

# 一种动物基因组 DNA 提取方法的改进<sup>\*</sup>

汪永庆<sup>①</sup> 王新国<sup>②</sup> 徐来祥<sup>①</sup>\* \* 张知彬<sup>①</sup>\* \* \*

(<sup>①</sup>中国科学院动物研究所农业害虫鼠综合治理研究国家重点实验室 北京 100080;

<sup>②</sup>军事医学科学院生物工程研究所 北京 100071)

**摘要:**介绍一种动物基因组 DNA 提取方法。该方法具有简便、快速、实用的特点,所获得的 DNA 数量和质量都很高,可用于各种分子生物学实验。

**关键词:**动物组织;基因组 DNA;快速提取

**中图分类号:**Q95-3 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2001)01-27-03

## A New Rapid Method for Extraction of High Quality of Genomic DNA from Animal Tissues

WANG Yong-Qing<sup>①</sup> WANG Xin-Guo<sup>②</sup> XU Lai-Xiang<sup>①</sup> ZHANG Zhi-Bin<sup>①</sup>

(<sup>①</sup>*Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences Beijing 100080;*

<sup>②</sup>*Institute of Biological Engineering Beijing 100071, China*)

**Abstract:** A very simple, fast method for extracting high quality genomic DNA from different tissues of animal is described. The method does not require expensive and environmentally hazardous reagents and equipment. The amount of tissue required by this method is about 50 mg. The quantity and quality of the DNA extracted by this method is high enough for performing thousands of PCR-based reactions of other DNA manipulation such as restriction digestion, Southern blot and cloning.

**Key words:** Animal tissues; Genomic DNA; Rapid extraction

重组 DNA 技术的问世使得几乎所有的生物学学科都被带入分子生物学的大门,在该领域最激动人心的重大进展之一是利用 DNA 分子水平上的变异作为遗传标记进行遗传作图。DNA 分子标记大多以电泳谱带的形式表现,以其所用的分子生物学技术,大致可分为以 Southern 杂交技术为核心的分子标记和以 PCR 技术为核心的分子标记。无论采用哪种分子标记技术,都必须提取一定数量和高质量的 DNA。尤其在群体分子遗传学研究中,由于所研究样本量大,除要获得一定量的 DNA 外,还需要在方法上简便易行。但目前常规的 DNA 提取要使用酚、氯仿反复抽提<sup>[1]</sup>,不仅耗

时多,对实验人员健康也极为不利。我们根据多年实践经验,参考有关文献的方法<sup>[1,2]</sup>,并加以改进,提出了可以非常迅速、高效地提取基因组 DNA 的新方法,完全能满足分子生物学实验的要求。

\* 国家自然科学基金重点项目 (No. 39730090) 和中国科学院项目 (KZ951-B1-106, STZ-1-05) 资助;

\* \* 现工作单位曲阜师范大学生物系;

\* \* \* 通讯作者;

第一作者介绍 汪永庆,男,32岁,博士研究生;研究方向:分子生态学;

收稿日期:1999-12-27,修回日期:2000-08-22

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 以大仓鼠 (*Cricetulus triton*) 为实验材料。断头处死后,取心脏、肝脏、肾脏、脾脏、肌肉各 50 mg 用于基因组 DNA 提取。

**1.2 试剂** DNA 提取缓冲液 [0.4 mol/L NaCl, 10 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0), 2 mmol/L EDTA (pH 8.0), 1% SDS, 20 μg/ml 胰 RNA 酶], 蛋白酶 K, 6 mol/L NaCl 溶液 (饱和 NaCl 溶液), 异丙醇, 乙醇, TE 或灭菌 ddH<sub>2</sub>O。

**1.3 步骤** ①取 50 mg 新鲜组织 (心、肝、脾、肾、肌肉) 放入 1.5 ml Eppendorf 管中, 加入 400 μl DNA 提取缓冲液, 用电动匀浆器快速匀浆 10~15 秒。②加入 8 μl 20 mg/ml 蛋白酶 K (终浓度 400 μg/ml), 充分混匀后, 放入 55~65℃ 水浴锅中温浴 2 小时。③加 300 μl 6 mol/L NaCl, 在旋涡混合器上高速混合 30 秒, 10 000 g 离心 30 分钟, 移上清到另一离心管中。④加入等体积异丙醇, 混匀, 置 -20℃ 1 小时, 然后 10 000 g 离心 15 分钟, 弃上清。⑤用 70% 乙醇洗涤沉淀, 干燥后将其溶于适量灭菌水或 TE 中。

**1.4 DNA 质量检测** ①DNA 经稀释后在 Beckman DU7400 紫外分光光度计上测 260 nm 和 280 nm 的光吸收, 并计算 DNA 浓度。然后, 取 5 种组织 DNA 经琼脂糖凝胶电泳检测, 结果见图 1。②用 *Sau3AI* 对肝组织基因组 DNA 部分酶切, 酶浓度及反应条件参考卢圣栋的方

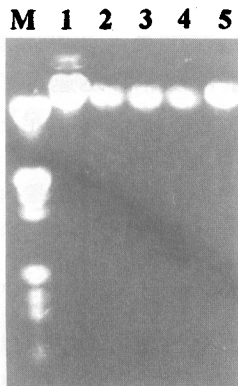


图 1 各组织总 DNA 琼脂糖凝胶电泳结果  
M: λDNA/EcoR I + *Hind* III; 1. 肝脏; 2. 心脏;  
3. 肾脏; 4. 脾脏; 5. 肌肉

法<sup>[3]</sup>, 结果见图 2。③RAPD-PCR 扩增。反应条件参考 Welsh<sup>[4]</sup>, *Taq* 酶购自中国农业大学, 通用引物 OPM-06 (5'-CTGGGCAACT-3') 购自 Operon 公司, dNTP 购自 Promega 公司。扩增在 Perkin Elmer DNA Thermal Cycler 9600 PCR 仪上进行, 产物经 1.4% 琼脂糖凝胶电泳分离, 溴化乙锭染色后, 紫外分析仪上观察、照像。结果见图 3。

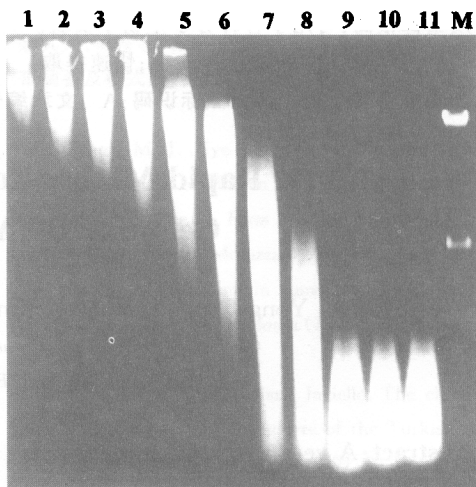


图 2 肝 DNA *Sau3AI* 部分酶切图谱  
M: λDNA/*Hind* III; 1~11: 不同酶浓度对总 DNA 的消化

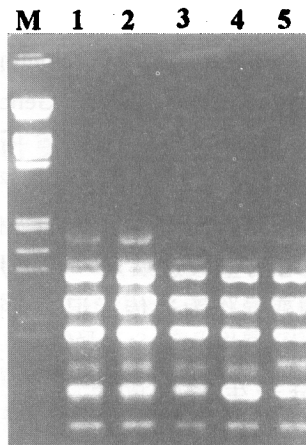


图 3 五种组织 RAPD 图谱  
M: λDNA/*EcoR* I + *Hind* III; 1. 肝脏; 2. 心脏;  
3. 肾脏; 4. 脾脏; 5. 肌肉

## 2 结果与讨论

从图 1 可见所提取的 DNA 无 RNA 污染,

且 DNA 没有降解,通过紫外分光光度计检测 260 nm 和 280 nm 光吸收,计算  $A_{260}/A_{280}$  值均在 1.75~1.80, DNA 产量约 500~700 ng/mg, 这足够进行几千次 PCR 反应,亦可用于 Southern 杂交等;图 2 显示了肝 DNA 经 *Sau*3AI 部分酶切结果,从图中可以看出 DNA 相当完整,可用于基因组文库构建等;图 3 显示了 5 种大鼠组织 RAPD 图谱,各组织均扩增出清晰、一致的谱带,说明可用于分子群体遗传学方面的研究。

DNA 的提取是分子生物学研究中的基本技术, DNA 样品的质量对实验的成败至关重要。经典方法中,从样品溶液中去除蛋白质采用酚/氯仿抽提,其标准程序是酚抽提一次,酚/氯仿(1:1)抽提一次,氯仿抽提一次,有些情况下还要重复几次,这样就大大增加了工作量;酚具有高度腐蚀性,易引起严重的烧伤,故在涉及酚的所有实验操作中,实验者须采取一定的防护措施;实验使用的酚为商品酚,重蒸且饱和后才能使用。酚易被氧化,产生酚的氧化物如醌、二酸等,可破坏核酸的二酯键,并引起 DNA 链的交联。因此饱和后还需要加入 8-羟基喹啉等以减少酚氧化,并提供颜色指示。本研究使

用的 DNA 提取缓冲液,为普通化学药品配制而成,突出特点为使用了高盐离子溶液。通常情况下,核酸可与 1 价、2 价阳离子形成盐类,但在一定量的 Tris-Cl 和 EDTA 存在下可避免盐与 DNA 的共沉淀,不妨碍所提取 DNA 的质量。因此,该方法在上述原则的基础上进行设计,既简便易行,又避免了常规方法中酚等因素的危害,保证了所提 DNA 的完整性和纯度,在实验过程中简化操作步骤,缩短提取过程,以减少各种有害因素对 DNA 的破坏。本方法是一种切实可行的方法,对大量样品的提取更为实用。

## 参 考 文 献

- [1] 萨姆布鲁克, J., E. F. 弗里奇, T. 曼尼阿蒂斯著[美](金冬雁, 黎孟枫等译). 分子克隆实验指南(第二版). 北京: 科学出版社, 1992. 463~469.
- [2] Salah, M. A., M. Iciar. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Res.*, 1997, 25(22): 4 692~4 693.
- [3] 卢圣栋主编. 现代分子生物学实验技术. 北京: 高等教育出版社, 1993. 318~320.
- [4] Welsh, J., M. McClelland. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary Primers. *Nucleic Acids Res.*, 1990, 18(36): 7 213~7 218.