常使用随机剪切的 DNA, 这种方法与限制性酶切相比序列覆盖度更好。但传统的文库制备方法步骤繁多, 需要琼脂糖凝胶块、随机剪切、末端修复, 还要通过脉冲场电泳 (PFGE) 来进行大小选择, 然后再克隆到 fosmid 载体上、包装、铺板 (如下图中的传统方法), 整个过程大约需要一周的时间。在宏基因组 fosmid 文库构建过程中, 关键是 1) 必须得到足够量的高分子量 DNA; 2) 通过机械剪切及脉冲场凝胶电泳产生 40kb 左右的片段。然而这个过程通常需要 3 天, 并导致大量样品损失。

Epicentre 的新试剂盒则提供了一种全新

的方法 (如下图中的新方法)。它能从水样中的培养或未培养微生物 (包括革兰氏阳性菌) 中提取出 40kb 大小的 DNA。提取的 DNA 可立即进行末端修复, 并在乙醇沉淀洗涤后克隆到 Epicentre 的 pCC1FOS 载体上。整个过程两天就能完成。

优势:

- 无需化学剪切、琼脂糖块或大小选择
- 无需纯化柱或酚/氯仿提取
- 产量更高, 从低丰度的微生物中回收 DNA 的概率更大
- Fosmid 载体与 DNA 的克隆只需要 90 分钟

