DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.06.030

膜。这种外口即与颈静脉球影像重叠,且偏离内听道及后半规管参考点,从而使影像不易辨认。

文献报告组织切片平面测量VA外口直径分别为7 mm(1.0~13.0),6.2 mm(3.0~9.0)及6.5 mm(3.1~15.0)[6]。Anson测量250块颞骨VA外口径,90%在2~6 mm[7]。Yammoto等[8]用CT图像三维重建正常人VA外口径为6.41±2.0 mm。有关VA外口CT扫描平面图的大组正常数据尚未见报告。本研究建立的正常参考值为4.23~6.39 mm(95%范围),与上述用不同方法得出的VA外口径数值没有原则出入。且12例颅骨标本VA的CT影像外口径值均位于本研究建立的正常参考值范围,验证了该正常参考值的准确性。但由于采用影像学的手段、投照位置不同,显示的VA部位亦不同,因而文献数据差异很大,甚至有报告包括VA外口在内的VA全程影像中任一部位大于2 mm者,即为大VA[9],这一结论显然与大多数文献及我们的观察不符。

观察VA外口的临床意义。内耳在出生时绝大部分已发育到成人的形态和大小,而VA在出生后仍要继续发育。VA外口的发育可反映VA发育的全貌,同时间接反映内淋巴管及内淋巴囊的发育情况[1]。因而临床上通过观察VA外口影像,就可得知VA、内淋巴管及内淋巴囊的发育情况。正常VA影像的探讨将为判断VA正常与否及某些内耳疾病的诊断和治疗提供依据。VA狭窄或阻塞是易发生膜迷路积水因素之一,VA狭窄或阻塞是梅尼埃病的特征性影像[10];过大则为大前庭小管综合征,均与VA发育障碍有关。鉴于VA外口能充分反映其发育程度,故其意义主要在于了解VA的发育情况,对诊断与其发育障碍有关的疾病价值较大。但VA的骨内膜在人一生中均可对涉及内耳的刺激有增生性反应,从而使管腔狭窄,而这是VA外口所不能反映出来的,也是VA影像学研究需要探讨的内容。

参考文献:

[1] Kodama A, Sando I. Postnatal development of the vestibular aqueduct and endolymphatic sac[J]. Ann Otol, 1982, 91(1): 3—12.

[2] Chakeres D W. CT of ear structures: a tailored approach[J]. Radiologic Clinics of North America, 1984, 22(1): 3—14.

[3] Gado M H, Arenberg I K. Raiological visualization of the vestibular aqueduct[J]. Radiology, 1975, 117(3 Pt 1): 621—626.

[4] 徐志文. 内淋巴囊手术失败原因及并发症[J]. 国外医学:耳鼻咽喉分册, 1990, 14(4): 6—10.

[5] Anson B J, Donaldson J A. Surgical anatomy of the temporal bone and ear[M]. 2nd Ed. Philadelphia, Saunders, 1973. 93—99.

[6] Wilbrand H F, Andersen H R, Gillstring D. The vestibular aqueduct and para-vestibular canal[J]. Acta Radiol Diagn Stockh, 1974, 15(4): 337—354.

[7] 王培志. 前庭小管外口形态和测量[J]. 河北医学, 1986, 5(10): 312—313.

[8] Yamamoto T, Mizukami C, Ohmura M. Investigation of the external aperture of the vestibular aqueduct in Meniere's disease by three-dimensional image analysis[J]. Acta Otolaryngol, 1992, 112(1): 31—35.

[9] Levenson M J, Parisier S C, Jacobs M. The large vestibular aqueduct syndrome in children: A review of 12 cases and the description of a new clinical entity[J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 1989, 115(1): 54—58.

[10] Dreisbach J, Seibert C, Arenberg I K. Patency and visibilty of the vestibular aqueduct in Meniere's dicease. A comparison between conventional multidirectional tomograph and reformed high resolution computed tomographic scanning of the temporal bone [J]. Otolaryngol Clin North Am, 1983, 16(1): 103—113.

(编辑 冷怀明)

经验与短篇

文章编号:1000-5404(2000)06-0584-01

一种简单、高效的小分子量DNA沉淀法

A simple and efficient method of DNA Extraction

李小兵,曹廷兵,彭家和,叶治家 (第三军医大学基础医学部生物化学与分子生物学教研室,重庆 400038)

沉淀是浓缩核酸最常用的方法。通过核酸沉淀可以改变核酸的溶解缓冲液,重新调节核酸在溶液中的浓度,还可以去除溶液中某些盐离子与杂质,达到纯化核酸的目的[1]。

大分子量核酸样品的沉淀方法很多,操作简单、效果比较好。而小分子量DNA(特别<50 bp的寡聚核苷酸)的沉淀方法

(下转590页)

作者简介:李小兵(1971—),男,四川省广安县人,助理实验师,主要从事分子生物学技术方面的研究,电话:(023)68752924

收稿日期:1999-11-23;修回日期:2000-04-15

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

组织中白念 cfu 检测结果“阴性”。在感染小鼠重要脏器组织病理变化检测中，1B5 和 3E8 这 2 株单抗能显著减轻白念珠菌所致感染小鼠肾、肝、脑等主要脏器的组织病理损害。故而，我们从定量病原菌角度得出 1B5 和 3E8 2 株单抗皆能降低白念感染小鼠肾、肝、脑等重要脏器组织中白念感染数目，明显改善由白念感染所致小鼠肾、肝、脑等主要脏器的病理损害。另外，我们还发现 1B5、3E8 2 株单抗能减少白念感染小鼠肾、肝、脑脏器组织的重量变化，推测这可能是单抗减轻感染小鼠主要脏器炎性水肿的结果。

在检测感染小鼠重要器官组织中白念 cfu 时，不论是阴性对照组中的肾、肝、脑，还是单抗注射组中肾、肝脏器，尽管各组以及因组织不同而白念 cfu 检测值不同，但皆有白念 cfu 阳性检出结果，而在相应组织病理学检查中，仅有阴性对照组中肾组织 PAS 染色发现白念孢子和菌丝，而阴性对照组的肝、脑组织以及单抗注射组的肾、肝、脑组织切片 PAS 染色均未发现孢子和菌丝，在这一点，我们也认为在保护性抗体筛选实验中，检测真菌 cfu 的敏感性要比检查相应组织病理学改变强[12]。

因此，通过抗白念珠菌单抗保护性实验，我们可以得出以下结论：2 株抗白念珠菌胞壁外膜成份单克隆抗体 1B5 和 3E8，皆能减少白念珠菌感染小鼠主要脏器组织中白念珠菌感染数目，减轻相应组织的病理损害，延长致死量白念珠菌感染小鼠的存活时间。故而，3E8 和 1B5 皆是具有保护作用的抗白念珠菌胞壁外膜成分的单克隆抗体。

参考文献：

[1] Jarvis W R. Epidemiology of nosocomial fungal infection with emphasis on candida species[J]. Clin Infect Dis, 1995, 20(4): 1 526—1 530.

[2] Voss A, Le-Noble J, Verdugn F, *et al*. Candidemia in intensive care unit patients risk factor for mortality[J]. Infection, 1997, 25(1): 8—11.

[3] Matthews R C. Pathogenicity determinants of candida albicans: potential targets for immunotherapy[J]. Microbiology, 1994, 140(8): 1 505—1 511.

[4] 王 鲁，刁庆春，刘荣卿，等. 三株抗白念珠菌单克隆抗体的制备与鉴定[J]. 第三军医大学学报，2000，22(1)：97—98.

[5] Mukherjee J, Scharff M, Cryptococcus neaformans infection can elicit protective antibodies in mice[J]. Can J Microbiol, 1994, 40(4): 888—892.

[6] Allendoerfer R, Magee D, Smith J, *et al*. Induction of tumor necrosis factor-alpha in murine candida albicans infection[J]. J Infect Dis, 1993, 167(5): 1 168—1 172.

[7] 徐志恺. 实用单克隆抗体技术[M]. 西安：科学技术出版社，1992. 1—142.

[8] Han Y, Culter J. Antibody response that protects against disseminated candidiasis[J]. Infect Immun, 1995, 63(7): 2 714—2 719.

[9] Matthews R C, Hodgetts S, Burnie J. Preliminary assessement of a human recombinant antibody fragment to hsp90 in murine invasive candidiasis[J]. J Infect Dis, 1995, 171(6): 1 668—1 671.

[10] Han Y, Kanbe T, Cherniak R, *et al*. Biochemical cheracterization of candida albicans epitopes that can elicit protective and nonprotective antibodies[J]. Infect Immun, 1997, 65(10): 4 100—4 107.

[11] Lee K H, Yoon M S, Chun W H. The effects of monoclonal antibodies against iC3b receptors in mice with experimentally induced disseminated candidiasis[J]. Immunology, 1997, 92(1): 104—110.

[12] Mwkherjee J, Scharff M, Casadevall A. Variable efficiency of passive antibody administration against diverse cryptococcus neaformans strains[J]. Infect Immun, 1995, 63(8): 3 353—3 359.

（编辑 刘 鹏）

（上接 584 页）

往往依赖于高速或超速冷冻离心机，且操作步骤繁锁，一般实验室难以满足实验条件[2]。本文介绍一种简单、有效的小分子量 DNA 沉淀方法-$ZnCl_2$ 沉淀法，具体操作步骤如下：① 准确测量 DNA 样品的体积；②加入 0.05 倍 DNA 样品体积的 1 mol/L Tris·HCl(pH7.0)及 0.01 倍 DNA 样品体积的 10 mmol/L EDTA(pH 8.0)，混匀；③加入 0.01 倍 DNA 样品体积的 10 mmol/L 磷酸纳缓冲液(pH 7.0)，混匀；④ 加入 0.025 倍 DNA 样品体积的 0.1 mol/L $ZnCl_2$(pH 3.0)，混匀；⑤室温放置 30 min；⑥12 000 r/min，室温，离心 15 min；⑦小心移去上清；⑧70% 乙醇漂洗沉淀，12 000 r/min，离心 5 min，弃上清；⑨重复步骤(8)1 次；⑩待乙醇挥发完全后，将样品溶于一定体积的 TE(pH 8.0)中，备用。

该方法无需特殊仪器、试剂，操作简单、迅速。沉淀效果好，样品 DNA 浓度下限可达 0.1 μg/ml。

关键词：DNA；沉淀法
中图法分类号：R342.3 文献标识码：B

参考文献：

[1] Ausubel F M, Roger Brent, King Ston R, *et al*. Short Protocouls in Molecular Biology[M]. Boston: John Wiley of Sons Inc, 1995. 3, 31, 33, 35.

[2] Eduard K. DNA Extraction by Zinc[J]. Nucleic Acuds Res, 1997, 25(10): 1 870—1 871.

（编辑 陈聪莲）

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