

经济、有效提取外周血基因组 DNA 的方法

白春英¹, 周 静¹, 瑞 云¹, 于晓明², 萨初然贵³, 李秀君¹ (1. 内蒙古赤峰学院医学院 024000; 2. 内蒙古赤峰学院第一附属医院儿科 024000; 3. 内蒙古赤峰市医院儿科 024000)

【摘要】 目的 介绍一种经济、有效提取外周血基因组 DNA 的方法。**方法** 采用 0.2% NaCl 处理人外周血并收集白细胞,再用基因组 DNA 提取试剂盒抽提基因组 DNA。**结果** 用原本提取 100 μ L 全血基因组 DNA 的试剂量来提取 3 mL 全血的基因组 DNA,费用节省了 2 倍以上。**结论** 该方法方便、有效,同时还能得到大量的基因组 DNA。

【关键词】 经济; 有效; 提取; 外周血基因组 DNA

DIO:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.17.002

中图分类号:R446.11;R342

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2010)17-1795-01

An economical and effective method of extracting peripheral blood genomic DNA BAI Chun-ying¹, ZHOU Jing¹, RUI Yun¹, YU Xiao-ming², SACHU Ran-gui³, LI Xiu-jun¹. 1. School of Medical Science of Chifeng College, Inner Mongolia 024000, China; 2. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital of Chifeng College, Inner Mongolia 024000, China; 3. Department of Pediatrics the Hospital of Chifeng City, Inner Mongolia, 024000, China

【Abstract】 Objective To introduce an economical and effective method for extracting human peripheral blood genomic DNA. **Methods** The leukocytes were isolated from human peripheral blood by 0.2% NaCl and then the genomic DNA was extracted from the leukocytes with a DNA extract kit. **Results** The reagents volume of extract 100 μ L peripheral blood genomic DNA by original method could extract 3mL peripheral blood genomic DNA by new method, with the cost being saved by more than two-fold. **Conclusion** This method is very economical and effective, meanwhile it can also obtain a large number of genomic DNA.

【Key words】 economic; effective; extract; peripheral blood genomic DNA

随着医学研究的不断深入,很多疾病的研究都集中到了基因水平上。而对于基因水平的研究首先要做的就是从患者或对照的外周血中提取基因组 DNA。目前全血基因组 DNA 提取试剂盒多种多样,大多数都是以 100 μ L 的血量为例介绍试验方法的,如果想从 3 mL 的全血中提取基因组 DNA 就得加大试剂的量,价格是小量提取试剂盒的 2 倍以上,而且不能用 1.5~2 mL 的 Eppendorf 管提取,无论耗材还是试剂,所需费用都将是小量提取的 2 倍以上。本文介绍一种经济、快捷、有效提取全血基因组 DNA 的方法。用原本提取 100 μ L 全血基因组 DNA 的试剂量来提取 3 mL 全血的基因组 DNA,既保留了试剂盒方法快捷的特点,又为科研工作者节省了资金,同时还能得到大量的基因组 DNA。

1 实验方法和步骤

1.1 采血 用带有抗凝剂(EDTA、柠檬酸钠)的采血管,采集患者或对照者外周血 3 mL。上下翻转 5~6 次,否则血液会出现凝集。

1.2 收集白细胞 血细胞中的红细胞没有细胞核,基因组 DNA 要从白细胞中提取。白细胞的分离最简单的方法是低渗溶血法^[1]。红细胞与白细胞对低渗溶液的抗性差别很大,红细胞在 0.2% 的生理盐水中极易破裂。利用这一特点,待红细胞完全破坏后离心得到白细胞沉淀,即可达到分离白细胞的目的。

1.2.1 将 3 mL 全血倒入 10 mL 的离心管中,1 500 r/min (500 g)室温离心 5 min。去上清液,也可将上层黄色透明的血浆移入 2 mL 的圆底 Eppendorf 管中,3 mL 的血中可得到约

1.5 mL 的血浆,-20 $^{\circ}$ C 保存,以备测量血浆蛋白等。剩余的 1.5 mL 血细胞中加入 5~10 倍体积 0.2% 的 NaCl(加入约 7.5~10 mL 即可),混匀。

1.2.2 室温 2 500 r/min(1 000 g)离心 5 min,弃上清液,沉淀为白细胞。若沉淀发红可再用 0.2% 的 NaCl 溶液处理 1 次。

1.2.3 加入 100 μ L 0.2% NaCl 溶液,充分分散白细胞沉淀,转移入 1.5~2 mL 的 Eppendorf 管中,即可取代 100 μ L 的全血进行下一步操作。

1.3 用 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA 无论哪家的 DNA 提取试剂盒,其原理都是大同小异。无非是破坏红细胞、破坏细胞核、形成 DNA 复合体、RNA 酶处理去除 RNA、蛋白质沉淀液将 DNA 与蛋白质分离,然后是通用的异丙醇沉淀 DNA,70% 乙醇清洗去除杂质等步骤。每一个试剂盒都有其详细的步骤,按其步骤操作即可。最后加入的 TE 量要加大,可加入 100~200 μ L TE。

2 讨 论

2.1 用该方法提取基因组 DNA 所需费用低 如果用中量全血基因组 DNA 提取试剂盒,提取 3 mL 血,50 次的价格是 800 元(百泰克生物中文目录 2009 P26~29),而经过作者的全血样品处理后可以小量全血基因组 DNA 提取试剂盒(溶液型)或者用细胞/组织基因组 DNA 快速提取试剂盒(溶液型),50 次的价格是 260 元。价格便宜了 3 倍。用 1.5~2 mL 的 Eppendorf 管(500 个/30 元)取代了 10~15 mL 的离心管(200 个/60 元)(索莱宝生物中文目录 2009 P338),耗材上便宜了 5 倍。虽然作者的操作步骤多了一项用 0.2%(下转第 1798 页)