

196b 参与对破骨细胞分化的调控过程,可能抑制破骨细胞的分化,为颅骨生长以及其他骨代谢疾病的研究提供新的思路。

参考文献

- Gruber HE, Ivey JL, Thompson ER, *et al.* Osteoblast and osteoclast cell number and cell activity in postmenopausal osteoporosis [J]. *Miner Electrolyte Metab*, 1986, 12(4): 246 - 254
- Segovia - Silvestre T, Neutsky - Wulff AV, Sorensen MQ, *et al.* Advances in osteoclast biology resulting from the study of osteopetrotic mutations [J]. *Hum Genet*, 2009, 124(6): 561 - 577
- Suda T, Takahashi N, Udagawa N, *et al.* Modulation osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families [J]. *Endocr Rev*, 1999, 20(3): 345 - 357
- Baron R. Molecular mechanisms of bone resorption: therapeutic implications [J]. *Rev Rhum Engl Ed*, 1996, 63(10): 633 - 638
- Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs [J]. *Cell*, 2009, 136(4): 642 - 655
- Graves PI, Zene Y. Biogenesis of mammalian microRNAs: a global view genomics [J]. *Proteomics Bioinform*, 2012, 10(5): 239 - 245
- Ambros V. The functions of animal microRNAs [J]. *Nature*, 2004, 431: 350 - 355
- Kim SW, Ramasamy K, Bouamar H, *et al.* MicroRNAs miR - 125a and miR - 125b constitutively activate the NF - κ B pathway by targeting the tumor necrosis factor alpha - induced protein 3 (TNFAIP3, A20) [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 9(20): 7865 - 7870
- Noma K, Sugiyama T, Cam H, *et al.* KITS acts in cis to promote RNA interference - mediated transcriptional and post - transcriptional silencing [J]. *Nat Genet*, 2004, 36(11): 1174 - 1180
- Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts [J]. *Science*, 2000, 289(5484): 1504 - 1508
- Lacey DL, Timms E, Tan HL, *et al.* Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation [J]. *Cell*, 1998, 93(2): 165 - 176
- Anderson DM, Maraskovsky E, BULINGSLEY WL, *et al.* A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T - cell growth and dendritic - cell function [J]. *Nature*, 1997, 390(6656): 175 - 179
- Simonet WS, Lacey DL, Dunstan, *et al.* Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density [J]. *Cell*, 1997, 89(2): 309 - 319
- Giraldez AJ, Mishima Y, Rihel J, *et al.* Zebrafish MiR - 430 promotes eadenylation and clearance of maternal mRNAs [J]. *Science*, 2006, 312(5770): 75 - 79

(收稿日期: 2015 - 12 - 29)

(修回日期: 2016 - 01 - 22)

骨髓细胞固定液 DNA 提取与质量评价的实验研究

李 洁 孙恒娟 蒋 慧

摘 要 **目的** 利用骨髓染色体核型分析后剩余骨髓细胞固定液标本提取基因组 DNA 并评价 DNA 质量。**方法** 将 60 例骨髓细胞固定液标本按保存时间的不同分为 3 组,同时另取新鲜骨髓标本(冻存于 -80°C) 20 例,利用天根公司 DNA 提取试剂盒(离心柱型)提取基因组 DNA,通过紫外分光光度仪检测 DNA 浓度与纯度、DNA 凝胶电泳观察 DNA 条带、聚合酶链反应检测有无不同片段大小的目的基因的扩增以评价 DNA 质量。**结果** 骨髓细胞固定液标本及新鲜骨髓(冻存)标本所提取的基因组 DNA 的 A260/A280 比值分别为 1.93 ± 0.03 、 1.92 ± 0.04 ;两者纯度比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);不同保存时间 (< 3 年、 $3 \sim 5$ 年、 > 5 年)的骨髓细胞固定液标本所提取 DNA 的 A260/A280 比值分别为 1.94 ± 0.03 、 1.91 ± 0.03 、 1.93 ± 0.04 ,其纯度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。上述实验标本均能通过 PCR 反应扩增出不同片段大小的目的条带。**结论** 利用染色体核型分析后剩余的骨髓细胞固定液标本可以提取出质量合格的基因组 DNA,其可作为分子生物学相关研究的标本来源。

关键词 骨髓细胞 固定液 基因组 DNA 提取 质量评价

中图分类号 R72 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.08.017

Study on the Genomic DNA Extraction from the Fixative Solution of Bone Marrow Cells and Its Quality Evaluation. Li Jie, Sun Hengjuan, Jiang Hui. *Children's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai Children's Hospital, Shanghai 200040, China*

基金项目:上海市科委基金资助项目(14411950602)

作者单位:200040 上海交通大学附属儿童医院、上海市儿童医院血液肿瘤科(李洁、蒋慧),分子实验室(孙恒娟)

通讯作者:蒋慧,电子信箱:jhui0111@126.com

Abstract Objective To extract genomic DNA from the fixative solution of bone marrow cells after the analysis of chromosome karyotyping and detection of the quality. **Methods** We extracted genomic DNA from the fixative solution of bone marrow cells and the samples of fresh bone marrow (frozen in -80°C) with TIANGEN kit. The concentration and purity were detected by ultraviolet spectrophotometer. The integrity of DNA was measured by agarose gel electrophoresis and polymerase chain reaction. **Results** The ratio of A260/A280 of genomic DNA extracted from the fixative solution of bone marrow cells and the samples of fresh bone marrow were 1.93 ± 0.03 , 1.92 ± 0.04 respectively and the statistical significant difference of the DNA purity wasn't found between them. The ratio of A260/A280 of genomic DNA extracted from the three groups of fixative solution of bone marrow cells divided by different preservation time (less than 3 years, 3 to 5 years, more than 5 years) were 1.94 ± 0.03 , 1.91 ± 0.03 , 1.93 ± 0.04 respectively and also the statistical difference didn't exist among them. All of the experimental samples could amplify the target fragments with different sizes. **Conclusion** The quality of genomic DNA from the fixative solution of bone marrow cells was qualified. The fixative solution of bone marrow cells can be used as the source of specimen for molecular biology research.

Key words Bone marrow cells; Fixative solution; Genomic DNA; Extraction; Quality evaluation

分子生物学水平的异常特征已经在恶性血液系统疾病发病机制和临床诊治领域中发挥重要作用,尤其在临床工作中,分子水平的检测在患者治疗前的预后评估、治疗中的疗效判断及微小残留病灶的监测等方面都有着不可替代的作用和意义。基因组脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)作为遗传信息的载体,在分子生物学的研究中占有重要地位;然而儿童患者骨髓标本量获取有限,能否对曾经保留的骨髓染色体核型分析后剩余的骨髓细胞固定液标本进行再利用?能否获得合格的基因组DNA?将是本实验研究的关键。

随着20世纪DNA双螺旋结构的提出,分子生物学在广度及深度上得到空前发展,分子水平的研究已成为研究热点;21世纪初已完成人类基因组计划,通过大规模测序绘制出人类基因组遗传图、物理图、序列图、转录图,进一步推动了分子生物学、遗传学等相关学科的进展。而基因组DNA作为遗传信息的载体,在分子生物学等研究领域占有重要作用。但是在临床实际工作中,血液系统疾病患儿骨髓标本量获取有限,故本研究利用骨髓染色体核型分析后剩余的骨髓细胞固定液标本提取基因组DNA,以期获得合格的DNA用于后续分子生物学相关研究,并丰富样本库的标本种类。

对象与方法

1. 实验对象与材料:(1)实验对象:将笔者医院急性白血病患者骨髓染色体核型分析后剩余的骨髓细胞固定液(甲醇:乙酸=3:1)标本60例作为实验组,其中按其固定保存时间分为A组20例(保存时间<3年)、B组20例(保存时间3~5年)、C组20例(保存时间>5年);笔者医院急性白血病患者新鲜骨髓标本20例(冻存于 -80°C ,保存时间<6个月)作为

对照组。(2)实验材料:DNA提取试剂盒(天根生化科技公司);PCR试剂盒(TaKaRa公司);PCR引物(由上海捷瑞公司合成);紫外分光光度仪(Thermo公司);DNA扩增仪(Biometra公司);凝胶成像系统(CLIPIX公司);高速离心机(Beckman及Eppendorf公司)等。

2. 实验方法:(1)实验组(骨髓细胞固定液标本)基因组DNA的提取:将保存于 -80°C 冰箱的骨髓细胞固定液标本60例置于室温下解冻;将标本转移至15ml离心管内,2000r/min离心10min,弃上清; 37°C 恒温箱干燥4h;然后利用天根基因组DNA提取试剂盒(离心柱型)提取基因组DNA(其中水浴条件调整为 60°C 2h),操作步骤见试剂盒说明书。(2)对照组(新鲜骨髓标本)基因组DNA的提取:将保存于 -80°C 冰箱乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)抗凝的骨髓标本20例置于室温下自然解冻,利用天根基因组DNA提取试剂盒(离心柱型)提取基因组DNA,操作步骤见试剂盒说明书。(3)基因组DNA的鉴定:①紫外分光光度仪:利用分光光度仪检测所提取的基因组DNA浓度及波长在260nm及280nm的紫外吸收值,纯度以A260/A280为依据;②琼脂糖凝胶电泳:对提取的基因组DNA,用1.0%琼脂糖凝胶110V电泳50min,凝胶成像观察结果;③聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增:选取3个内参基因(ABL1基因、GAPDH基因、TBP基因)为模板设计引物(表1)。

3. 统计学方法:采用SPSS 20.0软件进行统计分析,计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示;实验组与对照组提取的基因组DNA纯度比较采用 t 检验;实验组中不同固定时间的标本提取的基因组DNA纯度比较采用方差分析,其中每组数据两两之间的比较采用SNK检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 内参基因引物

名称	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')
ABL1 基因	TCCTGCTTGCAA GTGTCAAC	CAAGCTTGGCCTTCTTTGGT
GAPDH 基因	TGACCTTTCTGTAGCTGGG	CTCCCCATTAAGAGGGCGAA
TBP 基因	TGAGCCAGAGTTATTTCCTGG	CGGTGTTCTCACTGCACAAA

PCR 总反应体系为 20 μ l,其中模板 2 μ l,引物 2 μ l,PCR Buffer 2 μ l,dNTP Mixture 1.6 μ l,Taq HS 0.1 μ l,蒸馏水 12.3 μ l;PCR 反应结束后取 2 μ l PCR 产物进行 1.0% 琼脂糖凝胶电泳 110V 50min,利用凝胶成像系统观察结果

结 果

1. 基因组 DNA 浓度及纯度测定结果:(1)实验组与对照组基因组 DNA 浓度及纯度的比较:骨髓细胞固定液标本及新鲜骨髓标本(冻存于-80 $^{\circ}$ C)提取的基因组 DNA 纯度差异无统计学意义($P=0.28$,表

2)。(2)骨髓细胞固定液不同保存时间的标本 DNA 浓度及纯度的比较:骨髓细胞固定液标本 3 组不同保存时间所提取的 DNA 纯度差异无统计学意义,且各组间两两比较差异无统计学意义($P=0.08$,表 3)。

表 2 骨髓细胞固定液标本与新鲜骨髓标本(冻存于-80 $^{\circ}$ C)DNA 纯度与浓度比较 ($\bar{x} \pm s$)

标本类型	n	DNA 浓度 (ng/ μ l)	A260/A280	P(纯度)
实验组(骨髓细胞固定液标本)	60	358.67 $\pm$ 266.45	1.93 $\pm$ 0.03	0.28
对照组(新鲜骨髓标本)	20	258.04 $\pm$ 125.21	1.92 $\pm$ 0.04	

表 3 不同保存时间的骨髓细胞固定液标本提取的 DNA 纯度与浓度比较

组别	保存时间 (年)	n	DNA 浓度 (ng/ μ l)	A260/A280	P(纯度)
A 组	<3	20	171.92 $\pm$ 56.76	1.94 $\pm$ 0.03	0.08
B 组	3~5	20	398.13 $\pm$ 263.69	1.91 $\pm$ 0.03	
C 组	>5	20	505.98 $\pm$ 294.14	1.93 $\pm$ 0.04	

2. 基因组 DNA 电泳结果:1.0% 琼脂糖凝胶电泳结果可见 DNA 条带,但各组 DNA 条带均有不同程度的拖尾现象,且同组标本之间拖尾程度也不相同(图 1)。

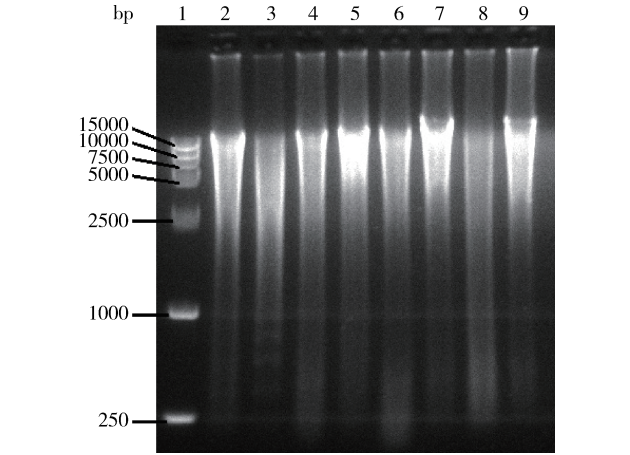


图 1 提取的 DNA 电泳图

1. TaKaRa DL15000 标志物;2~3. 对照组提取的 DNA; 4~5. 实验组 A 组提取的 DNA;6~7. 实验组 B 组提取的 DNA; 8~9. 实验组 C 组提取的 DNA

3. PCR 扩增电泳结果:凝胶电泳结果显示 4 组样品均能扩增出与 ABL1 (249bp)、GAPDH (599bp)、

TBP(1052bp)内参基因相应片段大小相仿的目的条带,且条带清晰(图 2~图 4)。

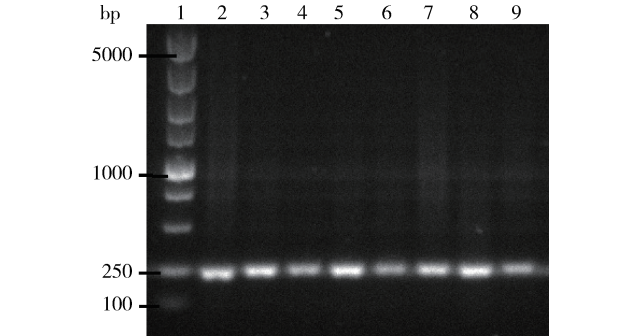


图 2 ABL1 内参基因 PCR 电泳图

1. TaKaRa DL5000;2~3. 对照组提取的 DNA;4~5. 实验组 A 组提取的 DNA;6~7. 实验组 B 组提取的 DNA; 8~9. 实验组 C 组提取的 DNA

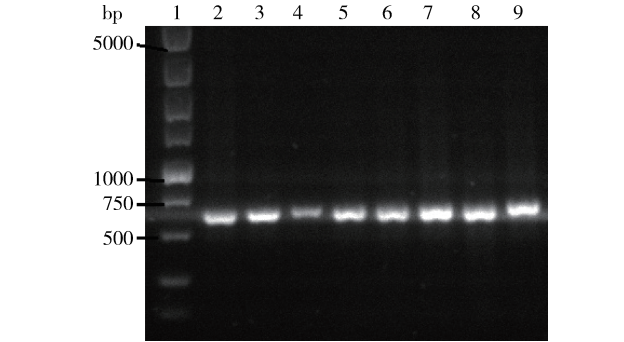


图 3 GAPDH 内参基因 PCR 电泳图

1. TaKaRa DL5000 标志物;2~3. 对照组提取的 DNA; 4~5. 实验组 A 组提取的 DNA;6~7. 实验组 B 组提取的 DNA; 8~9. 实验组 C 组提取的 DNA

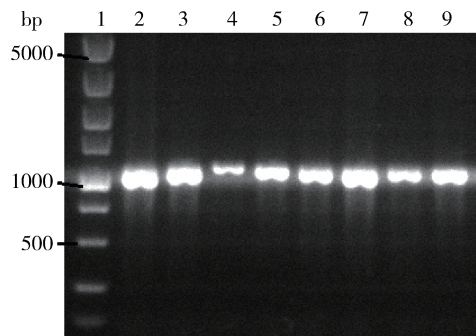


图 4 TBP 内参基因 PCR 电泳图

1. TaKaRa DL5000 标志物;2~3. 对照组提取的 DNA;
4~5. 实验组 A 组提取的 DNA;6~7. 实验组 B 组提取的 DNA;
8~9. 实验组 C 组提取的 DNA

讨 论

分子生物学的大力发展,使得恶性血液病分子水平的研究越来越深入,分子水平的异常为疾病发病机制的深入研究、患者的预后评估及新靶向药物的探究提供了基础,而合格的 DNA 获取是分子生物学的基石^[1]。但在临床实际工作中,由于操作困难(如患儿哭闹不配合、骨髓干抽)等因素,造成骨髓标本量留取少,各时段(如初发、缓解、复发等时段)骨髓标本留取不全的现状,且随着科技的进步,更多的分子异常被发现,多数与疾病预后相关,可是对于数年前初发的恶性血液疾病患儿,相关分子异常未被发现或深入研究,由于条件限制并未保留其骨髓标本 DNA,这对回顾性研究疾病相关分子异常、评价预后、连贯性分析研究显然是不利的。

故本研究利用骨髓染色体核型分析后剩余的骨髓细胞固定液(甲醇:乙酸=3:1)标本提取基因组 DNA 并对其质量进行评价,以期日后相关分子生物学研究提供标本来源,作为骨髓细胞 DNA 标本来源的补充。DNA 抽提的常用方法包括酚-氯仿法、盐析法、磁珠法、离心吸附柱法等,而离心吸附柱法因操作简便、DNA 纯度佳、避免使用挥发毒性试剂而得到广泛应用^[2]。标本的类型(如全血、血浆、尿液、石蜡标本组织等)、标本储存条件(如冻存)都与抽提的 DNA 质量相关,且在 DNA 提取过程中,需要去除蛋白质、多糖、脂类等生物高分子的污染,同时要避免过高浓度的金属离子、有机溶剂及操作手法对 DNA 性状的干扰,这样才能保证后续实验顺利进行^[3~5]。DNA 质量的评价可以通过紫外分光光度仪、琼脂糖凝胶电泳、PCR 扩增得到验证^[4,6~9]。

本实验结果表明,骨髓细胞固定液标本提取的

DNA 纯度与新鲜骨髓标本提取的 DNA 纯度比较差异无统计学意义($P > 0.05$);不同保存时间的骨髓细胞固定液标本所提取的 DNA 纯度差异无统计学意义($P > 0.05$)。实验中笔者发现部分提取的基因组 DNA A260/A280 比值接近 2.0,考虑可能存在固定液的影响因素,固定液将核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)固定下来,故其虽经长时间保存但仍未降解,在随后的实验过程中对部分样本加入 RNA 酶,所测得样本的 A260/A280 比值波动在 1.90 上下,因此对于长期固定液保存的标本可添加适量 RNA 酶以去除 RNA 的干扰,获得纯度较好的基因组 DNA。本实验检测的基因组 DNA 平均浓度范围在 150~500 ng/ μ l, DNA 浓度高低一般与细胞数量呈正相关,所抽提的细胞数目多,所获得的基因组 DNA 浓度就较高^[10]。

本实验未对 DNA 浓度进行统计分析,因考虑到冻存的固定液样本细胞数目难以利用设备估计,仅肉眼观察离心后沉淀的多寡,缺乏客观性,因实际操作中所提取的细胞数量不明确,故 DNA 浓度不具有可比性。如果在固定保存细胞前能够对细胞数量进行计数,所提取的基因组 DNA 浓度将具有可比性且更加精确。实验中上述标本 DNA 电泳能显示出条带但均可见不同程度的拖尾现象,可能与标本冻存时间过久、实验操作中对核酸沉淀剧烈震荡反复吹打等操作手法、样本反复冻融、固定液的影响等因素相关造成 DNA 部分降解;而后续的 PCR 实验证明,虽然样品 DNA 有一定量的降解,但仍可通过聚合酶链反应扩增出不同片段大小(249、599、1052 bp)的目的基因,说明 DNA 质量的可靠性。

综上所述,本研究利用骨髓染色体核型分析后剩余细胞固定液标本提取基因组 DNA,所获得的 DNA 纯度在合适的范围内,并可以通过 PCR 扩增出不同大小片段的目的基因,是合格的基因组 DNA。骨髓细胞固定液标本可以成为今后分子生物学研究的标本来源。

参考文献

- 1 Yan XJ, Xu J, Gu ZH, *et al.* Exome sequencing identifies somatic mutations of DNA methyltransferase gene DNMT3A in acute monocytic leukemia[J]. *Nat Genet*, 2011, 43(4): 309-315
- 2 王晓英, 余晨曦. 外周血单个核细胞 DNA 提取方法的研究进展[J]. *中国实验血液学杂志*, 2014, 22(5): 1495-1498
- 3 Srinivasan M, Sedmak D, Jewell S. Effect of fixatives and tissue processing on the content and integrity of nucleic acids[J]. *Am J Pathol*, 2002, 161(6): 1961-1971

(下转第 73 页)

合《中国糖尿病医学营养治疗指南(2013 年)》所推荐的要求。

除了上述生化指标等客观指标评估,生存质量评价可以更综合、全面地反映患者病情、临床疗效及生存状况。有研究表明,血糖等实验室指标与 2 型糖尿病患者的生存质量并不存在显著的相关性,提示在其疗效评价中单纯依靠实验室指标的监测是不足够的^[9]。因此,在现代生物-心理-社会医学模式中,帮助患者心理适应和改善生存质量同样是 2 型糖尿病的临床治疗中非常重要的一个治疗目的^[10]。2 型糖尿病患者的生存质量一般比同年龄的健康人群低,而有并发症的或有多种并发症的患者一般比无并发症及并发症少的患者生活质量低^[11]。在本研究中,接受医学营养治疗后患者生存质量评分(尤其是心理维度)有所改善可能与以下原因有关:医学营养治疗中恰当的饮食宣传教育模式改善了患者的心理状态、治疗依从性及态度,并进一步协同作用于生理状态、治疗效果及社交方面的改善,在更好地控制病情的同时,提高了其生存质量^[12,13]。

综上所述,不少于 3 个月的医学营养治疗对于符合代谢综合征标准的 2 型糖尿病患者的糖尿病及代谢综合征病情控制,及其心血管并发症预防方面有一定效果,同时,其生存质量(尤其是心理维度)亦有所提高。本研究结果提示,对于符合代谢综合征标准的 2 型糖尿病患者而言,医学营养治疗亦可有效改善疾病结局。同时,与药物治疗相比,糖尿病医学营养治疗具有相对低廉的治疗成本和较少的不良反应,因此推荐长期应用,作为贯穿疾病病程管理的基本治疗手段。营养治疗对于符合代谢综合征标准的 2 型糖尿病患者的长期疗效亦有待于开展更多前瞻性研究以进一步证实。

参考文献

1 Arredondo A. Diabetes: a global challenge with high economic burden

(上接第 65 页)

- 4 Chacon-cortes D, Haupt L M, Lea R A, *et al.* Comparison of genomic DNA extraction techniques from whole blood samples: a time, cost and quality evaluation study[J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(5): 5961-5966
- 5 李江曼, 韩雪娜, 袁果, 等. 影响外周血 DNA 提取质量因素分析[J]. *河南大学学报: 医学版*, 2014, 33(1): 11-13
- 6 宋洁云, 刘芳宏, 马军, 等. 酚/氯仿法和盐析法提取人类外周血基因组 DNA 方法的比较[J]. *中国实验诊断学*, 2013, 17(5): 802-805
- 7 黄亚凤, 强欣, 张丽伟. 人类外周血中提取基因组 DNA 方法的

for public health systems and society[J]. *Am J Public Health*, 2013, 103(2): e1-2

- 2 Tong PC, Kong AP, So WY, *et al.* The usefulness of the International Diabetes Federation and the National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III definitions of the metabolic syndrome in predicting coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2007, 30(5): 1206-1211
- 3 Ogedengbe OS, Ezeani IU, Chukwuonye II, *et al.* Evaluating the impact of type 2 diabetes mellitus on cardiovascular risk in persons with metabolic syndrome using the UKPDS risk engine[J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2015, 18(8): 437-445
- 4 中华医学会糖尿病学分会. 中国糖尿病医学营养治疗指南(2013)[J]. *中华糖尿病杂志*, 2015, 7(2): 73-89
- 5 Evert AB, Boucher JL. New diabetes nutrition therapy recommendations: what you need to know[J]. *Diabetes Spectr*, 2014, 27(2): 121-130
- 6 Alexander CM, Landsman PB, Teutsch SM, *et al.* NCEP-defined metabolic syndrome, diabetes, and prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older[J]. *Diabetes*, 2003, 52(5): 1210-1214
- 7 方积乾. 生存质量测定方法及应用[M]. 北京: 北京医科大学出版社, 2001
- 8 Richard K. Primary prevention of coronary heart disease: integration of new data, evolving views, revised goals, and role of rosuvastatin in management. A comprehensive survey[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2011, 5: 325-380
- 9 Göz F, Karaoz S, Goz M, *et al.* Effects of the diabetic patients' perceived social support on their quality-of-life[J]. *J Clin Nurs*, 2007, 16(7): 1353-1360
- 10 Liu Y, Maier M, Hao Y, *et al.* Factors related to quality of life for patients with type 2 diabetes with or without depressive symptoms - results from a community-based study in China[J]. *J Clin Nurs*, 2013, 22(1-2): 80-88
- 11 王飞英, 李静, 杨莹, 等. 2 型糖尿病患者生存质量及影响因素的研究[J]. *昆明医科大学学报*, 2015, 36(3): 259-260
- 12 王健, 李萍, 阿地力·伊木沙丁. 个体化健康教育对糖尿病患者生存质量的影响[J]. *中外医学研究*, 2014, 12(24): 137-139
- 13 Gusmai L, Novato T, Nogueira L. The influence of quality of life in treatment adherence of diabetic patients: a systematic review[J]. *Rev Esc Enferm USP*, 2015, 49(5): 839-846

(收稿日期: 2015-11-07)

(修回日期: 2015-11-20)

探索[J]. *内蒙古民族大学学报: 自然科学版*, 2006, 21(4): 418-419

- 8 邹亚, 青玉凤, 党万太, 等. 人非抗凝血块中基因组 DNA 提取不同方法的比较[J]. *川北医学院学报*, 2015, (4): 470-473
- 9 Javadi A, Shamaei M, Mohammadi Ziari L, *et al.* Qualification study of two genomic DNA extraction methods in different clinical samples[J]. *Tanaffos*, 2014, 13(4): 41-47
- 10 Santella RM. Approaches to DNA/RNA Extraction and whole genome amplification[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006, 15(9): 1585-1587

(收稿日期: 2016-01-08)

(修回日期: 2016-01-26)