法制备的DNA中检测到了杂交信号,而改进方法制备的DNA中则没有阳性信号;以线粒体DNA为探针则两种方法制备的大分子量DNA都没有检测到阳性信号;可见改进方法基本上避免了细胞器DNA的污染. 这是因为文献[4]方法采用差速离心可以去除大部分线粒体,但叶绿体的去除效果不佳,必须借助于Triton X-100能特异地破坏叶绿体膜的特性,反复地用含有Triton X-100的漂洗液漂洗,但纯化后的细胞核仍有叶绿体DNA污染[4]. 改进方法则首先利用差速离心去除大部分线粒体,再利用叶绿体DNA与完整核DNA的分子量差异,以及脉冲电泳可以在凝胶上区分大分子量DNA的特性[5],有效地去除了叶绿体DNA.

改进方法制备的DNA易于被限制性内切酶消化. 利用脉冲电泳回收得到的低熔点琼脂糖凝胶块中只有大分子量DNA,去除了细胞残渣及酚类物质,胶块由原来的不透明转变成透明状. 由于没有杂质的干扰,在低熔点凝胶块内的大分子量DNA很容易与内切酶接触而被消化,所需酶量减少为原有方法的1/10,酶切时间减少为原有的1/3,其酶切效果具有良好的可重复性.

基于以上特点,利用我们改进的方法制备的大分子量DNA,构建植物的BAC文库或YAC文库可以大大提高文库的构建速度和质量,对于植物的大尺度物理图谱构建、植物的脉冲交变电泳基因组分析也具有独到的优势.

致谢 本工作为国家"八六三"计划和洛克菲勒基金会资助项目.

参 考 文 献

1 Cheung W Y, Gale M D. The isolation of high molecular weight DNA from wheat, barley, and rye for analysis by pulsed-field gel electrophoresis. Plant Mol Biol, 1990, 14: 881~888
2 Liu Y G, Whittier R F. Rapid preparation of megabase plant DNA from nuclei in agarose plugs and microbeads. Nuclei Acid Res, 1994, 22: 2 168~2 169
3 Shoji H, Junji Y, Atsushi H. The Preparation of high-molecular-weight DNA from rice and its analysis by pulsed-field gel electrophoresis. Plant Science, 1992, 83: 55~64
4 Zhang H B, Zhao X, Ding X, et al. Preparation of megabase-size DNA from plant nuclei . Plant J, 1995, 7: 175~184
5 Schwarts D C, Cantor C R. Separation of chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis. Cell, 1984, 37: 67~75

敦德冰芯气泡中记录的甲烷浓度变化

徐柏青① 姚檀栋① 田立德① J. Chappellaz②
(①中国科学院兰州冰川冻土研究所冰芯与寒区环境开放研究实验室,兰州 730000;②Laboratoire de Glaciologie et Geophysique de I'Environnement Centre National de la Recherche Scientifique, BP 96, 38402 Saint Martin d'Heres Cedex, France)

通过对极地冰芯中气泡包裹气体的分析,可以恢复过去大气中的甲烷等温室气体浓度变化. 敦德冰芯中包裹气体的提取及甲烷含量的分析是对山地冰川这一研究的新的尝试.

样品取自1987年在祁连山敦德冰帽钻取的约140 m的深孔冰芯[1],该冰芯运回后一直在

低温室保存. 从上部 95 m 深度内共截取 12 个样品,每个样品长 15 cm,截面直径 5 cm. 样品的前处理及分析均在法国格莱诺布尔冰川与环境地球物理实验室进行.

敦德冰芯上部 95m 的 12 个样品记录了近 0.8 ka 来冰内气泡包裹气体中甲烷浓度的变化(图 1). 由于敦德冰帽存在夏季融化,气体的年龄大致等同于同层位冰的年龄,图 1 中给出的气体的年龄系直接引用同层位冰的年龄. 可以看出,敦德冰芯中所代表的 1280 年和 1800 年 2 个样品与格棱兰及南极数支冰芯分析的结果相当吻合,在$(0.7\sim0.8)\times10^{-6}$ mol/mol 之间波动. 最近 0.2 ka 来,敦德冰芯的甲烷记录呈显著上升趋势,但其增长速度及浓度均比南极及格棱兰快且高. 近百年来敦德冰芯记录的甲烷浓度在平均水平上要比两极高出$(0.5\sim0.6)\times10^{-6}$ mol/mol. 就目前所知道的对流层中甲烷浓度随纬度的分布情况看,即使在人类活动中心,大气中甲烷浓度也不会比南极(全球甲烷浓度最低处)高出0.15×10^{-6} mol/mol[2]. 显然,本世纪以来敦德冰芯记录的甲烷浓度在成冰作用过程中受到干扰.

祁连山敦德冰帽海拔 5 200 m,与 Mont Logan(海拔 5 300 m)相当,该冰芯气泡平均总气体体积含量为 7 cm^3/100 g,而敦德冰芯只有(1~5)cm^3/100 g. 对冰样中气泡的形状及分布观测也发现,多数气泡呈棱角状且分布不均,这显然不是粒雪干烧结成冰作用的表现,由雪的融化再凝结成冰作用非常明显.

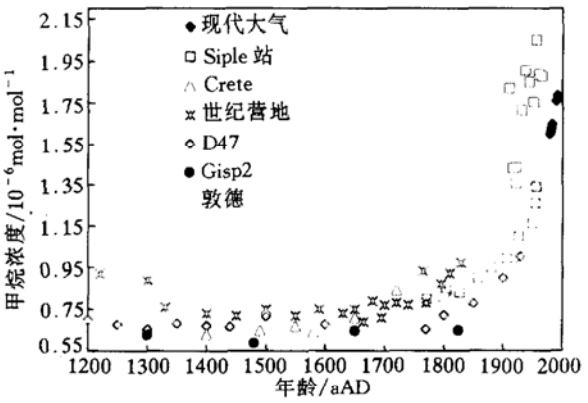


图 1 敦德冰芯记录的甲烷浓度变化与南极及格棱兰的记录对比

敦德冰芯所记录的近 0.8 ka 来甲烷浓度的变化,可以划分为 2 个阶段:19 世纪以前与极地冰盖中记录的甲烷浓度相一致,真实地记录了当时大气中甲烷的浓度变化;19 世纪以后,敦德冰芯记录的甲烷浓度急剧上升,并且其浓度总体上要比南极及格棱兰的记录高出$(0.5\sim0.6)\times10^{-6}$ mol/mol. 样品中气泡总体积含量分析表明,1800 年和 1280 年两样品中气泡总体积分别为 5.2 和 3.0 cm^3/100 g,明显高出上部样品,说明其气泡含量较上部丰富,冰面融化作用较小. 作者认为本世纪以来敦德冰芯对大气中甲烷含量记录的放大作用可能与冰面融化作用加剧有关.

致谢 本工作为国家自然科学基金(批准号:49671021)资助项目.

参 考 文 献

1 姚檀栋,谢自楚,武筱聆,等. 敦德冰帽中的小冰期气候记录. 中国科学,B 辑,1990(11): 1 196~1 201

2 Rasmussen R A, Khalil M A K. Atmospheric methane in the recent and ancient atmospheres: concentrations, trends, and interhemispheric gradient. J Geophys Rse, 1984, 89(D7): 11 599~11 605