DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.11.036

神经痛患者的MRI图像，进行模拟帕金森病GPi、Vim、STN靶点定位。在导航图谱中选择靶点，得出实际坐标后，在TPS中的轴、冠位MRI图像上判定靶点是否符合经验要求。

2 结果

模拟验证中，靶点实际坐标的测量值与计算值完全一致。图谱验证中，13个核团的76个靶点中，68个在核团中心面积(25%)范围内，8个超出中心面积范围但仍在核团内。经临床验证中，5例GPi、Vim、STN靶点定位，都符合经验要求。

3 讨论

近年来，帕金森病的立体定向手术中广泛采用微电极记录等电生理监测，但手术前的靶点定位仍是手术成功的重要环节，对于非创伤性的伽玛刀治疗更为如此。定向架安装偏斜和CT/MRI定位片中无法辨认靶点，是影响靶点确定的两大主要因素。此软件可消除定向架安装偏斜的干扰，同时在导航图谱中可显示靶点位置。其准确性已得到初步验证。

SW图谱是在世界范围内应用最广泛的丘脑基底节区立体定向解剖图谱，本软件在其基础上用不同颜色标示各神经核团并进行三维坐标重建，电脑鼠标随到之处会显示核团名称。软件中从图谱到坐标或从坐标到图谱的自行转换功能，使繁琐的坐标计算点击可得，使靶点选择方便直观。软件的其它功能，如显示AC-PC线的方位和长度、存储特殊靶点的位置坐标、显示双靶点穿刺方向与深度等，在某些情况下也具重要意义。

有待解决的问题有：①建立起更细致准确的国人立体定向脑解剖图谱；②使图谱更符合差异的个体解剖，除AC-PC线长度以外，还要考虑其它因素，如脑室大小、头颅尺寸等[5]；③软件的可靠性还需进一步的临床验证。

关键词：立体定向；手术；丘脑；基底节；靶点；软件
中图法分类号：R319 文献标识码：B

参考文献：

[1] 胡泽勇，赵学志，尹 震. 立体定向功能性神经外科不可见靶点的坐标计算方法软件化[J]. 生物医学工程与临床，2001，5(4)：218—220.
[2] Schaltenbrand G，Wahren W. Atlas for stereotaxy of the human brain[M]. Thieme，Stuttgart，New York，1977. 25—54.
[3] 胡泽勇，赵学志，尹 震. 丘脑基底节区立体定向显微导航图谱系统的研制[J]. 立体定向和功能性神经外科杂志，2001，14(3)：174.
[4] 姚家庆，戴蘅茹，张作楷，等. 脑内一些灰质结构的立体定位解剖学[M]. 北京：科技出版社，1982. 39—93.
[5] Talairach J，Tournoux P. Co-planar stereotaxic atlas of the human brain[M]. New York：Thieme，Stuttgart，1988. 41—110.

(编辑 陈聪连)

技术方法

文章编号：1000-5404(2003)11-1020-02

简便快速的血中DNA提取纯化法

Simple rapid method for the extraction and purification of DNA from blood

王 华，熊仁平 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所分子生物学中心，重庆 400042)

提 要：目的 为了探讨血中DNA提取纯化的简便快速的方法。方法 用Triton X-100同时反复破碎红细胞和白细胞，然后用$NaClO_4$、SDS解聚核蛋白，用PCI抽提，Sephader G-25柱层析。结果 A_{260}/A_{280}可达1.78～1.80，平均产量20.3 μg/ml，全过程2～3 h。结论 这种方法用于临床经济、快速、得率高，诊断结论可靠。

DNA探针技术已应用于乙肝、疱疹、脑血管病、老年性痴呆、癌症和艾滋病等疾病的诊断。所谓DNA探针，就是单股DNA小片段，用同位素、酶、荧光分子或化学发光催化等予以标记，同被检测的DNA中的同源互补序列杂交，从而检出所要查明的DNA(或基因)。实验证明，应用DNA技术来诊断疾病可以达到特异性强、灵敏度高的特点[1]。单用于科研的常规DNA提取纯化法费时又麻烦，我们探索出一种简便、快速的方法[2]。

1 材料和方法

1.1 主要仪器及试剂

1.1.1 仪器 低温离心机、紫外分光光度计，皆由贝克曼公司产。

1.1.2 试剂 Sephader G-25由Pharmacia公司产，DNA级，蔗

作者简介：王 华(1970—)，女，河北市蔚县人，技师，主要从事分子生物学方面的研究。电话：(023)68757465
收稿日期：2001-09-10；修回日期：2002-04-07

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

糖(广东介山化工厂, 分析纯), Tris-HCl(IBI, 超级纯), Triton X-100(IBI, 超级纯), EDTA(Sigma, 超级纯), NaCl 和 $NaClO_4$(重庆化学试剂厂, 分析纯), 平衡酚(北方同正公司, 超级纯,), 氯仿(重庆东方试剂厂, 分析纯), 异戊醇(上海试剂厂, AR 级), SDS(BIO-RAD, 电泳级)。

1.2　方法

1.2.1　DNA 粗品的提取　①EDTA 抗凝的新鲜全血 2 ml, 加入等体积的缓冲液 A(蔗糖 0.32 mol/L, Tris-HCl 10 mmol/L pH 7.6, $MgCl_2$ 5 mmol/L, Triton X-100 1%), 充分混悬 1 min; ②10 000 × g, 4 ℃, 离心 2 min, 弃上清, 沉淀加入 3 ml 缓冲液 A, 重复本步骤 2 次; ③白色沉淀加入 300 μl pH 8.0 的缓冲液 B(Tris-HCl 15 mmol/L, EDTA 15 mmol/L, NaCl 15 mmol/L), 悬浮均一; ④加入 80 μl 5 mol/L $NaClO_4$ 混匀, 加入 100 μl 10% SDS 混匀, 静置, 37 ℃ 10 min, 65 ℃ 15 min; ⑤加入 0.5 ml PCI(酚∶氯仿∶异戊醇=25∶24∶1), 轻轻充分摇匀; ⑥4 000× g, 4 ℃, 离心 15 min; ⑦收集水相部分, 加入 2 倍体积的无水乙醇, 轻轻摇动, 直到所有丝状 DNA 完全析出; ⑧用细玻棒或粗口吸管吸出 DNA, 用 70% 的乙醇洗涤, 真空抽干。加 2 ml pH 7.5 的缓冲液 C(Tris-HCl 10 mmol/L, EDTA 1 mmol/L)溶解。

1.2.2　DNA 的纯化　①将粗品 DNA 经容积为 2 ml 的 Sephader G-25 柱层析。用缓冲液 C 平衡并洗脱, 500 μl/管收集洗脱液。测 260 nm 和 280 nm 处的吸光度, 算出 A_{260}/A_{280}, 纯的 DNA 其比值为 1.80, 蛋白质和酚的污染都会使比值下降。DNA 定量按 A_{260}= 1 400 μg/ml 计算; ②加入 2 倍体积的无水乙醇于洗脱液中, 沉淀出 DNA, 离心后, 吹干, 在溶于无菌的蒸馏水中, 供分析用。

2　结果

采用本方法全过程约需 2 ~ 3 H, 洗脱液第二管含的 DNA 纯度最高, A_{260}/A_{280}可达 1.78 ~ 1.80, 蛋白质和酚的污染少。平均产量 20.3 μg/ml。用于临床疾病诊断效果满意。

3　讨论

DNA 探针技术在临床上的应用可以检测许多基因及其疾病。目前, 许多 DNA 诊断实验都涉及到从病人血液中先得到淋巴细胞, 再用蛋白酶 K、SDS 消化, 然后用酚、氯仿抽提, 乙醇沉淀。用蛋白酶 K 消化, 费时又昂贵, 且需较多的血样, 很不适合作为常规方法用于临床疾病诊断。我们用 Triton X-100 同时反复破碎红细胞和白细胞, 直接得到细胞核, 然后用 $NaClO_4$、SDS 解聚核蛋白, 最后用 PCI 抽提, 乙醇沉淀, 缓冲液细胞溶胀, Sephader G-25 柱层析。用于临床经济、快速、得率高, 诊断结论可靠。

DNA 粗品的提取过程中可能混有 RNA、蛋白质和酚等。我们除了都要进行纯化外, 在提取过程中的每一步都要小心操作。弃上清时, 上清一定要弃净; 收集上清, 一定不要混有沉淀, 防污染。所用试剂和物品都应消毒, 操作时应戴手套和口罩, 防蛋白质和 RNA 酶污染。$NaClO_4$ 作用浓度为 0.9 mol/L, 使核蛋白解聚充分, 既不过长也不过短, 用 70%的乙醇洗涤时, 一定要抽干, 可重复 1 次, 防止酚的污染。由于提取对象是高分子量基因组 DNA, 较易受机械损伤, 故操作时务必小心, 轻轻用力。

关键词: DNA; 提取; 纯化
中图法分类号: R394-33　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 李景泰, 林万明, 王国卿. 临床医学分子生物现状和未来[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993. 1—3.
[2] J 萨姆布鲁克, E P 弗里奇, J 曼尼阿蒂斯. 金冬雁, 黎孟枫, 译. 分子克隆实验指南[M]. 第 2 版, 北京: 科学出版社, 1992. 120—137.

(编辑　张大春)

关于医学符号的使用

统计学符号不论用哪种字母, 也不论大写或小写一律都用斜体。要注意区分拉丁字母和希腊字母。例如均数的符号是字母 $\bar{x}$, 卡方的符号是希腊字母 χ^2, 自由度的符号是希腊文"υ", 不是拉丁文"V"。样本的相关系数是英文"r", 不能误为希腊文"γ"。

化学元素及核素在医学写作时一般多采用符号, 都是拉丁字母正体大写。离子态是在右上角用数字加"—"或"+"表示。例如 Na^+、Ca^{2+}、P^{3-} 等等, 不采用 Ca^{++}、P^{---}、Al^{+3}、O^{-2}表示。核素的核子素(质量数)应写在元素符号的左上角, 例如: ^{131}I、^{32}P。表示激发状态的 m 写在右上角, 例如: $^{99}Tc^{m}$、$^{133}In^{m}$。在科技论文和专著中不应写核素的中文名称, 即不能写成^{131}碘、铟^{133m}、P^{32}、Tc^{99m}。

近几年分子生物学发展很快, 并已渗透到许多学科, 大多数分子生物学名词术语的符号已有统一的确定形式, 要对符号的来源及其内涵有深刻的了解, 使用时不致发生错误, 例如: RNA 有 rRNA(ribosomal RNA)、tRNA(transfer RNA)、mRNA(messenger RNA)3 类。r、t、m 是表示类型的符号应小写, RNA 应大写。

本刊编辑部

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net